

## ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ВАГИНАЛЬНЫХ ЛАКТОБАЦИЛЛ В НОРМЕ И ПРИ ДИСБИОТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ

© О.В. Будиловская<sup>1</sup>, Е.В. Шипицына<sup>1</sup>, Е.Н. Герасимова<sup>1</sup>, М.М. Сафронова<sup>2</sup>, А.М. Савичева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава РФ, Санкт-Петербург

Для цитирования: Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т. 66. – № 2. – С. 24–32. doi: 10.17816/JOWD66224-32

Поступила в редакцию: 01.03.2017

Принята к печати: 07.04.2017

■ **Введение.** У здоровых женщин репродуктивного возраста вагинальная микрофлора представлена в основном лактобациллами. Именно они обеспечивают барьерную функцию, препятствуя размножению условно-патогенных и появлению чужеродных микроорганизмов. Доказано, что лактобациллярная микрофлора влагалища весьма разнообразна, но не все виды лактобацилл способны обеспечивать надежную защиту женского организма. **Цель исследования:** охарактеризовать видовой и количественный состав вагинальных лактобацилл женщин репродуктивного возраста в норме и при дисбиозах. **Материалы и методы.** В исследовании приняли участие 123 пациентки поликлинических отделений ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта». Для определения видов лактобацилл и других микроорганизмов в клиническом материале (отделяемом влагалища) использовали метод количественной ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени. **Результаты.** Наиболее распространенными видами лактобацилл являются *Lactobacillus jensenii*, *L. Iners*, *L. crispatus*, *L. vaginalis* и *L. gasseri*. Видовое разнообразие лактобацилл (выявление  $\geq 2$  видов) наблюдается значительно чаще у женщин с физиологическим микробиоценозом, чем у женщин с дисбиозом влагалища. Наше исследование подтверждает, что *L. crispatus* является доминирующим видом вагинального биотопа здоровых женщин, а при дисбиозах наиболее часто определяются виды *L. gasseri* и *L. iners*.

■ **Ключевые слова:** вагинальные лактобациллы; микрофлора влагалища; дисбиоз влагалища; *Lactobacillus iners*.

## SPECIES DIVERSITY OF VAGINAL LACTOBACILLI IN NORM AND IN DYSBIOTIC STATES

© O.V. Budilovskaya<sup>1</sup>, E.V. Shipitsyna<sup>1</sup>, E.N. Gerasimova<sup>1</sup>, M.M. Safronova<sup>2</sup>, A.M. Savicheva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>FSBSI "The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott", Saint Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>North-Western state medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

For citation: Journal of Obstetrics and Women's Diseases. 2017;66(2):24-32. doi: 10.17816/JOWD66224-32

Received: 01.03.2017

Accepted: 07.04.2017

■ **Introduction.** In healthy women of reproductive age, the vaginal microflora is represented mainly by lactobacilli. They provide a barrier function, preventing the propagation of opportunistic pathogens and the colonization of the vagina by pathogenic microorganisms. It is shown that the lactobacillary microflora of the vagina is very diverse, but not all species of lactobacilli can provide reliable protection of the female organism. **Objective:** to characterize the species and quantitative composition of vaginal lactobacilli of women of reproductive age in norm and in dysbiosis. **Material and methods.** The study involved 123 patients from polyclinic departments of the D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology. For analysis of clinical material (vaginal discharge) for lactobacilli and other microorganisms, quantitative real-time PCR was used. **Results.** The most common types of lactobacilli are *Lactobacillus jensenii*, *L. iners*, *L. crispatus*, *L. vaginalis* and *L. gasseri*. Species diversity of lactobacilli (detection of  $\geq 2$  species) is observed much more often in women with physiological microbiocenosis than in women with vaginal dysbiosis. Our study confirms that *L. crispatus* is the dominant species of the vaginal biotope of healthy women, while in dysbiosis the species *L. gasseri* and *L. iners* are most often identified.

■ **Keywords:** vaginal lactobacilli; vaginal microflora; vaginal dysbiosis; *Lactobacillus iners*.

## Введение

Состав вагинального биотопа является индикатором репродуктивного здоровья женщины. Нормальная вагинальная микрофлора женщин детородного возраста на 98 % представлена лактобациллами.

Ранее в качестве доминирующего вида вагинальной микробиоты рассматривали вид *Lactobacillus acidophilus*. Позже при секвенировании гена 16S rRNA удалось выявить, что *L. acidophilus* представляет собой комплекс, включающий несколько видов вагинальных лактобацилл: собственно *L. acidophilus*, а также *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. jensenii*, *L. iners*, *L. johnsonii* и некоторые другие. Из всего разнообразия вагинальных лактобацилл доминирующими являются четыре вида лактобацилл группы *Lactobacillus acidophilus*: *L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. gasseri* и *L. iners* [1].

В процессе своего нормального метаболизма лактобациллы способны образовывать молочную кислоту и перекись водорода, поддерживая низкое значение pH (3,8–4,4) вагинальной среды. Выработка молочной кислоты происходит в результате расщепления гликогена — основного пищевого субстрата лактобацилл, вырабатываемого клетками вагинального эпителия под влиянием эстрогенов. Также эстрогены стимулируют формирование рецепторов для лактобацилл на эпителии влагалища [2].

Еще одним важным свойством лактобацилл является их способность к продукции перекиси водорода. Изучение вагинальных лактобацилл показало, что *L. crispatus*, *L. jensenii* и *L. vaginalis* — наиболее часто встречающиеся виды перекисьпродуцирующих лактобацилл [3]. Отсутствие перекисьпродуцирующих лактобацилл во влагалище связано с увеличением частоты встречаемости бактериального вагиноза, с повышенным риском распространения ВИЧ через женский генитальный тракт, приобретением вируса простого герпеса 2-го типа и преждевременными родами [4, 5, 16]. Наличие же лактобацилл, продуцирующих высокий уровень перекиси водорода, наоборот, ассоциировано с низкой частотой бактериального вагиноза и хориоамнионита при беременности [3, 6].

Лактобациллы способны образовывать защитные биопленки благодаря тропности к влагалищному эпителию и агрегации между собой. Разные штаммы лактобацилл различаются по своей способности к ауто- и коагре-

гации с другими микроорганизмами. У лактобацилл комплекса *L. acidophilus* максимально выражены свойства к аутоагрегации и крайне низка способность к коагрегации с патогенами. Это создает барьер, препятствующий адгезии патогенов на эпителии, что также является важным механизмом противомикробной защиты [7].

Среди видового разнообразия лактобацилл, населяющих вагинальный биотоп, *L. iners* занимает особое место. Этот вид был идентифицирован сравнительно недавно, в 1999 году [8], и роль его в поддержании вагинального здоровья женщины пока неясна. Так, *L. iners* достаточно часто обнаруживается как в условиях нормоценоза, так и при дисбиозах. *L. iners* не продуцирует перекись водорода и имеет способность адаптироваться к повышенным значениям pH вагинальной среды [9]. Вид *L. iners* является труднокультивируемым микроорганизмом и требует дополнительных ростовых факторов, очень изменчив по морфологическим и тинкториальным свойствам.

Изучение генома *L. iners* показало, что он является наименьшим среди всех геномов лактобацилл. Необычно маленький геном — около 1 Mbp (у других вагинальных лактобацилл — 3–4 Mbp) — свидетельствует о симбиотическом или паразитарном образе жизни *L. iners*. Геном имеет 65 чужеродных генов, 26 из которых несут аминокислотные последовательности, нехарактерные для рода *Lactobacillus*. Благодаря уникальному строению своего генома *L. iners* обладает способностью быстро приспосабливаться к меняющимся условиям окружающей среды, переключая свой метаболизм и используя в качестве пищевых ресурсов не гликоген, а другие вещества. Так, в условиях дисбиоза *L. iners* продуцирует холестеринзависимый цитолизин — инеролизин, разрушающий клеточные стенки, и использует глицерин разрушенных клеточных мембран в качестве нового пищевого субстрата [10, 11]. При этом происходит гибель других видов лактобацилл, снижение концентрации молочной кислоты и повышение pH вагинальной среды. Это приводит к размножению анаэробов, ассоциированных с бактериальным вагинозом, которые стремительно занимают освободившуюся нишу. Таким образом, *L. iners* не способен, подобно другим лактобациллам, эффективно защищать женский организм

от патогенных микроорганизмов, а наоборот, предрасполагают к заселению влагалища условно-патогенной микрофлорой. *L. iners* часто встречается при бактериальном вагинозе, обнаруживается у женщин при преждевременных родах [11, 12]. Однако частота встречаемости *L. iners* в качестве доминирующего вида при нормоценозе также не редкость [13]. Большинство исследователей указывает на явное преобладание *L. crispatus* в биотопе здоровых женщин, в то время как *L. gasseri* и *L. iners* в 4 раза чаще встречаются у женщин с бактериальным вагинозом [14–17].

Целью данного исследования было изучение видового и количественного состава вагинальных лактобацилл женщин репродуктивного возраста при физиологическом и дисбиотическом состояниях микробиоценоза влагалища.

## Материалы и методы

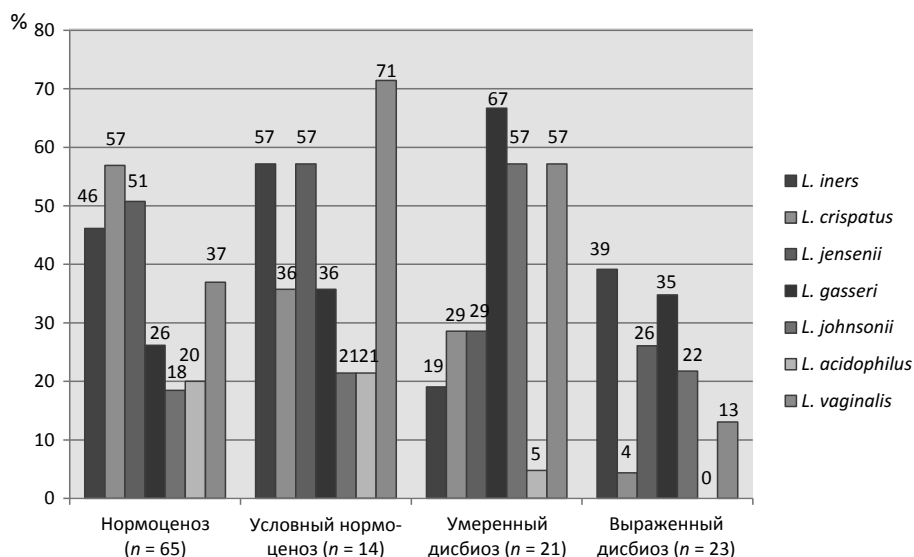
Обследуемую популяцию составили пациентки поликлинических отделений ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта». Биоматериалом для лабораторного исследования было отделяемое влагалища. ПЦР-амплификацию, анализ продуктов ПЦР и интерпретацию результатов проводили с использованием тест-системы Фемофлор-16 (ДНК-Технология, Москва) и тест-системы для исследовательских целей, позволяющей определить семь наиболее распространенных видов вагинальных лактобацилл (*L. crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. vaginalis* и *L. acidophilus*) (ДНК-Технология, Москва). Оба теста основаны на методе количественной ПЦР в режиме реального времени. Амплификацию проводили с по-

мощью детектирующего амплификатора ДТ-96 (ДНК-Технология, Москва). Концентрацию ДНК выражали в количестве геномных эквивалентов в 1 мл.

Для анализа различий в распределении категориальных переменных в группах пациенток использовали критерий хи-квадрат для линейного тренда, при анализе количественных переменных применяли *U*-тест Манна — Уитни. Для оценки связи относительной концентрации лактобацилл с категорией микробиоценоза рассчитывали коэффициент корреляции Спирмена. Статистический анализ результатов проводили с использованием статистического пакета SPSS (IBM).

## Результаты

Клинический материал для исследования был получен от 123 женщин в возрасте от 15 до 54 лет (средний возраст — 34,5 года). Наиболее часто среди всех женщин выявлялся вид *L. jensenii* (у 53 женщин, 43 %), за ним следовали *L. iners* (у 51 женщины, 41 %), *L. crispatus* и *L. vaginalis* (каждый у 49 женщин, 40 %), *L. gasseri* (у 44 женщин, 36 %), *L. johnsonii* (у 32 женщин, 26 %), *L. acidophilus* (у 17 женщин, 14 %). По результатам теста Фемофлор установили, что микробиоценоз влагалища был охарактеризован у 65 женщин как нормоценоз, у 14 — условный нормоценоз, у 21 — умеренный дисбиоз, у 23 — выраженный дисбиоз. Показатели (в процентном отношении) изучаемых видов лактобацилл у женщин с различными характеристиками микробиоценоза влагалища представлены на рис. 1. При нормоценозе превалирующим по частоте был вид *L. crispatus* (57 %), при условном нормоценозе чаще других



**Рис. 1.** Частота выявления ДНК видов лактобацилл у женщин с различными характеристиками микробиоценоза влагалища (по результатам теста Фемофлор-16)

**Fig. 1.** Frequency of detection of Lactobacillus species DNA in women with different characteristics of the vaginal microbiocenosis (according to the results of the test Femoflor-16)

выявляли вид *L. vaginalis* (71 %), при умеренном дисбиозе — *L. gasseri* (67 %), при выраженном дисбиозе — *L. iners* (39 %).

Для изучения различий в видовом и количественном составе лактобациллярной микрофлоры при физиологическом и дисбиотическом состояниях микробиоценоза влагалища все женщины были разделены на три группы. Первую группу составили женщины с физиологическим микробиоценозом влагалища (куда вошли пациентки с нормоценозом и условным нормоценозом). Во вторую группу вошли женщины с умеренным дисбиозом влагалища, в третью — женщины с выраженным дисбиозом влагалища. Такие виды лактобацилл, как *L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. acidophilus* и *L. vaginalis*, чаще выявлялись при физиологическом микробиоценозе влагалища. При умеренном и выраженном дисбиозе влагалища частота обнаружения этих видов лактобацилл значительно снижалась (табл. 1). Особенно значимые различия были показаны для вида *L. crispatus*, частота выявления которого при нормоценозе почти в 2 раза превышала частоту при умеренном дисбиозе и в 13 раз при выраженном дисбиозе. Для видов *L. iners*, *L. gasseri* и *L. johnsonii* подобной тенденции не установлено.

Количество видов лактобацилл, выявляемых у одной женщины, варьировало от 1 до 6. У 34 женщин был обнаружен один вид лактобацилл, у 89 женщин присутствовали два и более видов лактобацилл. Видовое разнообразие

лактобацилл (выявление  $\geq 2$  видов) наблюдалось значительно чаще у женщин с физиологическим микробиоценозом (64 из 79, 81 %) и у женщин с умеренным дисбиозом (18 из 21, 86 %), чем у женщин с выраженным дисбиозом влагалища (7 из 23, 30 %) ( $p\text{-trend} = 0,000$ ).

Для проверки предположения о связи количества видов лактобацилл с их общей концентрацией в образце и, следовательно, состоянием микробиоценоза влагалища было проведено сравнение концентраций общей лактобациллярной микрофлоры в образцах, содержащих один вид лактобацилл, и образцах, содержащих два и более видов лактобацилл. В образцах, содержащих один вид лактобацилл, концентрация общей лактобациллярной микрофлоры была значительно ниже (диапазон  $1,6 \times 10^3 - 6,3 \times 10^7$ , медиана  $7,9 \times 10^5$ ), чем в образцах, содержащих два и более видов лактобацилл (диапазон  $10^5 - 6,3 \times 10^7$ , медиана  $5 \times 10^6$ ) ( $p = 0,000$ ).

С учетом того что большинство вагинальных проб содержали несколько видов лактобацилл, был проведен сравнительный анализ частоты видов лактобацилл в норме и при дисбиозах после определения доминирующего вида в каждом образце. Доминирующим считали вид, концентрация которого относительно общей концентрации лактобациллярной микрофлоры составляла 50 % и более. *L. iners* были доминирующим видом у 41 женщины, *L. crispatus* — у 35 женщин, *L. jensenii* — у 14 жен-

Таблица 1

Сравнение частоты выявления ДНК видов лактобацилл у женщин с физиологическим и нарушенным микробиоценозом влагалища

Table 1

Comparison of the frequency of detection of *Lactobacillus* species DNA in women with physiological and disturbed vaginal microbiocenosis

Вид лактобацилл	Число женщин (%)				Значение $p\text{-trend}$
	Все женщины ( $n = 123$ )	Женщины с физиологическим микробиоценозом влагалища* ( $n = 79$ )	Женщины с умеренным дисбиозом влагалища ( $n = 21$ )	Женщины с выраженным дисбиозом влагалища ( $n = 23$ )	
<i>L. iners</i>	51 (41)	38 (48)	4 (19)	9 (39)	0,182
<i>L. crispatus</i>	49 (40)	42 (53)	6 (29)	1 (4)	0,000
<i>L. jensenii</i>	53 (43)	41 (52)	6 (29)	6 (26)	0,012
<i>L. gasseri</i>	44 (36)	22 (28)	14 (67)	8 (35)	0,152
<i>L. johnsonii</i>	32 (26)	15 (19)	12 (57)	5 (22)	0,236
<i>L. acidophilus</i>	17 (14)	16 (20)	1 (5)	0 (0)	0,006
<i>L. vaginalis</i>	49 (40)	34 (43)	12 (57)	3 (13)	0,043

\* в группу вошли женщины с микробиоценозом влагалища, определенным с применением теста Фемофлор как нормоценоз или условный нормоценоз

щин, *L. gasseri* — у 29 женщин, *L. acidophilus* — у 1 женщины (табл. 2), при этом у двух женщин доминирующими были признаны два вида лактобацилл — *L. iners* и *L. crispatus*, так как их содержание было равным. В 5 образцах относительная концентрация всех изучаемых видов лактобацилл была существенно ниже 50 %, поэтому эти образцы были исключены из данного анализа. *L. crispatus* как доминирующий вид значительно чаще выявлялись в норме, чем при дисбиозе влагалища, тогда как *L. jensenii* и *L. gasseri* значительно чаще обнаруживались при дисбиозе влагалища, чем в норме. Для *L. iners* и *L. acidophilus* статистически значимых различий между группами не выявля-

но. *L. johnsonii* и *L. vaginalis* ни в одном образце не были доминирующими видами, и показатели их максимального содержания составили 2 и 6 % соответственно.

При оценке проб, содержащих единственный вид лактобацилл, было определено, что при нормоценозе один вид лактобацилл встречался у 15 из 34 женщин (44 %), при умеренном дисбиозе — у 3 из 34 (9 %) и при выраженном дисбиозе — у 16 из 34 (47 %). При этом наиболее часто встречающимися единственными видами были *L. iners*, *L. crispatus* и *L. jensenii* (табл. 3). *L. johnsonii* ни разу не были идентифицированы как единственный вид лактобацилл. Самым частым единственным видом

Таблица 2

Сравнение частоты выявления видов лактобацилл (по доминирующему виду) при физиологическом и нарушенном микробиоценозе влагалища

Table 2

Comparison of the frequency of detection of *Lactobacillus* species DNA (according to a dominating species) in women with physiological and disturbed vaginal microbiocenosis

Вид лактобацилл	Число женщин (%)				Значение <i>p-trend</i>
	Все женщины ( <i>n</i> = 118)	Женщины с физиологическим микробиоценозом влагалища* ( <i>n</i> = 78)	Женщины с умеренным дисбиозом влагалища ( <i>n</i> = 19)	Женщины с выраженным дисбиозом влагалища ( <i>n</i> = 21)	
<i>L. iners</i>	41 (35)	28 (36)	4 (21)	9 (43)	0,842
<i>L. crispatus</i>	35 (30)	34 (44)	1 (5)	0 (0)	0,000
<i>L. jensenii</i>	14 (12)	5 (6)	3 (16)	6 (29)	0,005
<i>L. gasseri</i>	29 (25)	12 (15)	11 (58)	6 (29)	0,028
<i>L. acidophilus</i>	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0,507

\* в группу вошли женщины с микробиоценозом влагалища, определенным с применением теста Фемофлор как нормоценоз или условный нормоценоз

Таблица 3

Сравнение частоты выявления видов лактобацилл при физиологическом и нарушенном микробиоценозе влагалища в образцах, содержащих единственный вид лактобацилл

Table 3

Comparison of the frequency of detection of *Lactobacillus* species DNA in women with physiological and disturbed vaginal microbiocenosis in samples containing a single *Lactobacillus* species

Вид лактобацилл	Число женщин (%)				Значение <i>p-trend</i>
	Все женщины ( <i>n</i> = 34)	Женщины с физиологическим микробиоценозом влагалища* ( <i>n</i> = 15)	Женщины с умеренным дисбиозом влагалища ( <i>n</i> = 3)	Женщины с выраженным дисбиозом влагалища ( <i>n</i> = 16)	
<i>L. iners</i>	14 (41)	5 (33)	0 (0)	9 (56)	0,197
<i>L. crispatus</i>	7 (21)	6 (40)	1 (33)	0 (0)	0,007
<i>L. jensenii</i>	8 (24)	2 (13)	1 (33)	5 (31)	0,249
<i>L. gasseri</i>	3 (9)	1 (7)	0 (0)	2 (13)	0,569
<i>L. acidophilus</i>	1 (3)	1 (7)	0 (0)	0 (0)	0,281
<i>L. vaginalis</i>	1 (3)	0 (0)	1 (33)	0 (0)	0,975

\* в группу вошли женщины с микробиоценозом влагалища, определенным с применением теста Фемофлор как нормоценоз или условный нормоценоз

Таблица 4

Анализ корреляции относительной концентрации лактобацилл с категорией микробиоценоза

Table 4

Analysis of correlation of the relative concentration of *Lactobacillus* species with a microbiocenosis category

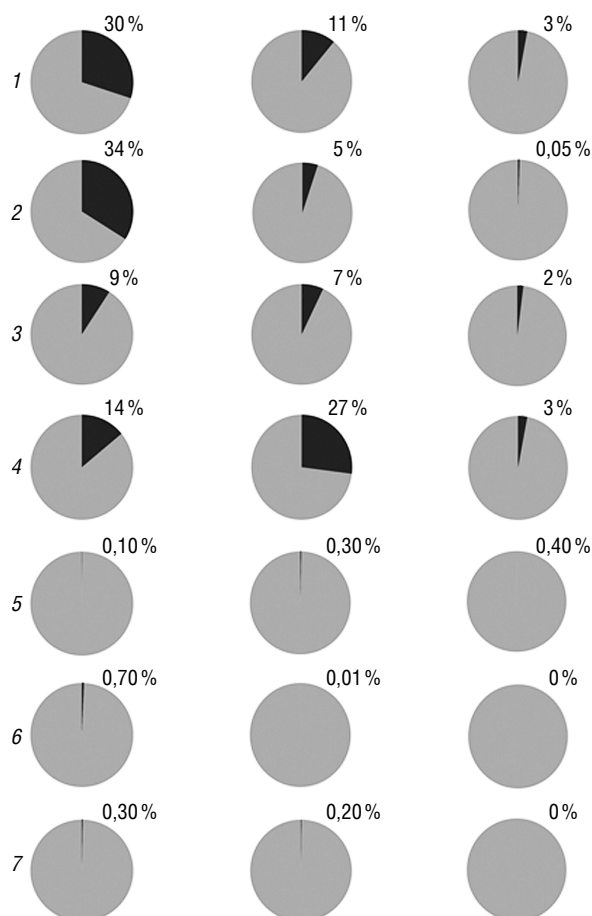
Вид лактобацилл	Коэффициент корреляции	Значение <i>p</i>
<i>L. iners</i>	–0,214	0,018
<i>L. crispatus</i>	–0,424	0,000
<i>L. jensenii</i>	–0,211	0,019
<i>L. gasseri</i>	0,130	0,151
<i>L. johnsonii</i>	0,100	0,272
<i>L. acidophilus</i>	–0,180	0,046
<i>L. vaginalis</i>	–0,198	0,028

при нормоценозе был *L. crispatus* (определялся в 40 % проб), при выраженном дисбиозе — вид *L. iners* (был выявлен у 56 % женщин этой группы).

Для изучения ассоциации относительной концентрации лактобацилл с категорией микробиоценоза использовали корреляционный анализ. Относительная концентрация *L. iners*, *L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. acidophilus*, *L. vaginalis* значительно снижалась в направлении от физиологического микробиоценоза влагалища

к умеренному и выраженному дисбиозу, тогда как для *L. gasseri* и *L. johnsonii* такой закономерности не выявлено (табл. 4).

Для количественной оценки содержания каждого вида лактобацилл в отделяемом влагалища рассчитывали концентрацию лактобацилл в образце по отношению к общей бактериальной массе, включающей другие микроорганизмы. На рис. 2 представлены средние значения относительных концентраций (долей) изучаемых видов лактобацилл у жен-



**Рис. 2.** Средние значения относительных концентраций изучаемых видов лактобацилл (1 — *L. iners*, 2 — *L. crispatus*, 3 — *L. jensenii*, 4 — *L. gasseri*, 5 — *L. johnsonii*, 6 — *L. acidophilus*, 7 — *L. vaginalis*) в составе микрофлоры влагалища у женщин с нормоценозом (слева), с умеренным дисбиозом (в середине), с выраженным дисбиозом (справа)

**Fig. 2.** Mean values of the relative concentration of the analyzed *Lactobacillus* species (1 — *L. iners*, 2 — *L. crispatus*, 3 — *L. jensenii*, 4 — *L. gasseri*, 5 — *L. johnsonii*, 6 — *L. acidophilus*, 7 — *L. vaginalis*) in the vaginal microflora of women with normocenosis (left), with moderate dysbiosis (middle), with severe dysbiosis (right)

щин с нормоценозом, умеренным и выраженным дисбиозом (рис. 2). Средние доли *L. iners*, *L. crispatus* и *L. jensenii* уменьшались в направлении от физиологического микробиоценоза влагалища к умеренному и выраженному дисбиозу. Средняя доля *L. gasseri* при умеренном дисбиозе влагалища в 2 раза превышала долю при нормоценозе. Средние доли *L. johnsonii*, *L. acidophilus* и *L. vaginalis* не превышали 1 %.

### Обсуждение и заключение

Лактобациллы являются самыми часто обнаруживаемыми микроорганизмами в вагинальном биотопе женщин репродуктивного возраста. Эстрогензависимая способность лактобацилл к адгезии на эпителиальных клетках влагалища, продукция ими перекиси водорода, молочной кислоты и антибиотикоподобных веществ обеспечивают барьерную функцию, препятствуя размножению условно-патогенных микроорганизмов [2].

Большинство исследований, посвященных изучению видового состава вагинальных лактобацилл у женщин репродуктивного возраста, свидетельствует о том, что *L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. iners* и *L. gasseri* являются самыми распространенными видами вагинального биотопа женщин с учетом их этнической принадлежности, полового поведения и гигиенических особенностей. При этом вид *L. crispatus* доминирует у женщин с физиологическим микробиоценозом влагалища. В различных исследованиях имеются многочисленные указания на возможные причинно-следственные связи между обнаружением видов *L. iners* и *L. gasseri* с развитием дисбиотических состояний микробиоценоза влагалища, а *L. iners* — с риском развития бактериального вагиноза.

В нашей работе установлено, что наиболее часто у женщин нашего региона выявлялся вид *L. jensenii* (у 43 % женщин), за ним следовали *L. iners* (41 %), *L. crispatus* и *L. vaginalis* (каждый по 40 %) и *L. gasseri* (36 %). При изучении различий видового и количественного состава лактобацилл у женщин с физиологическим и дисбиотическим состоянием вагинального биотопа для видов *L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. acidophilus* и *L. vaginalis* выявили значительное снижение частоты встречаемости при дисбиозах влагалища по сравнению с физиологическим микробиоценозом. Особенно это показательно для вида *L. crispatus*, частота выявления которого при нормоценозе (53 %) почти в 2 раза превы-

шала частоту при умеренном дисбиозе (29 %) и в 13 раз при выраженном дисбиозе (4 %).

В одном биотопе чаще обнаруживаются два и более вида лактобацилл. В нашем исследовании в 72 % проб лактобациллярная микрофлора была представлена несколькими видами. Видовое разнообразие лактобацилл (выявление  $\geq 2$  видов в одном биотопе), наблюдавшееся значительно чаще у женщин с физиологическим микробиоценозом (81 %) и с умеренным дисбиозом (86 %), чем у женщин с выраженным дисбиозом влагалища (30 %), свидетельствует о создании оптимальных условий для колонизации вагинального биотопа различными видами лактобацилл комплекса *L. acidophilus* и их симбиотическом сосуществовании [18]. Это подтверждается и тем, что в образцах, содержащих несколько видов лактобацилл, концентрация общей лактобациллярной микрофлоры была значительно выше, чем в образцах с одним видом лактобацилл.

При оценке образцов, содержащих один вид лактобацилл, отмечено явное преобладание видов *L. iners*, *L. jensenii* и *L. crispatus*. При этом *L. iners* превалировали над всеми остальными видами лактобацилл в пробах от женщин с выраженным дисбиозом (56 %). Такое значительное преобладание *L. iners* при выраженном дисбиозе подтверждает способность этого вида лактобацилл приспосабливаться к самым неблагоприятным условиям вагинальной среды [11]. Доминирующим единственным видом при нормоценозах был вид *L. crispatus*. При выраженном дисбиозе *L. crispatus* как единственный вид отсутствовал.

Очевидное преобладание *L. crispatus* при нормоценозе соответствует данным литературы о доминировании этого вида в биотопе здоровых женщин [14, 15, 18]. Это объясняется способностью *L. crispatus* поддерживать постоянство микробиоценоза влагалища за счет выраженных протективных свойств, препятствующих размножению условно-патогенных микроорганизмов [19, 20].

Согласно литературным данным вид *L. iners* часто встречается как при физиологическом состоянии микробиоценоза, так и при дисбиозе влагалища [13, 17], что также подтверждает и наше исследование. При сравнении частоты выявления ДНК видов лактобацилл у женщин с физиологическим и нарушенным микробиоценозом влагалища *L. iners* обнаруживался у 48 % женщин с нормоценозом и у 39 % с выраженным дисбиозом. Но, в от-

личие от *L. crispatus*, *L. iners*, вероятно, не так эффективно препятствует размножению условно-патогенной микрофлоры. Возможно, *L. iners* имеет несколько фенотипов, одни из которых способствуют поддержанию физиологического микробиоценоза, а другие связаны с возникновением дисбиоза.

Неоднозначна и роль вида *L. gasseri* в поддержании постоянства микробиоценоза влагалища. В нашем исследовании этот вид часто встречался при дисбиозах: доминировал в группе умеренных дисбиозов (67 %) и был второй по частоте встречаемости после *L. iners* в группе выраженных дисбиозов, а количество *L. gasseri* при выраженном дисбиозе по сравнению с нормоценозом при оценке проб с единственным видом лактобацилл двукратно увеличилось. По данным литературы, *L. gasseri*, как и *L. iners*, имеет сравнительно небольшой геном (около 2 Mbp) [21] и лишь до 15 % всех штаммов *L. gasseri* способны продуцировать перекись водорода [17]. Это может свидетельствовать о более низкой способности вида *L. gasseri* к поддержанию постоянства микробиоценоза влагалища.

Таким образом, данное исследование показывает, что в нашем регионе наиболее распространенными видами вагинальных лактобацилл являются *L. jensenii*, *L. iners*, *L. crispatus*, *L. vaginalis* и *L. gasseri*. Видовое разнообразие лактобацилл (выявление  $\geq 2$  видов) наблюдается значительно чаще у женщин с физиологическим микробиоценозом, чем у женщин с дисбиозом влагалища. Интересна заслуживает высокая частота выявления вида *L. vaginalis*, которому в литературе уделяется мало внимания. Наше исследование подтверждает, что *L. crispatus* является доминирующим видом вагинального биотопа здоровых женщин, а при дисбиозах наиболее часто определяются виды *L. gasseri* и *L. iners*.

На основании проведенного анализа можно сделать вывод, что превалирование в вагинальном биотопе видов *L. crispatus* и *L. jensenii* является хорошим условием для поддержания постоянства микробиоценоза влагалища. Выявление же *L. gasseri* и *L. iners* в качестве доминирующих видов микробиоценоза влагалища может свидетельствовать о предпосылке перехода к дисбиотическому состоянию. Однако необходимо подчеркнуть, что достаточно частое присутствие *L. iners* как в пробах с нормоценозом, так и в пробах с выраженным дисбиозом побуждает с осторожностью ин-

терпретировать связь этого вида лактобацилл с риском возникновения бактериального вагиноза.

## Литература

1. Pavlova SI, Kilic AO, So JS, et al. Genetic diversity of vaginal lactobacilli from women in different countries on 16S rRNA gene sequences. *J App Microbiol*. 2002;92(3):451-9.
2. Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз. – М.: МИА, 2012. – 472 с. [Kira EF. Bacterial'nyi vaginoz. Moscow: Medicinskoe informacionnoe agentstvo; 2012. (In Russ.)]
3. Wilks M, Wiggins R, Whiley A, et al. Identification and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production of vaginal lactobacilli from pregnant women at high risk of preterm birth and relation with outcome. *J Clin Microbiol*. 2004;42:713-7.
4. Brotman RM, Bradford LL, Conrad M, et al. Association between *Trichomonas vaginalis* and vaginal bacterial community composition among reproductive-age women. *Sex Transm Dis*. 2012;39:807-2. doi: 10.1097/OLQ.0b013e3182631c79.
5. Mane A, Kulkarni S, Ghatge M, et al. HIV-1 RNA shedding in the female genital tract is associated with reduced quantity of *Lactobacilli* in clinically asymptomatic HIV-positive women. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013;75:112-4. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2012.09.009.
6. Giakoumelou S, Wheelhouse N, Cuschieri K, et al. The role of infection in miscarriage. *Hum Reprod Update*. 2016;22(1):116-33. doi: 10.1093/humupd/dmv041.
7. Zakaria Gomaa E. Antimicrobial and anti-adhesive properties of biosurfactant produced by lactobacilli isolates, biofilm formation and aggregation ability. *J Gen Appl Microbiol*. 2013;59:425-36.
8. Falsen E, Pascual C, Sjoden B, et al. Phenotypic and phylogenetic characterization of a novel *Lactobacillus* species from human sources: description of *Lactobacillus iners* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol*. 1999;49(Pt 1):217-21.
9. Antonio MAD, Hawes SE, Hillier SL. The identification of vaginal *Lactobacillus* species and the demographic and microbiologic characteristics of women colonized by these species. *J Infect Dis*. 1999;180:1950-6.
10. Rampersaud R, Planet PJ, Randis TM, et al. Inerolysin, a cholesterol-dependent cytolysin produced by *Lactobacillus iners*. *J Bacteriol*. 2011;193:1034-41.
11. Macklaim JM, Fernandes AD, Di Bella JM, et al. Comparative meta-RNA-seq of the vaginal microbiota and differential expression by *Lactobacillus iners* in health and dysbiosis. *Microbiome*. 2013;1:12. doi: 10.1186/2049-2618-1-12.
12. Donders GG, Van CK, Bellen G, et al. Predictive value for preterm birth of abnormal vaginal flora, bac-



- terial vaginosis and aerobic vaginitis during the first trimester of pregnancy. *BJOG*. 2009;116:1315-1324. doi: 10.1111/j.1471-0528.2009.2237.x.
13. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011;108Suppl 1:4680-7. doi: 10.1073/pnas.1002611107.
  14. Исаева А.С., Летаров А.В., Ильина Е.Н., и др. Видовая идентификация влагалищных лактобацилл, выделенных у женщин репродуктивного возраста // Акушерство и гинекология. – 2012. – № 3. – С. 60–64. [Isaeva AS, Letarov AV, Il'ina EN, et al. Vidovaja identifikacija vlagalishnyh laktobacill, vydelennyh u zhenshhin reproduktivnogo vozrasta. *Akusherstvo i ginekologija*. 2012;(3):60-64. (In Russ.)]
  15. Мелкумян А.Р., Припутневич Т.В. Влагалищные лактобактерии — современные подходы к видовой идентификации и изучению их роли в микробном сообществе // Акушерство и гинекология. – 2013. – № 7. – С. 18–23. [Melkumyan AR, Priputnevich TV. Vaginal lactobacilli: current approaches to species identification and to the study of their role in the microbial community. *Obstetrics and Gynecology*. 2013;(7):18-23. (In Russ.)]
  16. Petrova MI, van den Broek M, Balzarini J, et al. Vaginal microbiota and its role in HIV transmission and infection. *FEMS Microbiol Rev*. 2013;37(5):762-92. doi: 10.1111/1574-6976.12029.
  17. Yamamoto T, et al. Bacterial population in the vaginas of healthy adolescent women. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2009;22:11-8.
  18. Lamont RF, Sobel JD, Akins RA, et al. The vaginal microbiome: new information about genital tract flora using molecular based techniques. *BJOG*. 2011Apr;118(5):533-49. doi: 10.1111/j.1471-0528.2010.02840.x.
  19. Jespers V, van de Wijgert J, Cools P, et al. The significance of *Lactobacillus crispatus* and *L. vaginalis* for vaginal health and the negative effect of recent sex: a cross-sectional descriptive study across groups of African women. *BMC Infect Dis*. 2015;15:115. doi: 10.1186/s12879-015-0825-z.
  20. Breshears LM, Edwards VL, Ravel J, Peterson ML. *Lactobacillus crispatus* inhibits growth of *Gardnerella vaginalis* and *Neisseria gonorrhoeae* on a porcine vaginal mucosa model. *BMC Microbiol*. 2015;15:276.
  21. DOE Joint Genome Institute [http://genome.jgi-psf.org/finished\\_microbes/lacga/lacga.home.html](http://genome.jgi-psf.org/finished_microbes/lacga/lacga.home.html) Accessed 8/23/07 21.

#### ■ Адреса авторов для переписки (Information about the authors)

Ольга Викторовна Будиловская — научный сотрудник лаборатории микробиологии. ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** o.budilovskaya@gmail.com.

Елена Васильевна Шипицына — старший научный сотрудник лаборатории микробиологии. ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** shipitsyna@inbox.ru.

Екатерина Николаевна Герасимова — младший научный сотрудник лаборатории микробиологии. ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** iagmail@ott.ru.

Маргарита Михайловна Сафронова — д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедрой репродуктивного здоровья женщин. ГБОУ ВПО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава РФ, Санкт-Петербург. **E-mail:** kafedra.pro@mail.ru.

Алевтина Михайловна Савичева — зав. лабораторией микробиологии. ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** savitcheva@mail.ru.

Olga V. Budilovskaya — Researcher, Laboratory of Microbiology. FSBSI "The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott", Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** o.budilovskaya@gmail.com.

Elena V. Shipitsyna — Senior Researcher, Laboratory of Microbiology. FSBSI "The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott", Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** shipitsyna@inbox.ru.

Ekaterina N. Gerasimova — Researcher, Laboratory of Microbiology. FSBSI "The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott", Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** iagmail@ott.ru.

Margarita M. Safronova — MD, Professor, Head of the Department of Women's Reproductive Health. North-western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** kafedra.pro@mail.ru.

Alevtina M. Savicheva — Head of Laboratory of Microbiology. FSBSI "The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott", Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** savitcheva@mail.ru.