Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Уральский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии
Кафедра акушерства и гинекологии

МИКРОБИОЦЕНОЗ ВЛАГАЛИЩА ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ. ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ ДИСБИОТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

Учебно-методическое пособие для врачей,
клинических интернов, ординаторов и студентов

Екатеринбург, 2017

3 докторские, 6 кандидатских диссертаций защитили наши доктора.

МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР
Гармония
Основан в 1993 году

С 1993 года занимаемся вопросами репродуктивного здоровья человека, лечением бесплодия.

Клиническая база УГМУ.

РЕЕСТР
НАДЕЖНАЯ РЕПУТАЦИЯ
WWW.STATEXPERT.RU

352 вида исследований для постановки точного диагноза внедрено в нашей лаборатории.

Более **150 врачей по 25 специальностям** ведут приемы в клинике.

Более **1000 долгожданных малышей** родилось благодаря нашей высокотехнологичной помощи при бесплодии.

Более **18 000 часов** наши хирурги провели за работой в операционной.

Екатеринбург:
Тверитина, 16
Родонитовая, 1
Черепанова, 28
Сыромолотова, 12
Бардина, 31
Советская, 42
Фурманова, 30

(343) 254-66-66
www.g-mc.ru

Уже более **750 000 человек** доверили нам свое здоровье.

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ. НЕОБХОДИМА КОНСУЛЬТАЦИЯ СПЕЦИАЛИСТА.

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Уральский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии
Кафедра акушерства и гинекологии

МИКРОБИОЦЕНОЗ ВЛАГАЛИЩА ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ. ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ ДИСБИОТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

Учебно-методическое пособие для врачей,
клинических интернов, ординаторов и студентов

Екатеринбург, 2017

УДК 579.864
ББК 57.1
В75

Составители:
Доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, д.м.н., Ворошилина Е. С.
Профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, д.м.н., Литусов Н. В.
Доцент кафедры акушерства и гинекологии, д.м.н. Плотко Е. Э.
Ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Зорников Д. Л.
Врач акушер-гинеколог Хаютин Л. В.

Под редакцией доцента кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, д.м.н., Е. С. Ворошилиной

Рецензент: руководитель научного отделения иммунологии, микробиологии, патоморфологии и цитодиагностики ФГБУ «УрНИИ Охраны материнства и младенчества» Минздрава РФ, профессор, д.м.н. Чистякова Г. Н.

Пособие рассмотрено и одобрено методической комиссией укрупненной группы специальностей «Науки о здоровье. Профилактическая медицина» (протокол № 3 от 2.12.2016).

Микробиоценоз влагалища во время беременности. Возможности коррекции дисбиотических состояний: учебно-методическое пособие для студентов, клинических интернов и ординаторов. – Екатеринбург. – 2017. – 46 с.

ISBN 978-5-9908683-2-8

В данном пособии отражена роль вагинальной микробиоты в поддержании репродуктивного здоровья женщин, представлены методы исследования данной микробиоты с их основными возможностями и ограничениями, дано понятие дисбиоза, приведены лабораторные критерии умеренного и выраженного дисбиза, представлена оценка новых методов коррекции дисбиоза влагалища без применения антимикробных препаратов.

Материал излагается в доступной для студентов и врачей форме, имеет современное содержание и практическую направленность. В конце пособия предоставлен список литературы, использованной для подготовки материала, что позволит заинтересованному читателю более подробно ознакомиться с экспериментальными данными, результаты которых положены в основу пособия.

Настоящее пособие может быть использовано для проведения практических занятий со студентами, интернами и врачами различных специальностей.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений 4

Глава 1. Функции и состав вагинального микробиоценоза 5

1.1. Краткий очерк изучения вагинальной микробиоты и основные понятия 5

1.2. Роль вагинальной микробиоты в поддержании здоровья репродуктивной системы женщины 6

1.3. Видовой состав вагинальных лактобацилл как фактор стабильности нормоценоза 9

Глава 2. Методы лабораторной оценки вагинального микробиоценоза 11

2.1. Микроскопический метод 11

2.2. Культуральный (бактериологический) метод 13

2.3. Качественная полимеразная цепная реакция 14

2.4. Полимеразная цепная реакция с детекцией результатов в режиме реального времени 15

Глава 3. Особенности микробиоценоза влагалища во время беременности 17

3.1. Качественный и количественный состав вагинальной микробиоты у клинически здоровых беременных в зависимости от срока гестации 17

3.2. Динамика вагинального микробиоценоза в течение беременности 18

Глава 4. Дисбиоз вагинальной микрофлоры и особенности течения беременности 20

4.1. Определения термина дисбиоз. Лабораторные критерии умеренного и выраженного дисбиоза влагалища 20

4.2. Особенности дисбиоза влагалища во время беременности 20

Глава 5. Возможности коррекции дисбиоза влагалища во время беременности 23

5.1. Влияние обработки влагалища кавитированным низкочастотным ультразвуком раствором хлоргексидина на вагинальный микробиоценоз у беременных с нормоценозом и дисбиозом влагалища 23

5.2. Необходимость дотации лактофлоры после обработки влагалища кавитированным низкочастотным ультразвуком раствором хлоргексидина у беременных с дисбиозом влагалища 25

5.3. Эффективность применения двухэтапной схемы коррекции дисбиоза влагалища с помощью обработки влагалища кавитированным низкочастотным ультразвуком раствором хлоргексидина и последующего приема перорального пробиотического препарата, содержащего живые *L. crispatus* 25

Приложения 27

Список литературы 34

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БВ	Бактериальный вагиноз
ГЭ/мл	Геном-эквиваленты в 1 миллилитре
ИВ	Индекс воспаления
ИПБ	Искусственное прерывание беременности
ИППП	Инфекции, передаваемые половым путем
КНУЗ	Кавитированные низкочастотным ультразвуком растворы
КНУЗ РХ	Кавитированный низкочастотным ультразвуком 0,05 % раствор хлоргексидина биглюканата
ОБМ	Общая бактериальная масса
ПЦР	Полимеразная цепная реакция
ПЦР-РВ	Полимеразная цепная реакция с детекцией результатов в режиме реального времени
УПМ	Условно-патогенные микроорганизмы
ЭФ	Биологически активная добавка «Экофемин Флораваг»

ГЛАВА 1. ФУНКЦИИ ВАГИНАЛЬНОЙ МИКРОБИОТЫ И СОСТАВ НОРМОФЛОРЫ ВЛАГАЛИЩА

1.1. Краткий очерк изучения вагинальной микробиоты и основные понятия

Совокупность микроорганизмов, колонизирующих влагалище, называют микробиотой или микробиоценозом влагалища. Наряду с ними используется традиционный термин «микрофлора», при этом все термины являются тождественными. Большую часть микробной биомассы во влагалище составляют бактерии. В репродуктивном возрасте в 1 мл вагинального отделяемого может содержаться до 10^8 бактерий, что объясняется наличием доступного питательного субстрата – глюкозы, образующейся в результате гидролиза гликогена, который в свою очередь синтезируется клетками эпителия после эстрогенной стимуляции.

Первые работы по исследованию микрофлоры влагалища датированы концом 19 века: в 1892 году профессор Альберт Додерлейн опубликовал монографию, в которой описал кислотопродуцирующие грамположительные палочки, выявляемые во влагалище здоровых женщин [26]. Спустя 38 лет Thomas *et al.* с помощью культуральных методов идентифицировал палочки Додерлейна как вид *Lactobacillus acidophilus* [67]. В название рода заложены морфологическое свойство микроорганизма (палочковидная форма) и основное биохимическое свойство (ферментация углеводов до молочной кислоты), а видовое имя отражает склонность к росту в кислой среде. В 1980 году с помощью молекулярно-генетических методов гетерогенная группа бактерий *Lactobacillus acidophilus* была разделена на несколько видов, известных сегодня: *L. crispatus, L. johnsonii, L. jensenii, L. gasseri, L. acidophilus* и т.д. [41]. А в 1999 году был выделен и идентифицирован очередной вид лактобацилл, впоследствии часто выявляемый как у здоровых женщин, так и у пациенток с бактериальным вагинозом, – *L. iners* [29]. Таким образом, на протяжения более чем 120 лет лактобациллы воспринимаются как нормальная микрофлора влагалища.

Другие населяющие влагалище микроорганизмы принято считать условно-патогенными. В 1955 году Гарднером и Дьюксом из влагалища был выделен микроорганизм, названный *Haemophilus vaginalis* [34], в последующем реклассифицированный в *Gardnerella vaginalis*. Данный микроорганизм, в отличие от лактобацилл, ассоциирован с патологическим состоянием – бактериальным вагинозом (БВ). В 1999 году был идентифицирован еще один микроорганизм, выявляемый при БВ – *Atopobium vaginae* [59]. Впоследствии были обнаружены и другие микроорга-

низмы, ассоциированные с БВ (бактерии родов *Prevotella, Mobiluncus, Leptotrichia* и др.), однако *G. vaginalis* и *A. vaginae* остаются наиболее надежными маркерами данного патологического состояния.

БВ является клинико-лабораторным синдромом, характеризующимся снижением количества лактобацилл и повышением количества условно-патогенных микроорганизмов (в том числе *G. vaginalis* и *A. vaginae*), что может приводить к появлению выделений из влагалища, часто сопровождающихся запахом, и повышению влагалищного pH. Перечисленные признаки и наличие «ключевых клеток» – эпителиальных клеток, на которых адгезировано множество бактерий, – в мазке из вагинального отделяемого (критерии Амселя) положены в основу диагностики БВ. Кроме того БВ можно диагностировать и по результатам микроскопии мазка вагинального отделяемого: для этого используют шкалу Нугента, которая учитывает характер микрофлоры влагалища.

Достижения последних лет в области молекулярной микробиологии позволили прийти к пониманию, что наряду с «нормой», представленной лактобациллами, и «патологией», обусловленной другими условно-патогенными микроорганизмами, существуют иные варианты микробиоценоза влагалища. Это подтверждают данные, полученные в ходе реализации глобального проекта «Микробиом человека» (проект был запущен в 2008 году [55]), согласно которым влагалище здоровых женщин может быть колонизировано другими бактериями, продуцирующими молочную кислоту (не лактобациллами) [57]. Кроме того в составе микробиоты влагалища могут наблюдаться транзиторные сдвиги, которые самопроизвольно корректируются с течением времени.

1.2. Роль вагинальной микробиоты в поддержании здоровья репродуктивной системы женщины

Говоря о вкладе вагинальной микробиоты в поддержание здоровья женской репродуктивной системы, обычно акцентируют внимание на роли лактофлоры, которая традиционно считается нормальной микрофлорой влагалища. Однако стоит принимать во внимание, что у значительной части здоровых женщин лактобациллы не являются доминирующими микроорганизмами [57, 77]. Из этого следует, что функции лактобацилл, по крайней мере, частично могут перекрываться другими микроорганизмами и отсутствие лактобацилл при отсутствии жалоб и объективных клинических признаков не всегда стоит рассматривать как патологию.

Лактобациллы посредством ряда механизмов обеспечивают колонизационную резистентность влагалища, тем самым снижают риск развития ИППП и БВ [37, 73].

Колонизируя вагинальный эпителий, они могут блокировать адгезию различных урогенитальных патогенов: стрептококков группы В, *Staphylococcus aureus* [75], *G. vaginalis* [22], *Neisseria gonorrhoeae* [72], *Pseudomonas aeruginosa* и *Klebsiella pneumoniae* [52]. В опытах *in vitro* было продемонстрировано, что живые клетки *L. crispatus* или его экзополисахарид снижают адгезию *Candida albicans*, а сам экзополисахарид повышает экспрессию клетками вагинального эпителия бета-дефензина 2 – пептида, разрушающего грамотрицательные бактерии [27], что также может обеспечивать защиту вагинального эпителия от колонизации патогенными и условно-патогенными микроорганизмами. Однако отдельные виды и штаммы лактобацилл обладают разной способностью прикрепляться к клеткам эпителия [63], отсюда следует, что конкуренция за площадь адгезии является лишь одним из нескольких механизмов их антагонистической активности [30].

Способность лактобацилл продуцировать молочную кислоту является другим важным защитным фактором, подавляющим рост возбудителя гонореи [35] и кислоточувствительных микроорганизмов, ассоциированных с БВ [51]. Низкий вагинальный pH (около 4,5) традиционно является одним из показателей здоровья влагалища [18]. Изменение pH с 7 до 4,5 снижает жизнеспособность бактерий, ассоциированных с БВ в 2–10^4 раз, в зависимости от вида [51]. Однако, авторы в данном исследовании продемонстрировали, что физиологические концентрации именно молочной кислоты при данном pH приводят к фатальному снижению жизнеспособности БВ-ассоциированных бактерий в 10^6–10^8 раз. Использование же уксусной кислоты, при аналогичных значениях pH, не позволяет добиться столь значимого результата. По всей видимости, механизм антимикробного действия лактата основан не только на закислении среды, так как при использовании других органических кислот наблюдается менее выраженный бактерицидный эффект [30, 51]. Breshears *et al.* также продемонстрировали, что именно лактат ингибирует рост *G. vaginalis*, а не просто низкий pH или уксусная кислота [23]. Различные группы исследователей сообщают о том, что средние значения вагинального pH у афроамериканок и латиноамериканок выше, чем у европеоидных женщин [31, 57]. В то же время некоторые исследователи предполагают, что данные различия достоверны только в том случае, когда микрофлора чернокожих женщин представлена не лактобациллами [31, 60]. Ravel *et al.* продемонстрировали, что наиболее низкие значения pH наблюдаются при доминировании *L. crispatus* и *L. iners* [57]. В этом же исследовании было установлено, что у латиноамериканок и афроамериканок часто доминирующими являются микроорганизмы не из рода *Lactobacillus*.

Кроме молочной кислоты лактобациллы вырабатывают и другие вещества с потенциальной антимикробной активностью: перекись водорода [27, 28, 38, 74],

бактериоцины [17] или подобно другим микроорганизмам-комменсалам могут модулировать местный иммунный ответ и поддерживать барьерную функцию эпителия [49]. Отдельные виды и штаммы лактобацилл различаются по способности продуцировать перекись водорода [47, 62]. Снижение количества или полное отсутствие перекись-продуцирующих лактобацилл ассоциировано с развитием БВ и инфекций влагалища [28, 38], повышенным содержанием *Escherichia coli* [36], эндометритом [37], преждевременными родами [74]. Наличие перекись-продуцирующих лактобацилл, наоборот, коррелирует с пониженным риском развития БВ [16, 25, 38]. Wilks *et al.* продемонстрировали, что присутствие во влагалище лактобацилл, продуцирующих большие количества перекиси водорода, ассоциировано с меньшим риском развития БВ к 20 неделе беременности или последующего хориоамнионита [74]. В другом исследовании было продемонстрировано, что одновременная колонизация влагалища и прямой кишки перекись-продуцирующими лактобациллами снижает риск развития БВ в 4 раза [16]. Тем не менее, недавно O'Hanlon *et al.* продемонстрировали, что антимикробная активность перекиси водорода блокируется семенной и цервовагинальной жидкостями [50]. А ряд других исследователей отмечают низкую концентрацию кислорода во влагалище, который является метаболическим предшественником перекиси водорода [50, 51]. Следовательно, данный защитный механизм вряд ли является значимым *in vivo* [30, 50, 51]. Лактобациллы часто инфицированы умеренными бактериофагами [46, 54], и существует гипотеза, что активация профагов может приводить к трансформации вагинальной микрофлоры [54]. Некоторые исследователи предполагают, что продукция перекиси водорода приводит к селекции штаммов, инфицированных дефектными бактериофагами [46]. Nagi *et al.* предположили, что способность лактобацилл продуцировать перекись водорода зависит от происхождения исследуемых штаммов (полученных от здоровых женщин или пациенток с БВ), а не от самих лактобацилл [48]. Возможно и то, что штаммы лактобацилл, продуцирующие H_2O_2, менее адаптированы к сосуществованию с другими видами микроорганизмов, и поэтому редко выделяются при БВ [50]. Кроме бактериофагов в геноме вагинальных лактобацилл часто обнаруживаются плазмиды [47], которые потенциально могут кодировать продукты, полезные для адаптации лактобацилл к вагинальной среде.

Бактериоцины лактобацилл также могут сдерживать рост отдельных групп микроорганизмов. Например, лактоцин 160 повреждает цитоплазматическую мембрану *G. vaginalis* [68] – микроорганизма, ассоциированного с БВ [53]. На сегодняшний день выявлено, по меньшей мере, два бактериоцина, продуцируемых вагинальными лактобациллами [68, 70]. В одном из исследований было

продемонстрировано, что рост *N. gonorrhoeae* не подавляется лактатом при pH 5,5, тогда как добавление стерильного фильтрата суточной культуры *L. crispatus* при аналогичном pH полностью подавляло рост гонококка. Исходя из этого, авторы предположили, что *L. crispatus* продуцировал некий отличный от молочной кислоты противомикробный фактор [23].

1.3. Видовой состав вагинальных лактобацилл как фактор стабильности нормоценоза

Отдельные виды лактобацилл с разной частотой выявляются у здоровых женщин и пациенток с БВ. Вид *L. crispatus* часто выявляют у здоровых женщин [19, 33, 76], и наоборот, крайне редко у пациенток с БВ [16, 32, 42, 62, 74], в то время как вид *L. iners* часто и в высоких количествах определяют у обеих категорий женщин [19, 32, 66, 78]. Вид *L. iners* чаще других лактобацилл может сосуществовать с другими родами микроорганизмов [45]. Женщины с *L. iners* имеют большую вероятность колонизации бактериями родов *Leptotrichia* и *Megasphaera*, *Eggerthella*-подобными бактериями и БВ-ассоциированными бактериями [66]. Обнаружение *L. gasseri* в исследовании Antonio *et al.* коррелировало с четырехкратным увеличением риска развития БВ [15]. В другом исследовании было продемонстрировано, что при доминировании *L. crispatus* в первом триместре беременности, риск развития вагинального дисбиоза снижен в 5 раз в сравнении с общепопуляционным, в то время как при доминировании видов *L. iners* или *L. gasseri* данный риск превышает популяционный в 10 раз [71]. Возможно, это связано с меньшей способностью *L. iners* и *L. gasseri* продуцировать перекись водорода [15, 16]. Однако O'Hanlon *et al.* продемонстрировали, что продуцируемая лактобациллами H_2O_2 блокируется семенной и цервовагинальной жидкостями, что ставит под сомнение данную гипотезу [50]. Более того, бактерицидные концентрации H_2O_2 при культивировании в анаэробных условиях *in vitro* ингибируют рост самих лактобацилл гораздо сильнее, чем БВ-ассоциированных бактерий [51]. Группой австрийских исследователей было отмечено, что у 85 % беременных, родивших в срок до 37 недель гестации, в первом триместре во влагалище из лактобацилл присутствовал только *L. iners*. Тогда как среди пациенток, родивших в срок после 37 недель гестации, в первом триместре в 56 % случаев во влагалище выявляли несколько видов лактобацилл одновременно, а только *L. iners* – лишь у 16 %. Авторы сделали вывод, что присутствие во влагалище только *L. iners* в первом триместре является фактором риска преждевременных родов [56].

Некоторые исследователи объясняют частое выявление *L. iners* при патологии

влагалища сниженными протективными свойствами данного вида [71]. Однако есть и альтернативное объяснение – *L. iners* обладает большим, в сравнении с другими лактобациллами, адаптивным потенциалом [44, 45], что позволяет данному виду выживать в присутствии высоких количеств других микроорганизмов. В то же время эти два объяснения не являются взаимоисключающими. Вполне возможно, что в реальности отдельные виды лактобацилл обладают разными протективными и адаптивными потенциалами.

У каждой пациентки во влагалище может одновременно присутствовать несколько видов лактобацилл [5, 7]. Чтобы определить доминирующий вид в таком случае необходимо рассчитывать удельный вес каждого вида лактобацилл. Как правило, доминирующий вид составляет более 50 % от общего количества лактобацилл. При этом было отмечено, что вероятность доминирования отдельных видов отличается в зависимости от состояния микробиоценоза. Так *L. crispatus* с высокой долей вероятности доминирует если лактобациллы преобладают в микробиоценозе, а *L. jensenii* и *L. gasseri* чаще доминируют при наличии повышенных количеств УПМ. Тогда как вид *L. iners* может доминировать при любых состояниях микробиоценоза, а при выраженных дисбиотических процессах, когда количества УПМ в разы или в десятки раз превышают количества лактобацилл, *L. iners* остается единственным детектируемым представителем лактофлоры [7].

Таким образом, доминирующий вид лактобацилл может служить дополнительным показателем стабильности микробиоценоза: доминирование *L. crispatus* является благоприятным прогностическим фактором, тогда как доминирование других видов, пожалуй, стоит расценивать как менее благоприятный в прогностическом плане показатель.

ГЛАВА 2. МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ОЦЕНКИ ВАГИНАЛЬНОЙ МИКРОБИОТЫ

На сегодняшний день для оценки вагинальной микробиоты в клинической практике можно использовать несколько подходов. В качестве исследуемого материала используют вагинальное отделяемое, из которого либо готовят мазки для микроскопического исследования, либо делают посевы на бактериологические питательные среды, либо выделяют нуклеиновые кислоты для постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР). Стоит отметить, что каждый из представленных методов имеет как ряд преимуществ, так и ряд ограничений.

2.1. Микроскопический метод

Микроскопический метод традиционно является самым доступным и дешевым методом оценки состояния вагинальной микрофлоры.

При микроскопии учитывают следующие показатели:

- характер вагинального эпителия – принадлежность к поверхностному, промежуточному или парабазальному слоям, его количество, определяемое в количестве эпителиальных клеток в поле зрения микроскопа;
- наличие лейкоцитарной реакции (количество лейкоцитов в поле зрения);
- общую микробную обсемененность (скудная, умеренная, большая, массивная), морфологический состав микрофлоры и приблизительное количественное соотношение микробных морфотипов, наличие нитей псевдомицелия и бластоспор дрожжеподобных грибов, трихомонад;
- наличие «ключевых клеток» (клеток поверхностных слоев эпителия с адгезированными на них в массивном количестве бактериями, по морфологии сходных с гарднереллами, бактероидами или вибрионоподобными формами).

Микроскопия является практически единственным методом лабораторной диагностики, позволяющим оценить интенсивность воспалительной реакции во влагалище. У клинически здоровой женщины количество полиморфно-ядерных лейкоцитов не превышает 10 штук в поле зрения. В то же время данный показатель может значительно варьировать в зависимости от техники взятия и нанесения на стекло вагинального отделяемого. В связи с отсутствием четких норм содержания лейкоцитов в вагинальном отделяемом более информативным следует считать определение индекса воспаления (ИВ) – соотношения лейкоцитов к клеткам вагинального эпителия, который у большинства здоровых женщин составляет менее 1 [13].

Современная микроскопия позволяет выявить до 10 морфотипов микроорганизмов, обитающих во влагалище, включая *Lactobacillus spp., Gardnerella vaginalis, Bacteroides spp., Mobiluncus spp., Leptotrichia spp., Fusobacterium spp., Veillonella spp., Candida spp.*, грамположительные и грамотрицательные кокки, грамотрицательные палочки.

В 2001 году Кира Е. Ф. предложил оригинальную классификацию микробиоценоза влагалища по результатам микроскопического исследования [8].

1. Нормоценоз, характеризующийся доминированием лактобацилл, отсутствием грамотрицательной микрофлоры, бластоспор и псевдомицелия дрожжеподобных грибов, наличием единичных лейкоцитов и «чистых» эпителиальных клеток, соответствующих фазе менструального цикла.

2. Промежуточный тип характеризуется умеренным или сниженным количеством лактобацилл, наличием кокков. Обнаруживаются лейкоциты, макрофаги, эпителиальные клетки. Является пограничным типом, часто наблюдается у здоровых женщин, редко сопровождается субъективными жалобами и клиническими проявлениями.

3. Дисбиоз влагалища, выражающийся в незначительном количестве или полном отсутствии лактобацилл, обильной полиморфной грамотрицательной и грамположительной палочковой и кокковой микрофлорой; наличием «ключевых клеток». Количество лейкоцитов вариабельно, отмечается отсутствие или незавершенность фагоцитоза.

4. Вагинит (воспалительный тип мазка) – полимикробная картина мазка с большим количеством лейкоцитов, макрофагов, эпителиальных клеток, отмечается выраженный фагоцитоз. При обнаружении гонококков, трихомонад, бластоспор или псевдомицелия дрожжеподобных грибов выставляется соответствующий этиологический диагноз. В случае отсутствия этиологически значимых микроорганизмов при таком варианте микроскопической картины пациенткам ставят диагноз неспецифического вагинита.

Микроскопический метод имеет ряд ограничений. При микроскопии невозможно идентифицировать ряд значимых в патологии возбудителей, что обусловлено либо их малыми размерами (*Chlamydia trachomatis*), либо отсутствием клеточной стенки (*Mycoplasma spp.* и *Ureaplasma spp.*) или выраженной полиморфностью (*Atopobium vaginae*).

Чувствительность микроскопического исследования в диагностике БВ (выявление «ключевых клеток») составляет от 40 до 90 %, специфичность – около 80 % [61].

Микроскопические исследования наряду с быстротой установления диагноза, относительной простотой и дешевизной страдают субъективизмом, повышенными

требованиями к взятию, транспортировке материала и приготовлению мазков, что в свою очередь, требует высоких квалификации и опыта как врача-клинициста, так и врача-лаборанта [61].

2.2. Культуральный (бактериологический) метод

Культивирование клеток представляет собой процесс, посредством которого отдельные клетки (или единственная клетка) прокариот или эукариот искусственно выращиваются в контролируемых условиях *in vitro*.

Бактериологический (или культуральный) метод по прежнему остается «золотым» стандартом в диагностике многих инфекционных заболеваний, так как позволяет не только выделить патогенные микроорганизмы из материала от больного, но и провести их идентификацию до вида (штамма), оценить их приблизительное количество и определить чувствительность к антимикробным средствам. Данный метод возможно использовать и для оценки вагинальной микрофлоры.

Проведение микробиологического анализа предусматривает определение видового и количественного состава бактериальной микрофлоры влагалища. В большинстве лабораторий формат выдачи результатов бактериологического исследования подразумевает точность 1–2 lg, т.е. «разброс» данных в 10–100 раз, что не позволяет правильно оценить количественные взаимоотношения микроорганизмов.

Основным преимуществом бактериологического метода является возможность определения чувствительности к антибактериальным препаратам микроорганизмов, потенциально имеющих клиническое значение.

В то же время следует помнить, что в соответствии с современными представлениями о составе вагинальной микрофлоры часть репродуктивно значимых облигатных патогенов (*Chlamydia trachomatis, Mycoplasma genitalium*) и большинство условно-патогенных микроорганизмов, населяющих влагалище, относятся к трудно культивируемым или некультивируемым, в том числе, *A. vaginae* и условно-патогенные микоплазмы. В результате при бактериологическом исследовании удается выявить меньшую часть репродуктивно значимых микроорганизмов, преимущественно представителей семейств *Streptococcaceae, Staphylococcaceae* и *Enterobacteriaceae*, что приводит к искажению результатов исследования и снижает его ценность для клинициста.

Дополнительные сложности создают потери жизнеспособности микроорганизмов на этапе хранения и транспортировки материала в лабораторию. Использование же транспортных сред может изменять количественные соотношения между микроорганизмами, входящими в состав вагинальной микробиоты.

Необходимо также отметить, что метод взятия биоматериала из влагалища, уретры или цервикального канала, обычно используемый в клинической практике, не является количественным. Таким образом, бактериологическая лаборатория не имеет возможности проводить количественную оценку выявленных микроорганизмов. В ряде случаев производится полуколичественная оценка роста микроорганизмов путем рассева на сектора чашки Петри с помощью петли [9]. Однако для получения достоверной количественной оценки необходимо взятие биоматериала калиброванной петлей.

Чувствительность культурального метода исследования в диагностике БВ составляет 25-60 %, специфичность – около 90 % [61].

Культуральный метод исследования достаточно трудоемок и продолжителен по времени (до 7–10 дней), требует высокой квалификации врачей-бактериологов и строгого методического подхода к организации лаборатории, хранению и транспортировке биоматериала.

2.3. Качественная полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Появление ПЦР позволило существенно расширить спектр определяемых во влагалище микроорганизмов. Данный метод позволяет выявить и накопить (амплифицировать) нуклеиновую кислоту микроорганизма без его выделения, что позволяет идентифицировать микроорганизмы, которые не могут быть культивированы в лабораторных условиях. Однако ПЦР в качественном варианте дает ответ на вопрос, присутствует или нет у данного пациента определенный микроорганизм. Этого достаточно при выявлении микроорганизмов в стерильных биологических жидкостях (моча, кровь, ликвор) или для обнаружения облигатно-патогенных микроорганизмов. Так, применение качественной ПЦР абсолютно оправдано для значимых облигатных патогенов [14].

Выявление условно-патогенных микроорганизмов, обитающих во влагалище, с помощью качественной ПЦР нецелесообразно. Исследования последних лет показали возможность присутствия в составе нормального микробиоценоза влагалища клинически здоровых женщин множества различных условно-патогенных микроорганизмов [32, 57, 76, 77]. Накапливаются данные о значении в вагинальной патологии полимикробных ассоциаций с различной степенью этиологической значимости ассоциантов [43]. Для оценки этиологической роли того или иного микроорганизма необходимо учитывать количество микробных клеток и его долю в общей бактериальной массе (ОБМ).

2.4. Количественная ПЦР – ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени (ПЦР-РВ)

Определение количества микробных клеток в пробе стало возможным благодаря появлению ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени – real-time PCR (ПЦР-РВ). Этот метод позволяет с высокой точностью не только выявить большинство участников вагинального микробиоценоза, но и определить их абсолютное количество. Таким образом, впервые появилась возможность расчета количества конкретного микроорганизма относительно суммы всех выделенных, что позволяет комплексно оценить состояние микробиоценоза и более точно определить этиологическую роль условно-патогенного агента в возникновении патологии у данного пациента.

ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени отличается от традиционного бактериологического исследования тем, что не требует особых условий по транспортировке и хранению биоматериала (причем без потери качества проводимого исследования), обладает высокой аналитической чувствительностью и специфичностью. Кроме того, длительность исследования гораздо ниже, чем у культурального метода – анализ проводится в течение рабочего дня, что дает возможность в максимально короткие сроки решить вопрос о начале проведения и объеме предполагаемой терапии.

На сегодняшний день имеется доступный отечественный набор реагентов для комплексной оценки вагинальной микробиоты методом ПЦР-РВ («Фемофлор» производства ДНК-технологии), а также разработаны критерии интерпретации полученных результатов [3], что позволяет реализовывать данный метод в клинической практике.

В зависимости от количества лактобацилл и условно-патогенных микроорганизмов выделяют четыре группы вагинального микробиоценоза – абсолютный нормоценоз, условный нормоценоз, умеренный дисбиоз и выраженный дисбиоз (рисунок 2.1). Микробиоценоз влагалища оценивают как абсолютный нормоценоз в случаях, когда лактобациллы составляют более 80 % ОБМ, а количество микроорганизмов-ассоциантов (*Mycoplasma spp., Ureaplasma spp., Candida spp.*) при этом составляет менее 10^4 геном-эквивалентов в 1 мл – ГЭ/мл (далее все количества микроорганизмов указаны в этих единицах), если же количество ассоциантов превышает указанный порог, то такой вариант микробиоценоза расценивают как условный нормоценоз. В случаях, когда доля лактобацилл составляет 20-80 % от ОБМ, микробиоценоз расценивали как умеренный дисбиоз. Если доля лактобацилл не превышает 20 % от ОБМ, микробиоценоз расценивают как выраженный дисбиоз.

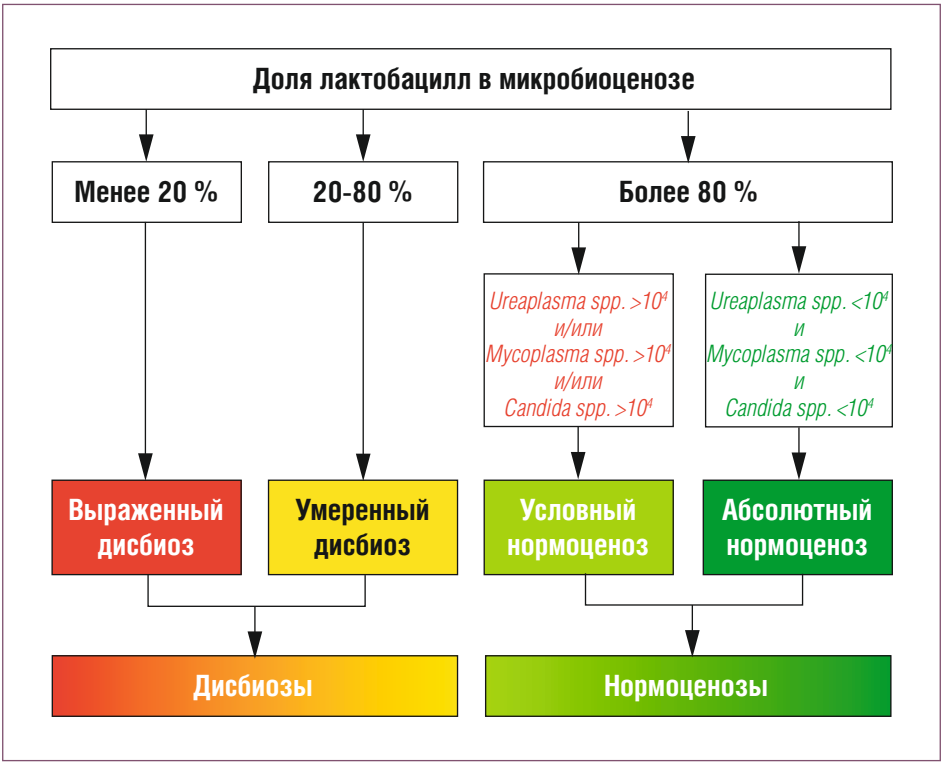


Рисунок 2.1. Алгоритм формирования заключения по состоянию микробиоценоза влагалища после исследования вагинального отделяемого набором Фемофлор-16.

ГЛАВА 3. ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЦЕНОЗА ВЛАГАЛИЩА ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Микробиоценоз влагалища – это сложная экосистема, способная изменяться в результате воздействия как факторов макроорганизма, так и факторов окружающей среды. Во время беременности в организме женщины происходят различные физиологические сдвиги, что сказывается на вагинальном микробиоценозе.

3.1. Качественный и количественный состав вагинальной микробиоты у клинически здоровых женщин в зависимости от срока гестации [2]

У клинически здоровых беременных в отсутствие жалоб и признаков, характерных для патологии влагалища, при отсутствии облигатно патогенных возбудителей ИППП (*Chlamydia trachomatis, Trichomonas vaginalis, Neisseria gonorrhoeae, Mycoplasma genitalium*) вагинальная микробиота в большинстве случаев соответствует критериям нормоценоза.

Во всех триместрах беременности критериям нормоценоза соответствует состояние вагинальной микробиоты примерно 80 % женщин. Однако в III триместре несколько чаще фиксируют абсолютный нормоценоз: доля женщин с абсолютным нормоценозом в III триместре составляет 55 %, что в среднем на 10 % превышает аналогичный показатель у беременных в I и II триместрах. Соответственно к III триместру снижается количество беременных с условным нормоценозом, что обусловлено уменьшением содержания *Ureaplasma spp.* в вагинальном отделяемом.

Общая бактериальная масса (ОБМ) у беременных с абсолютным нормоценозом незначительно ниже во II и III триместрах за счет снижения всех групп аэробных и анаэробных условно-патогенных бактерий. Достоверно ниже в III триместре по сравнению с I триместром абсолютное содержание ряда анаэробов: *Eubacterium spp., Megasphaera spp., Peptostreptococcus spp.* Абсолютное количество лактобацилл при этом остается на одном уровне. Таким образом, доля лактофлоры в составе микробиоценоза у беременных с абсолютным нормоценозом увеличивается к концу беременности.

Условный нормоценоз у беременных в I и II триместрах может быть обусловлен увеличением абсолютного количества *Ureaplasma spp.* или *Candida spp.*, а примерно треть условных нормоценозов, характеризуется повышенными количествами сразу обоих микроорганизмов. В III триместре условные нормоценозы чаще ассоциированы с *Ureaplasma spp.*

Дисбиозы выявляются примерно у каждой пятой беременной в независимости от срока гестации. Однако более высокую частоту выявления выраженного дисбиоза отмечают среди беременных в I триместре. Снижение доли выраженных дисбиозов на более поздних сроках гестации согласуется с предыдущим наблюдением о снижении количества условно-патогенных микроорганизмов по мере развития беременности. Примечательно также и то, что в I и II триместрах выраженный дисбиоз практически исключительно обусловлен облигатно анаэробными бактериями, тогда как в III триместре в формировании половины выраженных дисбиозов принимает участие факультативно-анаэробная флора.

3.2. Динамика вагинального микробиоценоза в течение беременности [2]

В настоящее время существуют две диаметрально противоположные точки зрения на микробиоценоз беременных женщин и изменение количественного и качественного состава микробиоты на протяжении беременности. Ряд авторов утверждают, что микрофлора влагалища у беременных очень неустойчива к различным эндогенным и экзогенным воздействиям и в период беременности претерпевает существенные изменения [1]. Другие авторы, напротив, говорят о том, что микробиоценоз влагалища – сложная, многокомпонентная система, обладающая такими свойствами, как устойчивость и восстановление [40]. Формирование экосистемы «макроорганизм – микроорганизм» происходит через процесс сукцессии, т.е. последовательной смены одних микроорганизмов в микробиоценозе другими видами с образованием устойчивого и стабильного микробного сообщества [12].

Тем не менее, многие авторы однозначно утверждают, что различные дисбиотические нарушения биотопа влагалища в период беременности негативно влияют не только на состояние матери, но и на здоровье новорожденного.

Варианты микробиоценоза с высоким содержанием (более 80 %) лактофлоры, а именно абсолютный и условный нормоценозы, представляют собой достаточно устойчивую систему, на которую внешние воздействия, в том числе и лекарственная терапия, не оказывают выраженного влияния: в течение беременности у большинства женщин не наблюдается существенных изменений в составе вагинальной микробиоты.

У беременных с абсолютным нормоценозом в I триместре данное состояние микробиоценоза сохраняется до конца беременности более чем в 80 % случаев. Колебания доли нормофлоры в составе микробиоценоза у женщин данной группы незначительны (до 10 %). Таким образом, наличие абсолютного нормоценоза в I триместре является хорошим прогностическим признаком, указывающим на высокую вероятность сохранения этого состояния на протяжении всей беременности.

У беременных с условным нормоценозом данное состояние сохраняется до конца беременности в половине случаев, несмотря на попытки санации уреаплазменной инфекции во II триместре с помощью джозамицина или назначения пимафуцина при наличии клинических и лабораторных признаков вагинального кандидоза. Условный нормоценоз сменяется к III триместру на абсолютный нормоценоз лишь у трети беременных, а почти у 20 % беременных наблюдается снижение доли лактофлоры и развитие дисбиоза.

Беременным с выявленными дисбиотическими нарушениями (умеренный или выраженный дисбиоз) коррекцию микробиоценоза можно проводить с помощью нескольких подходов, одним из которых является применение пробиотических препаратов. Также предложен к использованию препарат аскорбиновой кислоты (Вагинорм-С), модифицирующий вагинальную среду, и как заявляет производитель, тем самым способствующий восстановлению популяции лактобацилл.

Применение данных подходов у женщин с умеренным дисбиозом позволяет добиться нормоценоза к III триместру у половины пациенток, в том числе у каждой пятой – абсолютного нормоценоза. У беременных с выраженным дисбиозом нормоценоза удается достичь в двух третях случаев, в том числе у половины – абсолютного нормоценоза.

ГЛАВА 4. ДИСБИОЗ ВАГИНАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ И ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

4.1. Определение термина дисбиоз. Лабораторные критерии умеренного и выраженного дисбиоза

Дисбиозом называют состояние, характеризующееся нарушением качественного и количественного состава микробиоты. Существуют дисбиозы различных локализаций: кишечника, полости рта, влагалища. Лабораторными критериями дисбиоза влагалища являются снижение доли лактобацилл менее 80 % от ОБМ и увеличение доли условно-патогенных микроорганизмов[3].

При этом выделяют две степени дисбиотических нарушений: умеренный дисбиоз, при котором доля лактобацилл находится в диапазоне 20-80 % от ОБМ, и выраженный дисбиоз – состояние, характеризующееся долей лактобацилл менее 20 % от ОБМ. В зависимости от состава условно-патогенной микрофлоры выделяют аэробные, анаэробные и смешанные аэробно-анаэробные дисбиозы.

Таким образом, если доля лактобацилл составляет менее 80 % от ОБМ, то данный микробиоценоз классифицируют как дисбиоз. Если при этом доля аэробных или анаэробных УПМ превышает отметку в 10 % от ОБМ, то дисбиоз интерпретируют как аэробный или анаэробный, соответственно. Если же и аэробные, и анаэробные УПМ присутствуют в количестве более 10 %, то дисбиоз называют смешанным аэробно-анаэробным. При этом в зависимости от степени снижения количества лактобацилл выделяют два варианта дисбиоза: умеренный и выраженный.

4.2. Особенности дисбиоза влагалища во время беременности [2]

При обследовании беременных в I триместре дисбиотические нарушения по данным ПЦР-РВ выявляют примерно у каждой пятой пациентки. Частота выявления дисбиотических нарушений среди беременных сопоставима в I, II и III триместрах, однако по мере увеличения срока беременности отмечается снижение вероятности выявления выраженного дисбиоза.

В I и II триместрах в структуре выраженных дисбиозов доминирует анаэробный дисбиоз, реже – смешанный аэробно-анаэробный дисбиоз и еще реже выявляется аэробный дисбиоз. То есть, в формировании большинства выраженных дисбиозов в I и II триместрах принимают участие облигатно анаэробные микроорганизмы, трудно культивируемые или совсем некультивируемые в лабораторных условиях.

Поэтому применение культуральных методов для диагностики дисбиотических состояний влагалища нецелесообразно, особенно в I и II триместрах.

Структура выраженных дисбиозов у беременных в III триместре отличается от таковой в I и II триместрах. У данной группы пациенток возрастает роль факультативно-анаэробной флоры, которая участвует в формировании каждого второго дисбиоза.

При выраженном дисбиозе среди анаэробов в I триместре в наибольших количествах выявляются бактерии группы *G. vaginalis/ Prevotella bivia/ Porphyromonas spp.* (группа GPP) в ассоциации с *Eubacterium spp.* и *A. vaginae*. Следует отметить, что A. vaginae участвует в формировании почти половины случаев выраженного дисбиоза. В меньших количествах выявляют *Lachnobacterium spp., Peptostreptococcus spp, Mobiluncus spp.* Другие анаэробные микроорганизмы также присутствуют, но в еще меньших количествах.

Во II триместре в максимальных количествах обнаруживают бактерии группы GPP и *Eubacterium spp*., количество же *A. vaginae* ниже, чем I триместре. Абсолютные количества других анаэробов также снижаются в сравнении с аналогичными показателями в I триместре; в количестве более 10^4/мл обнаруживают только *Peptostreptococcus spp.* В III триместре еще больше снижается количество всех анаэробных микроорганизмов за исключением группы GPP.

У женщин с выраженным дисбиозом наивысшие количества *Ureaplasma spp.* отмечаются во II и III триместрах беременности, количество Candida spp. остается на одном уровне в течение всей беременности. В III триместре увеличивается по сравнению с I триместром абсолютное количество *Streptococcus spp. и Staphylococcus spp*., в то время как количество бактерий семейства Enterobacteriaceae к III триместру снижается.

Таким образом, при выраженном дисбиозе у беременных вне зависимости от срока гестации преобладают бактерии группы GPP. В I триместре значимый вклад в формирование выраженного дисбиоза вносит *A. vaginae*. К концу беременности на фоне уменьшения количества всех облигатных анаэробов возрастает значение факультативно-анаэробных микроорганизмов, особенно *Streptococcus spp*.

Умеренный дисбиоз реже всего выявляется у беременных в I триместре (менее 10 % случаев). Во II и III триместрах доля таких женщин несколько увеличивается, однако по-прежнему составляет около 10 %. Стоит отметить, что среди беременных во II и III триместрах, в то время как доля пациенток с умеренным дисбиозом увеличивается, доля беременных с выраженным дисбиозом, наоборот, снижается по мере увеличения срока гестации.

При анализе количественной структуры микробиоценоза влагалища, соответствующего критериям умеренного дисбиоза, отмечается увеличение ОБМ во II и III триместрах по сравнению с I триместром. Одновременно увеличивается и количество лактофлоры. Среди облигатных анаэробов наибольшее значение имеют бактерии группы GPP и *Eubacterium spp*., причем во II и III триместрах количество *Eubacterium spp.* увеличивается и к концу беременности в 10 раз превышает количество бактерий группы GPP. В III триместре увеличивается также количество *Peptostreptococcus spp.* и *Sneathia spp.*

Подводя итог, можно сказать, что в течение физиологически протекающей беременности имеет место тенденция незначительного снижения ОБМ преимущественно за счет уменьшения абсолютного содержания всех групп факультативно-анаэробных и облигатно-анаэробных бактерий. В то же время абсолютное количество лактофлоры у большинства женщин остается неизменным, что обеспечивает рост ее доли в составе микробиоценоза влагалища. Этим можно объяснить несколько меньшую частоту выявления выраженных дисбиозов у беременных во II и III триместрах.

ГЛАВА 5. ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ ДИСБИОЗА ВЛАГАЛИЩА ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ

На сегодняшний день установлено, что развитие БВ – патологического состояния, в основе которого всегда лежит анаэробный дисбиоз [6] – сопряжено с формированием биопленок на слизистой влагалища, состоящих из нескольких видов микроорганизмов, прежде всего облигатных анаэробов [64, 65]. Внутри биопленки микроорганизмы менее чувствительны к внешним воздействиям, в том числе к антимикробным и антисептическим препаратам по сравнению с бактериями, существующими в дисперсном «планктонном» состоянии [24]. Этот факт может объяснять сложности лечения дисбиотических нарушений и в частности БВ. Таким образом, весьма актуальной задачей становится создание технологий, позволяющих либо подавлять рост и размножение микробов внутри биопленки, либо разрушать ее, переводя микроорганизмы в «планктонное» состояние.

Эксперименты и клинические исследования показали, что достаточно эффективным средством сенсибилизации биопленок к антимикробным агентам может быть обработка влагалища растворами лекарственных средств, кавитированных низкочастотным ультразвуком (КНУЗ). Биоакустический эффект ультразвукового воздействия проявляется в уменьшении жизнеспособности бактерий в биопленках в результате одновременного воздействия низкочастотного ультразвука и антимикробных препаратов [20].

5.1. Влияние обработки влагалища кавитированным низкочастотным ультразвуком раствором хлоргексидина на вагинальный микробиоценоз у беременных с нормоценозом и дисбиозом влагалища [4]

Обработку влагалища КНУЗ 0,05 % водным раствором хлоргексидина биглюконата (КНУЗ РХ) с целью профилактики инфекционных осложнений после внутриматочных вмешательств проводят с помощью аппарата АУЗХ-100 «ФОТЕК» (рисунок 5.1); время воздействия – 1-2 минуты, уровень ультразвуковых колебаний – 50 единиц, объем используемого раствора – 150-200 мл. [10]. Беременным с клинико-лабораторными признаками вагинита или БВ назначают от трех до пяти процедур, обработку проводят один раз в сутки. Клинически здоровым беременным, планирующим ИПБ методом вакуум-аспирации, с профилактической целью выполняют одну процедуру за 1-2 часа до манипуляции.

Рисунок 5.1. Аппарат кавитационный ультразвуковой хирургический АУЗХ-100-«ФОТЕК»

Эффективность манипуляции можно оценить не только по наличию или отсутствию субъективных жалоб, но и по объективным лабораторным признакам. Для оценки интенсивности воспалительного процесса во влагалище применяют микроскопию вагинального отделяемого. Однако возможности микроскопического исследования для изучения вагинальной микрофлоры ограничены, так как большинство значимых в патологии микроорганизмов невозможно идентифицировать по морфологическим признакам. В связи с этим в ряде случаев целесообразно для оценки микробиологической эффективности коррекции вагинального дисбиоза привлечение метода ПЦР-РВ.

Обработка влагалища КНУЗ РХ снижает интенсивность воспалительной реакции; полного исчезновения микроскопических признаков воспаления удается добиться примерно у 70 % пациенток [11].

Количественный состав микробиоценоза влагалища также изменяется после обработки КНУЗ РХ. При нормоценозах отмечается умеренное снижение ОБМ, которая представлена лактобациллами. Доля лактофлоры при этом существенно не изменяется. При дисбиозах снижается общая бактериальная масса и количество лактобацилл. Однако снижение количества лактобацилл менее интенсивное, чем снижение ОБМ. По всей видимости биопленки, состоящие из УПМ, более восприимчивы к данному воздействию, чем биопленки лактофлоры. В конечном итоге вследствие умеренного снижения количества лактобацилл и более выраженного снижения количеств УПМ наблюдается увеличение относительной доли лактофлоры в микробиоценозе [4, 11].

Видовой состав лактофлоры при этом не претерпевает значительных изменений: все присутствующие до обработки в микробиоценозе виды лактобацилл остаются и после нее. Доминирующий вид лактобацилл изменяется только у четверти пациенток, но всегда на уже присутствовавший ранее в микробиоценозе вид. При этом не происходит полной элиминации прежнего доминирующего вида.

Таким образом, обработка влагалища КНУЗ РХ не оказывает негативного влия-

ния на лактофлору влагалища, что оправдывает применение данного подхода в целях лечения инфекционно-воспалительной патологии влагалища или профилактики инфекционных осложнений после внутриматочных вмешательств.

5.2. Необходимость дотации лактофлоры после обработки влагалища кавитированным низкочастотным ультразвуком раствором хлоргексидина у беременных с дисбиозом влагалища

Ключевым показателем нормального микробиоценоза влагалища (нормоценоза) является доля *Lactobacillus spp.* в составе вагинальной микробиоты. У пациенток с дисбиозом доля лактобацилл снижена. Сложность коррекции дисбиотических состояний у беременных отягощается ограниченностью или полным отсутствием возможности применения антимикробных препаратов. Тот факт, что обработка КНУЗ РХ приводит к снижению количества УПМ и повышению доли лактобацилл [4, 11], позволяет применять данный подход для коррекции дисбиоза влагалища без применения антимикробных препаратов.

Положительная динамика состояния вагинального микробиоценоза после обработки КНУЗ РХ отмечается у большинства беременных с дисбиозом. Однако не у всех пациенток удается достигнуть целевого уровня лактобацилл в 80-100 % от ОБМ. Эффективность коррекции зависит от начального состояния микробиоценоза: у пациенток с умеренным дисбиозом после курса орошений удается достичь нормоценоза более чем в половине случаев, тогда как у пациенток с выраженным дисбиозом – менее чем в 20 % случаев [11].

Таким образом, курс орошений влагалища КНУЗ РХ у пациенток с дисбиозом следует рассматривать как первый этап лечения. Для достижения нормоценоза (доля лактофлоры не менее 80 % от ОБМ) необходим второй этап коррекции – дотация лактофлоры.

5.3. Эффективность применения двухэтапной схемы коррекции дисбиоза влагалища с помощью обработки влагалища кавитированным низкочастотным ультразвуком раствором хлоргексидина и последующего приема перорального пробиотического препарата, содержащего живые L. crispatus [11]

Впервые пробиотики для коррекции микрофлоры влагалища были применены в 1928 году. Добавление сывороточного бульона с культурой *L. acidophilus* останавливало размножение *N. gonorrhoeae in vitro* и *in vivo*. Применение штаммов

L. fermentum и *L. rhamnosus* при урогенитальных инфекциях не принесло ощутимых результатов. Возможно, это связано с тем, что данные виды в норме мало представлены во влагалище [58]. Наиболее привлекательным кандидатом для пробиотических препаратов является вид *L. crispatus*, который часто выявляется во влагалище здоровых женщин [19. 76], и наоборот, крайне редко – у пациенток с БВ [16, 32, 62, 69, 74]. Показано, что данный вид обладает повышенной способностью персистировать во влагалище, а пробиотические штаммы *L. crispatus*, в частности CTV-05, обладают высокой способностью прикрепляться к вагинальному эпителию *in vitro* [39].

В России в настоящее время зарегистрирован единственный пробиотический препарат на основе *L. crispatus* – биологически активная добавка Экофемин Флораваг (ЭФ). В состав препарата входят живые лактобациллы трех видов, в том числе штамм *L. crispatus* LMG 9479. Препарат предназначен для перорального приема, что обеспечивает восстановление микрофлоры как репродуктивного, так и желудочно-кишечного тракта. Ранее была продемонстрирована высокая эффективность перорального применение пробиотиков, содержащих лактобациллы [21], и для двух штаммов лактобацилл (*L. rhamnosus* GR-1 и *L. fermentum* RC-1) доказана возможность колонизации влагалища путем транслокации из ампулы прямой кишки [58]. Данный способ введения является физиологичным, так как в онтогенезе заселение влагалища микрофлорой происходит аналогичным механизмом. Ампула прямой кишки является резервуаром как лактобацилл, так и условно-патогенных микроорганизмов, способных вызывать инфекционную патологию репродуктивного тракта и мочевыводящих путей у женщины [56]. Кроме того пероральный прием препарата повышает приверженность лечению у пациенток.

Применение двухэтапной схемы коррекции дисбиоза влагалища с помощью обработки влагалища КНУЗ РХ и последующего приема перорального пробиотического препарата, содержащего живые *L. crispatus*, позволяет достичь нормоценоза примерно у 65 % пациенток с умеренным дисбиозом и у 40 % пациенток с выраженным дисбиозом [11]. В целом увеличение доли лактофлоры отмечается у 75 % пациенток с умеренным дисбиозом и у 70 % пациенток с выраженным дисбиозом.

Субъективные и объективные клинические признаки патологии влагалища выявляются в 2 раза реже после курса коррекции с помощью КНУЗ РХ и приема пробиотического препарата ЭФ [11].

ПРИЛОЖЕНИЕ 1.

СХЕМЫ ПРИМЕНЕНИЯ КНУЗ РХ И ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА, СОДЕРЖАЩЕГО ЖИВЫХ L. CRISPATUS, ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ И ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ДИСБИОЗА ВЛАГАЛИЩА

Применение КНУЗ РХ и пробиотического препарата для профилактики инфекционно-воспалительных осложнений при внутриматочных вмешательствах.

Область применения:

1. Хирургический аборт
2. Гистероскопия
3. Вакуумаспирация эндометрия
4. Гистеросальпингография

Исходное состояние микробиоценоза влагалища	**Схема применения КНУЗ РХ**
Нормоценоз	1 обработка КНУЗ РХ за 1-2 часа до манипуляции
Дисбиоз	3 обработки КНУЗ РХ: 1 раз в сутки в течение трех дней; последняя за 1-2 часа до манипуляции. Последующая дотация лактофлоры Экофемин флораваг перорально по схеме: по 1 капсуле 2 раза в день в течение 10 дней

Применение КНУЗ РХ и пробиотического препарата для коррекции дисбиоза влагалища у беременных в I триместре

1 этап	3 обработки КНУЗ РХ: 1 раз в сутки в течение трех дней
2 этап	Дотация лактофлоры Экофемин флораваг перорально по схеме: по 1 капсуле 2 раза в день в течение 10 дней

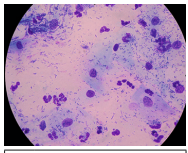
ПРИЛОЖЕНИЕ 2.

КЛИНИЧЕСКИЕ ПРИМЕРЫ. РЕЗУЛЬТАТЫ МИКРОСКОПИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВАГИНАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ И ПЦР-РВ (ТЕСТ ФЕМОФЛОР) У ПАЦИЕНТОК ПЕРЕД ВАКУУМАСПИРАЦИЕЙ

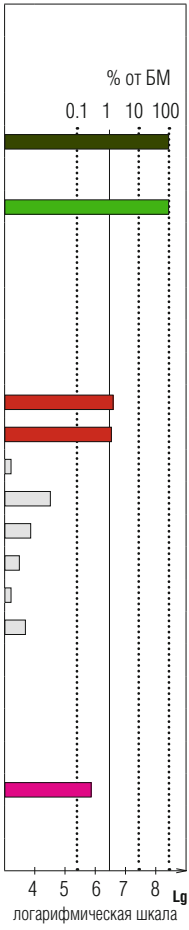
ПРИМЕР 1

Пациентка Ф., 32 года, беременность 10 недель

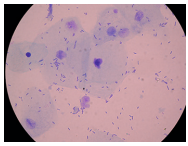
До обработки



№	Название исследования	Результаты	
		Количественный	Относительный Lg (X/БМ)
	Контроль взятия материала	$10^{5.5}$ ■	
1	Общая бактериальная масса	$10^{8.4}$ □	
	НОРМОФЛОРА		
2	Lactobacilus spp.	$10^{8.4}$	0.0 (83-100%) ■
	ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ		
3	сем. Enterobacteriaceae	не выявлено	□
4	Streptococcus spp.	не выявлено	□
5	Staphylococcus spp.	не выявлено	□
	ОБЛИГАТНО-АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ		
6	Gardnerella vaginalis+Prevotella bivia+Pophyromonas spp.	$10^{6.6}$	-1.9 (1.1-1.5%) ■
7	Eubacterium spp.	$10^{6.4}$	-2.0 (0.8-1.1%) □
8	Sneathia spp.+Leptotrichia spp.+Fusobacterium spp.	$10^{3.2}$	-5.3 (<0.1%) □
9	Megasphaera spp.+Veilonella spp.+Dialister spp.	$10^{4.4}$	-4.1 (<0.1%) □
10	Lachnobacterium spp.+Clostridium spp.	$10^{3.7}$	-4.8 (<0.1%) □
11	Mobiluncus spp.+Corynebacterium spp.	$10^{3.3}$	-5.2 (<0.1%) □
12	Peptostreptococcus spp.	$10^{3.2}$	-5.3 (<0.1%) □
13	Atopobium vaginae	$10^{3.5}$	-5.0 (<0.1%) □
	ДРОЖЖЕПОДОБНЫЕ ГРИБЫ		
14	Candida spp.*	не выявлено □	
	МИКОПЛАЗМЫ		
15	Mycoplasma hominis*	$10^{1.3}$ ■	1.3 (<0.1%)
16	Ureaplasma (urealyticum+parvum)*	$10^{5.7}$ ■	5.7 (0.2-0.2%)
	ПАТОГЕННЫЙ МИКРООРГАНИЗМЫ		
17	Mycoplasma genitalium**	не выявлено □	

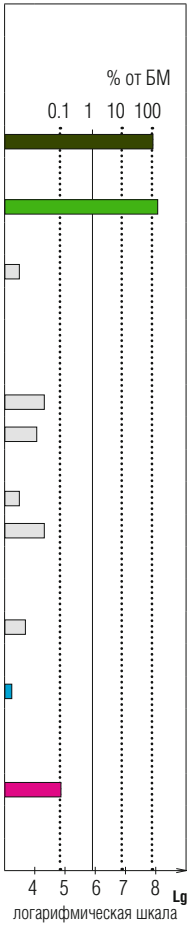


* Абсолютный анализ Lg(X)
** Качественный анализ



После обработки

№	Название исследования	Результаты	
		Количественный	Относительный Lg (X/БМ)
	Контроль взятия материала	$10^{5.1}$	
1	Общая бактериальная масса	$10^{7.9}$	
	НОРМОФЛОРА		
2	Lactobacilus spp.	$10^{8.0}$	0.0 (83-100%)
	ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ		
3	сем. Enterobacteriaceae	$10^{3.2}$	
4	Streptococcus spp.	не выявлено	
5	Staphylococcus spp.	не выявлено	
	ОБЛИГАТНО-АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ		
6	Gardnerella vaginalis+Prevotella bivia+Pophyromonas spp.	$10^{4.1}$	-3.9 (<0.1%)
7	Eubacterium spp.	$10^{3.8}$	-4.1 (<0.1%)
8	Sneathia spp.+Leptotrichia spp.+Fusobacterium spp.	не выявлено	
9	Megasphaera spp.+Veilonella spp.+Dialister spp.	$10^{3.3}$	-4.7 (<0.1%)
10	Lachnobacterium spp.+Clostridium spp.	$10^{4.1}$	-3.9 (<0.1%)
11	Mobiluncus spp.+Corynebacterium spp.	не выявлено	
12	Peptostreptococcus spp.	не выявлено	
13	Atopobium vaginae	$10^{3.6}$	-4.4 (<0.1%)
	ДРОЖЖЕПОДОБНЫЕ ГРИБЫ		
14	Candida spp.*	$10^{3.2}$	3.2 (<0.1%)
	МИКОПЛАЗМЫ		
15	Mycoplasma hominis*	$10^{1.6}$	1.6 (<0.1%)
16	Ureaplasma (urealyticum+parvum)*	$10^{4.8}$	4.8 (<0.1%)
	ПАТОГЕННЫЙ МИКРООРГАНИЗМЫ		
17	Mycoplasma genitalium**	не выявлено	



* Абсолютный анализ Lg(X)
** Качественный анализ

До обработки

Микроскопия – неспецифический вагинит

Фемофлор – условный нормоценоз, ассоциированный с *Uraplasma spp.*

После обработки

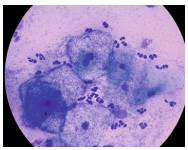
Микроскопия – нормоценоз

Фемофлор – условный нормоценоз, ассоциированный с *Uraplasma spp.*, снижение абсолютного количества групп GPP и *Eubacterium spp.* в 100 раз, *Uraplasma spp.* в 10 раз при сохранении абсолютного количества *Lactobacillus spp*.

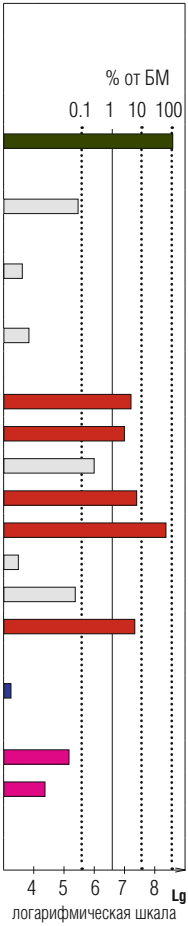
ПРИМЕР 2

Пациентка Ф., 29 лет, беременность 6 недель

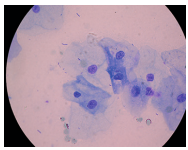
До обработки



№	Название исследования	Результаты	
		Количественный	Относительный Lg (X/БМ)
	Контроль взятия материала	$10^{4.8}$	
1	Общая бактериальная масса	$10^{8.6}$	
	НОРМОФЛОРА		
2	Lactobacilus spp.	$10^{5.5}$	-3.1 (<0.1%)
	ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ		
3	сем. Enterobacteriaceae	$10^{3.5}$	-5.1 (<0.1%)
4	Streptococcus spp.	не выявлено	
5	Staphylococcus spp.	$10^{3.6}$	-5.0 (<0.1%)
	ОБЛИГАТНО-АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ		
6	Gardnerella vaginalis+Prevotella bivia+Pophyromonas spp.	$10^{7.2}$	-1.4 (4-5%)
7	Eubacterium spp.	$10^{7.0}$	-1.6 (2.1-2.8%)
8	Sneathia spp.+Leptotrichia spp.+Fusobacterium spp.	$10^{6.0}$	-2.6 (0.2-0.3%)
9	Megasphaera spp.+Veilonella spp.+Dialister spp.	$10^{7.5}$	-1.1 (7-10%)
10	Lachnobacterium spp.+Clostridium spp.	$10^{8.5}$	-0.1 (67-91%)
11	Mobiluncus spp.+Corynebacterium spp.	$10^{3.4}$	-5.2 (<0.1%)
12	Peptostreptococcus spp.	$10^{5.3}$	-3.3 (<0.1%)
13	Atopobium vaginae	$10^{7.3}$	-1.3 (5-6%)
	ДРОЖЖЕПОДОБНЫЕ ГРИБЫ		
14	Candida spp.*	$10^{3.2}$	3.2 (<0.1%)
	МИКОПЛАЗМЫ		
15	Mycoplasma hominis*	$10^{5.0}$	5.0 (<0.1%)
16	Ureaplasma (urealyticum+parvum)*	$10^{4.3}$	4.3 (<0.1%)
	ПАТОГЕННЫЙ МИКРООРГАНИЗМЫ		
17	Mycoplasma genitalium**	не выявлено	

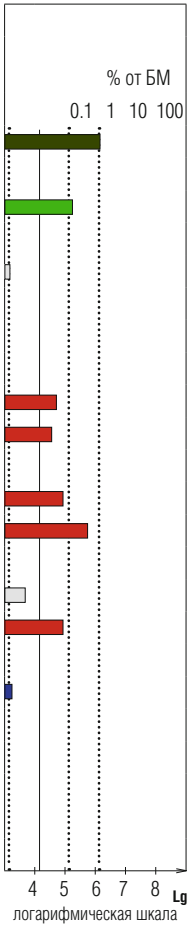


* Абсолютный анализ Lg(X)
** Качественный анализ



После обработки

№	Название исследования	Результаты	
		Количественный	Относительный Lg (X/БМ)
	Контроль взятия материала	$10^{3.8}$	
1	Общая бактериальная масса	$10^{6.1}$	
	НОРМОФЛОРА		
2	Lactobacilus spp.	$10^{5.2}$	-0.8 (14-19%)
	ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ		
3	сем. Enterobacteriaceae	$10^{3.1}$	-2.9 (0.1-0.2%)
4	Streptococcus spp.	не выявлено	
5	Staphylococcus spp.	не выявлено	
	ОБЛИГАТНО-АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ		
6	Gardnerella vaginalis+Prevotella bivia+Pophyromonas spp.	$10^{4.7}$	-1.3 (5-6%)
7	Eubacterium spp.	$10^{4.5}$	-1.5 (3-4%)
8	Sneathia spp.+Leptotrichia spp.+Fusobacterium spp.	не выявлено	
9	Megasphaera spp.+Veilonella spp.+Dialister spp.	$10^{4.9}$	-1.1 (7-10%)
10	Lachnobacterium spp.+Clostridium spp.	$10^{8.5}$	-0.2 (48-65%)
11	Mobiluncus spp.+Corynebacterium spp.	не выявлено	
12	Peptostreptococcus spp.	$10^{3.7}$	-2.3 (0.4-0.6%)
13	Atopobium vaginae	$10^{4.9}$	-1.0 (8-10%)
	ДРОЖЖЕПОДОБНЫЕ ГРИБЫ		
14	Candida spp.*	$10^{3.2}$	3.2 (0.1-0.2%)
	МИКОПЛАЗМЫ		
15	Mycoplasma hominis*	$10^{2.4}$	2.4 (<0.1%)
16	Ureaplasma (urealyticum+parvum)*	$10^{2.1}$	2.1 (<0.1%)
	ПАТОГЕННЫЙ МИКРООРГАНИЗМЫ		
17	Mycoplasma genitalium**	не выявлено	



* Абсолютный анализ Lg(X)
** Качественный анализ

До обработки

Микроскопия – дисбиотический тип мазка, «ключевые» клетки

Фемофлор – выраженный анаэробный дисбиоз, *Ureaplasma spp.*, *M. hominis* в клинически значимом количестве

После обработки

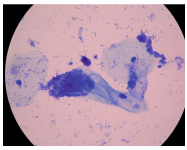
Микроскопия – промежуточный тип мазка

Фемофлор – выраженный анаэробный дисбиоз, доля лактофлоры возросла на 18 %, количество *Ureaplasma spp.*, *M.hominis* снизилось до клинически незначимых показателей

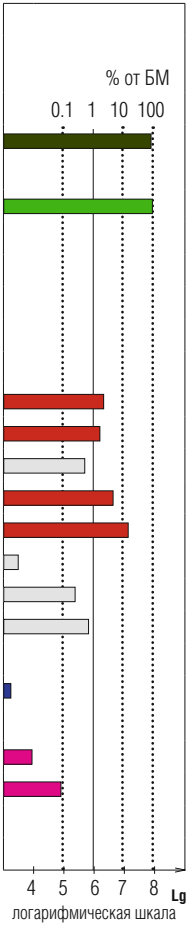
ПРИМЕР 3

Пациентка А., 23 года, беременность 8 недель

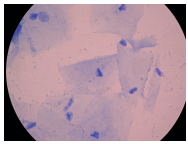
До обработки



№	Название исследования	Результаты	
		Количественный	Относительный Lg (X/БМ)
	Контроль взятия материала	$10^{5.2}$	
1	Общая бактериальная масса	$10^{7.9}$	
	НОРМОФЛОРА		
2	Lactobacilus spp.	$10^{8.0}$	-0.1 (68-93%)
	ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ		
3	сем. Enterobacteriaceae	не выявлено	
4	Streptococcus spp.	не выявлено	
5	Staphylococcus spp.	не выявлено	
	ОБЛИГАТНО-АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ		
6	Gardnerella vaginalis+Prevotella bivia+Pophyromonas spp.	$10^{6.3}$	-1.7 (1.6-2.2%)
7	Eubacterium spp.	$10^{6.3}$	-1.8 (1.3-1.8%)
8	Sneathia spp.+Leptotrichia spp.+Fusobacterium spp.	$10^{5.7}$	-2.4 (0.3-0.5%)
9	Megasphaera spp.+Veilonella spp.+Dialister spp.	$10^{6.6}$	-1.4 (3-4%)
10	Lachnobacterium spp.+Clostridium spp.	$10^{7.1}$	-1.0 (9-13%)
11	Mobiluncus spp.+Corynebacterium spp.	$10^{3.5}$	-4.5 (<0.1%)
12	Peptostreptococcus spp.	$10^{5.5}$	-2.6 (0.2-0.3%)
13	Atopobium vaginae	$10^{5.8}$	-2.3 (0.5-0.6%)
	ДРОЖЖЕПОДОБНЫЕ ГРИБЫ		
14	Candida spp.*	не выявлено	
	МИКОПЛАЗМЫ		
15	Mycoplasma hominis*	$10^{3.9}$	3.9 (<0.1%)
16	Ureaplasma (urealyticum+parvum)*	$10^{4.9}$	4.9 (<0.1%)
	ПАТОГЕННЫЙ МИКРООРГАНИЗМЫ		
17	Mycoplasma genitalium**	не выявлено	

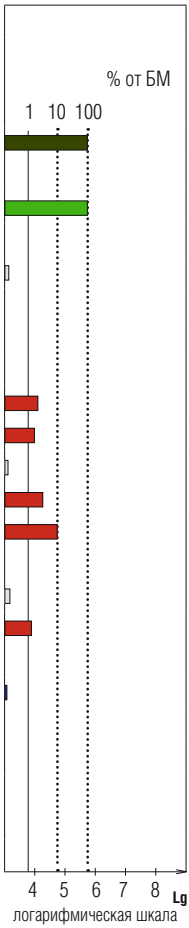


* Абсолютный анализ Lg(X)
** Качественный анализ



После обработки

№	Название исследования	Результаты	
		Количественный	Относительный Lg (X/БМ)
	Контроль взятия материала	$10^{4.0}$ ■	
1	Общая бактериальная масса	$10^{5.7}$ □	
	НОРМОФЛОРА		
2	Lactobacilus spp.	$10^{5.7}$	-0.1 (71-96%) ■
	ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ		
3	сем. Enterobacteriaceae	$10^{3.1}$	-2.6 (0.2-0.3%) □
4	Streptococcus spp.	не выявлено	□
5	Staphylococcus spp.	не выявлено	□
	ОБЛИГАТНО-АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ		
6	Gardnerella vaginalis+Prevotella bivia+Pophyromonas spp.	$10^{4.0}$	-1.7 (1.5-2.1%) □
7	Eubacterium spp.	$10^{3.9}$	-1.8 (1.2-1.6%) □
8	Sneathia spp.+Leptotrichia spp.+Fusobacterium spp.	$10^{3.1}$	-2.6 (0.2-0.3%) □
9	Megasphaera spp.+Veilonella spp.+Dialister spp.	$10^{4.1}$	-1.7 (1.8-2.5%) □
10	Lachnobacterium spp.+Clostridium spp.	$10^{4.7}$	-1.0 (8-10%) □
11	Mobiluncus spp.+Corynebacterium spp.	не выявлено	□
12	Peptostreptococcus spp.	$10^{3.1}$	-2.6 (0.2-0.3%) □
13	Atopobium vaginae	$10^{3.7}$	-2.0 (0.8-1.1%) □
	ДРОЖЖЕПОДОБНЫЕ ГРИБЫ		
14	Candida spp.*	$10^{3.1}$ ■	3.1 (0.2-0.3%)
	МИКОПЛАЗМЫ		
15	Mycoplasma hominis*	$10^{2.1}$ ■	3.9 (<0.1%)
16	Ureaplasma (urealyticum+parvum)*	$10^{2.9}$ ■	2.9 (0.1-0.1%)
	ПАТОГЕННЫЙ МИКРООРГАНИЗМЫ		
17	Mycoplasma genitalium**	не выявлено □	



* Абсолютный анализ Lg(X)
** Качественный анализ

До обработки

Микроскопия – дисбиотический тип мазка

Фемофлор – умеренный анаэробный дисбиоз *Ureaplasma spp.* в клинически значимом количестве

После обработки

Микроскопия – промежуточный тип мазка

Фемофлор – абсолютный нормоценоз

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анкирская А. С. Бактериальный вагиноз. Акушерство и гинекология. 2005; 3: 10-3.
2. Ворошилина Е. С. Совершенствование методических подходов к оценке микробиоценоза влагалища у женщин репродуктивного возраста: дис. … док. мед. наук: 02.03.02/ Ворошилина Екатерина Сергеевна, ГОУВПО «Челябинская государственная медицинская академия», Челябинск, 2012, 244 с.
3. Ворошилина Е. С., Донников А. Е., Плотко Е. Э., Тумбинская Л. В., Хаютин Л. В. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной полимеразной цепной реакции: что есть норма? Акушерство и гинекология. 2011; 1: 57-65.
4. Ворошилина Е. С., Зорников Д. Л., Плотко Е. Э. Коррекция дисбиоза влагалища кавитированным раствором хлоргексидина в первом триместре беременности: эффективность и безопасность. Журнал акушерства и женских болезней. 2014; 63 (5): 29-37.
5. Ворошилина Е. С., Зорников Д. Л., Тумбинская Л. В., Гончарова Н. Видовой состав вагинальных лактобактерий у женщин репродуктивного возраста с дисбиозом влагалища. Уральский медицинский журнал. 2011; 13 (91): 75-8.
6. Ворошилина Е. С., Тумбинская Л. В., Донников А. Е. Современные возможности диагностики бактериального вагиноза: исследование количественного и качественного состава сложных микробных сообществ. Уральский медицинский журнал. 2011; 13 (91): 70-5.
7. Зорников Д. Л., Тумбинская Л. В., Ворошилина Е. С. Взаимосвязь отдельных видов лактобацилл с суммарной долей лактофлоры в вагинальном микробиоценозе и группами условно-патогенных микроорганизмов, ассоциированными с дисбиозом влагалища. Вестник уральской медицинской академической науки. 2015; 4 (55): 99-105
8. Кира Е. Ф., Бактериальный вагиноз. Санкт-Петербург; 2001
9. Кира Е. Ф., Клиника и диагностика бактериального вагиноза. Акушерство и гинекология. 1994; 2: 32-5.
10. Обоскалова Т. А., Глухов Е. Ю., Лаврентьева И. В. Лечение воспалительных заболеваний женских половых органов с использованием лекарственных растворов, кавитированных низкочастотным ультразвуком. Екатеринбург: Vip-Ural; 2012.
11. Плотко Е. Э., Зорников Д. Л., Хаютин Л. В., Ворошилина Е. С. Дисбиоз влагалища: видовой состав лактофлоры и возможности немедикаментозной коррекции. Акушерство и гинекология. 2015; 10: 112-7.

12. Рэдклиф К. Европейские стандарты диагностики и лечения заболеваний, передаваемых половым путем. М.: Мед. литература; 2004.
13. Савичева А. М., Соколовский Е. В., Домейка М. Порядок проведения микроскопического исследования мазков из урогенитального тракта. Методические рекомендации для лечащих врачей. Санкт-Петербург: Издательство Н-Л; 2007.
14. Шипицына Е. В., Мартикайнен З. М., Воробьева Н. Е. [и др.] Применение теста Фемофлор для оценки микробиоценоза влагалища. Журнал акушерства и женских болезней. 2009; Т. LVIII (3): 44-50.
15. Antonio M. A., Hawes S. E., Hillier S. L. The identification of vaginal Lactobacillus species and the demographic and microbiologic characteristics of women colonized by these species. J Infect Dis. 1999 Dec;180 (6): 1950-6.
16. Antonio M. A., Rabe L. K., Hillier S. L. Colonization of the rectum by Lactobacillus species and decreased risk of bacterial vaginosis. J Infect Dis 2005; 192: 394-8.
17. Aroutcheva A. A., Simoes J. A., Faro S. Antimicrobial protein produced by vaginal Lactobacillus acidophilus that inhibits Gardnerella vaginalis. Infect Dis Obstet Gynecol 2001; 9: 33-9.
18. Azargoon A., Darvishzadeh S. Association of bacterial vaginosis, Trichomonas vaginalis, and vaginal acidity with outcome of pregnancy. Arch Iran Med 2006; 9: 213-7.
19. Balashov S. V., Mordechai E., Adelson M. E., Sobel J. D., Gygax S. E. Multiplex quantitative polymerase chain reaction assay for the identification and quantitation of major vaginal lactobacilli. Diagn Microbiol Infect Dis. 2014 Apr;78 (4): 321-7.
20. Bartley J., Young D. Ultrasound as a treatment for chronic rhinosinusitis. Med. Hypotheses. 2009; 73 (1): 15-17.
21. Bodean O., Munteanu O., Cirstoiu C., Secara D., Cirstoiu M. Probiotics-a helpful additional therapy for bacterial vaginosis. J Med Life. 2013; 6 (4): 434-6.
22. Boris S., Suárez J. E., Vázquez F., Barbés C. Adherence of human vaginal lactobacilli to vaginal epithelial cells and interaction with uropathogens. Infect Immun. 1998 May; 66 (5): 1985-9.
23. Breshears L., Edwards V., Ravel J., Peterson M. Lactobacillus crispatus inhibits growth of Gardnerella vaginalis and Neisseria gonorrhoeae on a porcine vaginal mucosa model. BMC Microbiology 2015, 15: 276.
24. Brooun A., Liu S., Lewis K. A dose-response study of antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa biofilms. Antimicrob Agents Chemother. 2000 Mar; 44 (3): 640-6.
25. Cherpes T. L., Hillier S. L., Meyn L. A., Busch J. L., Krohn M. A. A delicate balance: risk factors for acquisition of bacterial vaginosis include sexual activity,

absence of hydrogen peroxide-producing lactobacilli, black race, and positive herpes simplex virus type 2 serology. Sex Transm Dis 2008; 35: 78-83.
26. Doderlein A. Das scheidensekret und seine bedeutung fur puerperalfieber. Zentbl Bakteriol Microbiol Hyg Abt 1892; 11: 699.
27. Donnarumma G., Molinaro A., Cimini D., De Castro C., Valli V., De Gregorio V., De Rosa M., Schiraldi C. Lactobacillus crispatus L1: high cell density cultivation and exopolysaccharide structure characterization to highlight potentially beneficial effects against vaginal pathogens. BMC Microbiol. 2014 May 30; 14: 137.
28. Eschenbach D. A., Davick P. R., Williams B. L., Klebanoff S. J., Young-Smith K., Critchlow C. M., et al. Prevalence of hydrogen peroxide-producing Lactobacillus species in normal women and women with bacterial vaginosis. J Clin Microbiol 1989; 27: 251-6.
29. Falsen E., Pascual C., Sjoden B., Ohlen M., Collins M. D. Phenotypic and phylogenetic characterization of a novel Lactobacillus species from human sources: description of Lactobacillus iners sp. nov. Int J Syst Bacteriol 1999; 49: 217-21.
30. Fettweis J. M., Serrano M. G., Girerd P. H., Jefferson K. K., Buck G. A. A new era of the vaginal microbiome: advances using next-generation sequencing. Chem Biodivers. 2012 May; 9 (5): 965-76.
31. Fiscella K., Klebanoff M. A. Are racial differences in vaginal pH explained by vaginal flora? Am J Obstet Gynecol. 2004 Sep; 191 (3): 747-50.
32. Fredricks D. N., Fiedler T. L., Marrazzo J. M. Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis. N Engl J Med. 2005 Nov 3; 353 (18): 1899-911.
33. Fredricks D. N., Fiedler T. L., Thomas K. K., Oakley B. B., Marrazzo J. M. Targeted PCR for detection of vaginal bacteria associated with bacterial vaginosis. J. Clin Microbiol. 2007 Oct; 45 (10): 3270-6.
34. Gardner H. L., and C. D. Dukes. Haemophilus vaginalis vaginitis. A newly defined specific infection previously classified “nonspecific” vaginitis. Am. J. Obstet. Gynecol. 1955: 69962-976.
35. Graver M. A., Wade J. J. The role of acidification in the inhibition of Neisseria gonorrhoeae by vaginal lactobacilli during anaerobic growth. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2011 Feb 17; 10:8.
36. Gupta K., Stapleton A. E., Hooton T. M., Roberts P. L., Fennell C. L., Stamm W. E. Inverse association of H2O2-producing lactobacilli and vaginal Escherichia coli colonization in women with recurrent urinary tract infections. J Infect Dis. 1998 Aug; 178 (2): 446-50.
37. Haggerty C. L., Hillier S. L., Bass D. C., Ness R. B.; PID Evaluation and Clinical Health study investigators. Bacterial vaginosis and anaerobic bacteria are associ-

ated with endometritis.Clin Infect Dis. 2004 Oct 1; 39 (7): 990-5.
38. Hawes S. E., Hillier S. L., Benedetti J., Stevens C. E., Koutsky L. A., Wolner-Hanssen P, et al. Hydrogen peroxide-producing lactobacilli and acquisition of vaginal infections. J Infect Dis 1996; 174: 1058-63.
39. Hemmerling A., Harrison W., Schroeder A., Park J., Korn A., Shiboski S., Cohen C. R. Phase 1 dose-ranging safety trial of Lactobacillus crispatus CTV-05 for the prevention of bacterial vaginosis. Sex Transm Dis 2009; 36: 564-9.
40. Hill J. E., Goh S. H., Money D. M., Doyle M., Li A., Crosby W. L., Links M., Leung A., Chan D., Hemmingsen S. M. Characterization of vaginal microflora of healthy, nonpregnant women by chaperonin-60 sequence-based methods. Am J Obstet Gynecol. 2005 Sep; 193 (3 Pt 1): 682-92.
41. Johnson J. L., Phelps C. F., Cummins C. S., London J., Gasser F. Taxonomy of the Lactobacillus acidophilus Group. Int J Syst Bacteriol 1980;30:53-68.
42. Kiss H., Kögler B., Petricevic L., et al. Vaginal Lactobacillus microbiota of healthy women in the late first trimester of pregnancy. BJOG 2007; 114: 1402–7.
43. Klebanoff M. A., Schwebke J. R., Zhang J., Nansel T. R., Yu K. F., Andrews W. W. Vulvovaginal symptoms in women with bacterial vaginosis. Obstet. Gynecol. 2004; vol. 104: 267-272.
44. Macklaim J. M., Fernandes A. D., Di Bella J. M., Hammond J. A., Reid G., Gloor G. B. Comparative meta-RNA-seq of the vaginal microbiota and differential expression by Lactobacillus iners in health and dysbiosis. Microbiome. 2013 Apr 12; 1 (1): 12.
45. Macklaim J. M., Gloor G. B., Anukam K. C., Cribby S., Reid G. At the crossroads of vaginal health and disease, the genome sequence of Lactobacillus iners AB-1. Proc Natl Acad Sci USA. 2011 Mar 15; 108 Suppl 1: 4688-95.
46. Martín R., Soberón N., Escobedo S., Suárez J. E. Bacteriophage induction versus vaginal homeostasis: role of H(2)O(2) in the selection of Lactobacillus defective prophages. Int Microbiol. 2009 Jun; 12 (2): 131-6.
47. Martín R., Soberón N., Vaneechoutte M., Flórez A. B., Vázquez F., Suárez J. E. Characterization of indigenous vaginal lactobacilli from healthy women as probiotic candidates. Int Microbiol. 2008 Dec; 11 (4): 261-6.
48. Nagy E., Petterson M., Mardh P. A. Antibiosis between bacteria isolated from the vagina of women with and without signs of bacterial vaginosis. APMIS 1991; 99: 739-44.
49. Ng S. C., Hart A. L., Kamm M. A., Stagg A. J., Knight S. C. Mechanisms of action of probiotics: recent advances. Inflamm Bowel Dis 2009; 15: 300-10.
50. O'Hanlon D. E., Lanier B. R., Moench T. R., Cone R. A. Cervicovaginal fluid and semen block the microbicidal activity of hydrogen peroxide produced by vaginal lactobacilli. BMC Infect Dis. 2010 May 19;10:120.

51. O'Hanlon D. E., Moench T. R., Cone R. A. In vaginal fluid, bacteria associated with bacterial vaginosis can be suppressed with lactic acid but not hydrogen peroxide. BMC Infect Dis. 2011 Jul 19; 11: 200.
52. Osset J., Bartolomé R. M, García E., Andreu A. Assessment of the capacity of Lactobacillus to inhibit the growth of uropathogens and block their adhesion to vaginal epithelial cells. J Infect Dis. 2001 Feb 1; 183 (3): 485-91. Epub 2000 Dec 29.
53. Patterson J. L., Stull-Lane A., Girerd P. H., Jefferson K. K. Analysis of adherence, biofilm formation and cytotoxicity suggests a greater virulence potential of Gardnerella vaginalis relative to other bacterial-vaginosis-associated anaerobes. Microbiology. 2010 Feb; 156 (Pt 2): 392-9.
54. Pavlova S. I., Kiliç A. O., Mou S. M., Tao L. Phage infection in vaginal lactobacilli: an in vitro study. Infect Dis Obstet Gynecol. 1997; 5 (1): 36-44.
55. Peterson J., Garges S., Giovanni M., McInnes P., Wang L., Schloss J. A., Bonazzi V., McEwen J. E., Wetterstrand K. A., Deal C., Baker C. C., Di Francesco V., Howcroft T. K., Karp R. W., Lunsford R. D., Wellington C. R., Belachew T., Wright M., Giblin C., David H., Mills M., Salomon R., Mullins C., Akolkar B., Begg L., Davis C., Grandison L., Humble M., Khalsa J., Little A. R., Peavy H., Pontzer C., Portnoy M., Sayre M. H., Starke-Reed P., Zakhari S., Read J., Watson B., Guyer M. The NIH Human Microbiome Project. Genome Res. 2009 Dec; 19 (12): 2317-23.
56. Petricevic L., Kaufmann U., Domig K. J., Kraler M., Marschalek J., Kneifel W., et al. Rectal Lactobacillus species and their influence on the vaginal microflora: a model of male-to-female transsexual women. J Sex Med. 2014 Nov; 11 (11): 2738-43.
57. Ravel J., Gajer P., Abdo Z., Schneider G. M., Koenig S. S., McCulle S. L., Karlebach S., Gorle R., Russell J., Tacket C. O., Brotman R. M., Davis C. C., Ault K., Peralta L., Forney L. J. Vaginal microbiome of reproductive-age women. Proc Natl Acad Sci USA. 2011 Mar 15; 108 Suppl 1: 4680-7.
58. Reid G., Charbonneau D., Erb J., Kochanowski B., Beuerman D., Poehner R., et al. Oral use of Lactobacillus rhamnosus GR-1 and L. fermentum RC-14 significantly alters vaginal flora: randomized,placebo-controlled trial in 64 healthy women. FEMS Immunol Med Microbiol 2003; 35: 131-4.
59. Rodriguez J. M., Collins M. D., Sjoden B., Falsen E. Characterization of a novel Atopobium isolate from the human vagina: description of Atopobium vaginae sp. nov. Int J Syst Bacteriol 1999; 49: 1573-6.
60. Royce R. A., Jackson T. P., Thorp J. M. Jr, Hillier S. L., Rabe L. K., Pastore L. M., Savitz D. A. Race/ethnicity, vaginal flora patterns, and pH during pregnancy. Sex Transm Dis. 1999 Feb; 26 (2): 96-102.

61. Sewankambo N., Gray R. H., Wawer M. J., Paxton L., McNaim D., Wabwire-Mangen F., Serwadda D., Li C., Kiwanuka N., Hillier S. L., Rabe L., Gaydos C. A., Quinn T. C., Konde-Lule J. HIV-1 infection associated with abnormal vaginal flora morphology and bacterial vaginosis. Lancet 1997; Vol. 350 (9077): 546-550
62. Song Y. L., Kato N., Matsumiya Y., Liu C. X., Kato H., Watanabe K. Identification of and hydrogen peroxide production by fecal and vaginal lactobacilli isolated from Japanese women and newborn infants. J Clin Microbiol 1999; 37: 3062-4.
63. Spurbeck R. R., Arvidson C. G. Inhibition of Neisseria gonorrhoeae epithelial cell interactions by vaginal Lactobacillus species.Infect Immun. 2008 Jul; 76 (7): 3124-30.
64. Swidsinski A., Mendling W., Loening-Baucke V., Ladhoff A., Swidsinski S., Hale L. P., Lochs H. Adherent biofilms in bacterial vaginosis. Obstet Gynecol. 2005 Nov; 106 (5 Pt 1): 1013-23.
65. Swidsinski A., Mendling W., Loening-Baucke V., Swidsinski S., Dörffel Y., Scholze J., Lochs H., Verstraelen H. An adherent Gardnerella vaginalis biofilm persists on the vaginal epithelium after standard therapy with oral metronidazole. Am J Obstet Gynecol 2008; 198: 97.e1–6.
66. Tamrakar R., Yamada T., Furuta I., Cho K., Morikawa M., Yamada H., Sakuragi N., Minakami H. Association between Lactobacillus species and bacterial vaginosis-related bacteria, and bacterial vaginosis scores in pregnant Japanese women. BMC Infect Dis. 2007 Nov 7; 7: 128.
67. Thomas S. Doderlein's Bacillus: Lactobacillus acidophilus. J Infect Dis 1928; 43: 218-27.
68. Turovskiy Y., Ludescher R. D., Aroutcheva A. A., Faro S., Chikindas M. L. Lactocin 160, a Bacteriocin Produced by Vaginal Lactobacillus rhamnosus, Targets Cytoplasmic Membranes of the Vaginal Pathogen, Gardnerella vaginalis. Probiotics Antimicrob Proteins. 2009 Jan 20; 1 (1): 67-74.
69. Vásquez A., Jakobsson T., Ahrné S., Forsum U., Molin G. Vaginal lactobacillus flora of healthy Swedish women. J Clin Microbiol. 2002 Aug;40(8):2746-9.
70. Vera Pingitore E., Hébert E. M., Nader-Macías M. E., Sesma F. Characterization of salivaricin CRL 1328, a two-peptide bacteriocin produced by Lactobacillus salivarius CRL 1328 isolated from the human vagina. Res Microbiol. 2009 Jul-Aug; 160 (6): 401-8.
71. Verstraelen H., Verhelst R., Claeys G., De Backer E., Temmerman M., Vaneechoutte M. Longitudinal analysis of the vaginal microflora in pregnancy suggests that L. crispatus promotes the stability of the normal vaginal microflora and that L. gasseri and/or L. iners are more conducive to the occurrence of abnormal vaginal microflora. BMC Microbiol. 2009 Jun 2;9:116.

72. Vielfort K., Sjölinder H., Roos S., Jonsson H., Aro H. Adherence of clinically isolated lactobacilli to human cervical cells in competition with Neisseria gonorrhoeae. Microbes Infect. 2008 Oct; 10 (12-13): 1325-34
73. Wiesenfeld H. C., Hillier S. L., Krohn M. A., Amortegui A. J., Heine R. P., Landers D. V., Sweet R. L. Lower genital tract infection and endometritis: insight into subclinical pelvic inflammatory disease.Obstet Gynecol. 2002 Sep; 100 (3): 456-63.
74. Wilks M., Wiggins R., Whiley A., Hennessy E., Warwick S., Porter H., et al. Identification and H(2)O(2) production of vaginal lactobacilli from pregnant women at high risk of preterm birth and relation with outcome. J Clin Microbiol. 2004 Feb; 42 (2): 713-7.
75. Zárate G., Nader-Macias M. E. Influence of probiotic vaginal lactobacilli on in vitro adhesion of urogenital pathogens to vaginal epithelial cells. Lett Appl Microbiol. 2006 Aug; 43 (2): 174-80.
76. Zhou X., Bent S. J., Schneider M. G. et al. Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods. Microbiology 2004; 150: 2565-2573.
77. Zhou X., Brown C. J., Abdo Z., Davis C. C., Hansmann M. A., Joyce P., et al. Differences in the composition of vaginal microbial communities found in healthy Caucasian and black women. ISME J 2007; 1: 121-33.
78. Zozaya-Hinchliffe M., Lillis R., Martin D. H., Ferris M. J. Quantitative PCR assessments of bacterial species in women with and without bacterial vaginosis. J Clin Microbiol. 2010 May; 48 (5): 1812-9.

ПЦР в решении репродуктивных проблем

Инновационная технология* диагностики инфекционно-воспалительных заболеваний органов женской репродуктивной системы.

Фемофлор®

Выявление дисбиотических нарушений и ИППП – факторов риска преждевременных родов, ВУИ, осложнений послеродового периода – на прегравидарном этапе и при беременности.

Победитель национальной медицинской премии «Призвание», 2014

ИммуноКвантэкс

новое

Оценка локального воспаления репродуктивного тракта женщины: дифференциальная диагностика вагинитов и вагинозов.

Лауреат «Prix Galien Russia 2016 Исследование»

* – разработка и клиническая апробация технологии проводилась компанией «ДНК–Технология» и ФГБУ «НЦАГиП им. В.И. Кулакова» МЗ РФ

КВАНТ: количественное определение расширенного перечня (19 типов) ВПЧ высокого онкогенного риска – профилактика РШМ.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ – наследственные тромбофилии, дефекты ферментов фолатного цикла: оценка риска осложнений беременности и патологии плода.

НЕИНВАЗИВНАЯ ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА: определение резус-фактора и пола плода по крови матери.

ДЕЛЕЦИИ AZF-ЛОКУСА, выявление мутаций, ассоциированных с муковисцидозом: диагностика мужского бесплодия.

HLA-ТИПИРОВАНИЕ II КЛАССА: выявление иммунологического фактора бесплодия.

Исследования выполняются в медицинских лабораториях России и 23 стран мира.

ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

www.dna-technology.ru,
mail@dna-technology.ru
+7 (495) 640-17-71, 8 (800) 200-75-15

ISBN 978-5-9908683-2-8

Приобретение оборудования для широкополосной радиоволновой хирургии, аргоноплазменной аблации и низкочастотной ультразвуковой терапии ООО «ФОТЕК»

620049, Екатеринбург,
ул. Малышева, 145а, литер А,
тел./факс: +7 (343) 217-63-40
e-mail: fotek@fotek.ru
www.fotek.ru

Производится обучение на базе кафедры акушерства и гинекологии Уральского государственного медицинского университета Минздрава РФ
По вопросам обучения обращаться:

ООО «ФОТЕК»
e-mail: chesova@fotek.ru,
тел.: +7 (343) 217-63-40 доб. 133
сот.: +7 (922) 187-38-13
Чёсова Ирина