

УДК 618.15 – 022 - 008.87 - 078

ЩЕРБИНА М.О., ПЛАХОТНА І.Ю., ЩЕРБИНА І.М.

Харківський національний медичний університет,
кафедра акушерства та гінекології №1**МІКРОБІОТИЧНІ ПОРУШЕННЯ МІКРОФЛОРИ ПІХВИ
У ВАГІТНИХ З БАКТЕРІАЛЬНИМ ВАГІНОЗОМ**

Бактеріальний вагіноз (БВ) у вагітних, як прояв вагінального дисбіозу, зустрічається з частотою від 15% до 35%. Висока поширеність БВ і пов'язані з цим ускладнення, такі як мимовільні аборти, передчасні пологи, передчасне відходження навколоплідних вод, внутрішньоутробне інфікування плода, а також післяпологові гнійно-септичні ускладнення роблять його важливою проблемою для громадського здоров'я. **Мета дослідження** - вивчити стан вагінального біоценозу у вагітних з БВ, а так само з'ясувати причину неефективності лікування бактеріального вагінозу у деяких випадках. **Матеріали та методи дослідження.** Обстежено 80 вагітних з БВ. Проведено бактеріоскопічне і мікробіологічне дослідження якісного та кількісного складу бактерій піхви методом ПЛР з детекцією результатів в режимі реального часу. Бактерії з біоплівки візуалізували за допомогою флуоресцентної гібридизації *in situ*, заснованої на 16/23 S рибосомальної ДНК (рДНК). За даними результатів дослідження були виділені вагітні з помірним і вираженим дисбіозом, які були розділені на I (n = 56) і II (n = 24) клінічні групи відповідно. З метою елімінації патогенної мікрофлори і нормалізації стану слизової оболонки піхви проводили зрошення піхви з призначенням антисептичного засобу широкого спектра дії до складу якого входили октенідина гідрохлорид і 2-феноксіетанол і комбінації бактерій, яка містила *Lactobacillus reuteri* RC-14(41 мг) і *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 (10 мг) по 1 капсулі перорально 1 раз на день під час їжі протягом 14 днів. **Результати дослідження та їх обговорення.** У I групі жінок з наявністю помірного дисбалансу вагінального вмісту - відзначено зниження концентрації лактобактерій нижче 10^7 КУО/г і складо в середньому $6,7 \pm 0,3$ lg КУО/г. Провідними облигатно-анаеробними мікроорганізмами виявлено *Gardnerella vaginalis* ($5,2 \pm 0,11$ lg КУО/г), *Eubacterium* ($5,6 \pm 0,13$ lg КОЕ/г), *Atopobium vaginae* ($4,3 \pm 0,16$ lg КУО/г), *Snethia spp.* ($4,6 \pm 0,13$ lg КУО/г), *Megasphaera* ($4,3 \pm 0,12$ lg КУО/г), *Peptostreptococcus* - $4,5 \pm 0,15$ lg КУО/г, *Mobiluncus spp.* ($4,4 \pm 0,12$ lg КУО/г). Найбільш часто при піхвовому дисбіозі у вагітних даної досліджуваної групи визначалась наявність таких збудників як *Gardnerella vaginalis* 37,5% (n = 21), *Atopobium vaginae* 25% (n = 14), *Eubacterium* 33,9 % (n = 19), *Snethia spp.* 30,3 % (n = 17), *Mobiluncus* 26,7% (n = 14,8), а також *Megasphaera* 21,4 % (n = 12). Вагінальна мікрофлора жінок II групи характеризується вираженим дисбалансом умовно - патогенних мікроорганізмів, які формували мікробні асоціації. У більшості жінок виявлені асоціації *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, і *Snethia spp.* у концентрації $7,3 \pm 0,15$ lg КУО/г; $5,1 \pm 0,06$ lg КУО/г; $4,7 \pm 0,01$ lg КУО/г відповідно. У 35 (43,7 %) жінок основної групи були виявлені біоплівки. У всіх пацієнток основним компонентом біоплівки були бактерії, що належать кластеру *Gardnerella* в концентрації $7,4 \pm 0,03$ lg КУО/г. Бактерії кластера *Atopobium* дали позитивні гібридизаційні сигнали більше ніж у половини пацієнток і склали 11- 60% бактерій біоплівок із середнім значенням - $6,5 \pm 0,13$ lg КУО/г. Крім цього в складі біоплівки в 94,3% (n = 33) визначалась *Snethia spp.* в концентрації $5,3 \pm 0,03$ lg КУО/г. **Висновки.** Виявлено, що наявність *Gardnerella vaginalis* не завжди супроводжується утворенням біоплівки з порушенням мікрофлори піхви. Слід зазначити, що при піхвовому дисбіозі відзначалась тенденція до збільшення кількості умовно-патогенних мікроорганізмів у середовищі до 10×6 КУО/г, що можливо є одним з ознак формування біоплівки. Відсутність ефекту від терапії у вагітних з бактеріальним вагінозом свідчить про персистенцію порушень вагінальної екосистеми і появі бактеріальної резистентності. Отже очевидна необхідність перегляду стандартів діагностики та лікування бактеріального вагінозу. Необхідні нові протимікробні засоби, що володіють здатністю вибірково, етіотропно впливати на вагінальні патогени біоплівки.

Ключові слова: бактеріальний вагіноз, біоплівки, бактеріальна резистентність, патогенна та умовно-патогенна мікрофлора.

Серед запальних захворювань бактеріально-го походження, що виникають під час вагітності, значне місце займають стани, обумовлені порушеннями вагінальної мікробіоти. Зміни якісного і кількісного складу вагінальної мікрофлори свідчать про наявність дисбіозу, який призво-

дить до порушень колонізаційної резистентності піхви і активації умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів. Виражене домінування умовно-патогенної мікрофлори в піхві може стати джерелом висхідної інфекції, а також збільшує ймовірність контамінації плода при його проходженні через родові шляхи. Бактеріальний вагіноз (БВ) у вагітних, як прояв вагінального дисбіозу, зустрічається з частотою від 15% до 35% [1].

Незаперечним є факт залежності БВ і самовільних абортів, передчасних пологів, передчасного відходження навколоплідних вод, внутрішньоутробного інфікування плода, а також післяпологових гнійно-септичних ускладнень [2].

Висока поширеність БВ у вагітних і пов'язані з цим ускладнення роблять його важливою проблемою для громадського здоров'я. Через велику різноманітність та складності залучених мікроорганізмів етіопатогенез БВ ще не повністю вивчений і все ще є предметом суперечок, отже ефективні підходи до прогнозування результатів і лікування цієї інфекції обмежені [5]. Різні методи, рекомендовані для профілактики та лікування дозволяють досягти лікування тільки в 60% випадків, а у 30% жінок в межах 2-3 міс після одужання спостерігається рецидив. Це пояснюється тим, що БВ характеризується не тільки надмірним бактеріальним ростом, але і присутністю щільної, тісно прикріпленою до слизової оболонки піхви бактеріальної біоплівки, яка є облігатною ознакою БВ і відсутня у здорових жінок. Мікробні біоплівки є співтовариства мікроорганізмів, прикріплених до епітеліальних, занурених в матрикс, клітинам, утворених позаклітинними полімерними речовинами. Таким чином мікробіота адаптується до особливих умов виживання. Біоплівка полегшує прикріплення бактерій до епітеліальних поверхонь, дозволяє досягати значно більш високих концентрацій, ніж у просвітні рідинах, а також є механізмом пригнічення імунітету, що перешкоджає антимікробним агентам досягати бактерій, внаслідок чого останні можуть тривало персистувати в біоплівці у вигляді латентних колоній, які не розмножуються [8].

Формування біоплівок при БВ розглядається в якості однієї з основних причин персистуючого і рецидивуючого БВ. Відомо, що бактерії в біоплівці відповідають на антибіотикотерапію

інакше, ніж планктонні бактерії, тому що міжклітинний матрикс біоплівки може пов'язувати або не пропускати, і / або інактивувати антибіотики, що ймовірно є причиною неефективного лікування в деяких випадках [3].

На даний час в більшості випадків не існує чіткого алгоритму лікування бактеріального вагінозу і його ускладнень. Застосовується різна терапевтична стратегія для боротьби з біоплівковими інфекціями: використання антисептиків, натуральних протимікробних препаратів, ДН-Каз, рослинних сполук, пребіотиків і пробіотиків, а так само підкислення піхви [4].

Встановлено, що певні штами *Lactobacillus* можуть діяти як пробіотики, запобігаючи зростання бактерій, асоційованих з БВ, за допомогою двох основних механізмів: інгібування адгезії патогенів до епітелію піхви і виробництво протимікробних сполук, таких як перекис водню, молочна кислота і бактеріоцини. Примітно, що деякі пробіотики здатні вбудовуватися в біоплівку, викликаючи як руйнування структури, так і загибель бактеріальних клітин, що дозволяє розглядати пробіотики як перспективний підхід до терапії БВ [6].

Для лікування вагінальних інфекцій так само застосовуються і антисептики. Вони мають антибактеріальну активність щодо широкого спектру бактерій, діючи шляхом неспецифічного руйнування їх клітинної мембрани.

Зростаюче число досліджень, які доводять, що БВ є біоплівковою інфекцією, змушує авторів шукати нові альтернативні методи діагностики і лікування, які здатні надавати на плівку інгібуючий ефект і призводити до її руйнування.

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ: вивчити стан вагінального біоценозу у вагітних з БВ, а також з'ясувати причину неефективності лікування бактеріального вагінозу у деяких випадках.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В клінічному дослідженні, яке проводилось на базі ХОКПЦ (Харківський обласний клінічний перинатальний центр) з 2016 по 2018 роки приймали участь пацієнти з діагностованим бактеріальним вагінозом. Для виконання поставлених завдань проведено аналіз результатів клінічного, лабораторного та функціонального дослідження 80 жінок у 2-му і 3-му триместрах,

у яких під час вагітності був діагностований бактеріальний вагіноз і 20 вагітних жінок без ознак БВ. Для включення в дослідження у пацієнтки повинні були бути присутніми 3 або 4 критерії Amsel: підвищені гомогенні виділення з піхви, рН > 4,5, наявність ключових клітин при мікроскопії і / або «рибний» запах при добавленні 10% гідрохлориду калію. Зверталася увага на наявність масивного змісту мікрофлори, переважання серед морфо типів *Gardnerella vaginalis* і облигатно-анаеробних бактерій (*Eubacterium* spp., *Atopobium vaginae*, *Sneathia* spp., *Megasphaera* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Lachnobacterium* spp.).

Дослідження мікробіоценозу включало визначення якісного і кількісного складу бактерій піхви. Для бактеріоскопічного дослідження матеріал з піхви брали стерильним інструментом, переносили на скло, готували мазки, фарбували 1% розчином метиленового синього по Граму, проводили мікроскопіювання і оцінювали кількість лейкоцитів і морфотип бактерій (збільшення $\times 1000$), використовуючи імерсійну систему.

Для мікробіологічного аналізу складу умовно патогенної мікрофлори урогенітального тракту використовували метод ПЛР з детекцією результатів який дозволяє проводити дослідження в режимі реального часу. Клінічним матеріалом для дослідження служило виділення піхви, поміщене в транспортне середовище Amies (HiMedia, Індія) для бактеріологічного дослідження і в фізіологічний розчин - для дослідження методом ПЛР. Для бактеріологічного дослідження клінічний матеріал наносили на поверхню щільного поживного середовища, що містить 5% дефібринованої крові людини, і в рідкі поживні середовища (тіогліколівий бульйон і сусло-бульйон). ДНК виділяли з 100 мкл проби з використанням набору реагентів Проба-ГСПЛЮС (ТОВ «НВО ДНК-Технологія», Москва) згідно з інструкцією виробника. При використанні тесту Фемофлор основним критерієм дисбіотичних порушень було співвідношення кількості *Lactobacillus* spp. і кожного з умовно патогенних мікроорганізмів, автоматично розраховується програмним забезпеченням до тесту. Для статистичної обробки результатів тестів використовували побудову таблиць спряженості і розрахунок міри згоди Кохена за допомогою статистичного пакета SPSS

(SPSS Inc., Chicago, USA).

Бактерії з біоплівки візуалізували за допомогою флуоресцентної гібридизації *in situ*, заснованої на 16/23 S рибосомальної ДНК (рДНК). Матеріалом для дослідження з'явився біопат з латеральної стінки середнього відділу зводу піхви. Вагінальні біопати вивчали до початку лікування і через 2 тижні після [7].

За даними результатів обстеження з досліджуваної групи були виділені вагітні з помірним (*Lactobacillus* spp. від 20% до 80%) і вираженим (*Lactobacillus* spp. менше 20%) дисбіозом, які були розділені на I (n = 56) і II (n = 24) клінічні групи відповідно.

З метою елімінації патогенної мікрофлори і нормалізації стану слизової оболонки піхви проводили зрошення піхви з призначенням антисептичний засіб широкого спектра дії до складу якого входили октенідіна гідрохлорид і 2-феноксіетанол. Санація родових шляхів проводилася шляхом зрошення слизової піхви 1 раз в день. Тривалість терапії в середньому склала 7 днів. Для нормалізації і поновлення вагінальної мікрофлори використовували комбінацію бактерій, яка містила *Lactobacillus reuteri* RC-14(41 мг) і *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 (10 мг) по 1 капсулі перорально 1 раз на день під час їжі протягом 14 днів.

Оцінка ефективності проводилася на підставі даних перерахованих вище методів дослідження через 14 днів після лікування.

У дослідженні було прийнято рівень статистичної значущості $p < 0,05$. Після перевірки нормальності розподілу використовувалися параметричні або непараметричні критерії (критерій Стьюдента, Хі-квадрат, точний критерій Фішера). Статистичну обробку здійснювали за допомогою програми Statistica for Windows (версія 8,0).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ І ОБГОВОРЕННЯ

В усіх клінічних групах середній вік обстежених вагітних жінок склав - 28 ± 13 років. Серед гінекологічних захворювань що спостерігалися у обстежених вагітних основної групи були: запальні захворювання органів малого тазу, доброякісні захворювання яєчників, патологія шийки матки, та безпліддя (табл. 1).

Таблиця 1

Перенесені гінекологічні захворювання у вагітних досліджуваної та контрольної груп

Гінекологічні захворювання	Контрольна група (n= 20)		Основна група (n= 80)	
	n=20	%	n=80	%
запальні захворювання органів малого тазу	2	10%	42	52,5%
доброякісні пухлини яєчників	1	5%	5	6,2%
патологія шийки матки	1	5%	9	11,2%
безпліддя	2	10%	19	23,7%

Порівнюючи між собою показники основної та контрольної груп можна сказати, що перенесені гінекологічні захворювання в анамнезі частіше зустрічалися у вагітних с вагінальним дисбіозом.

Перебіг вагітності у обстежених жінок основної групи частіше ускладнювався загрозливим абортотом, ризиком передчасних пологів, хронічної плацентарної дисфункцією (табл.2).

Таблиця 2

Перебіг теперішньої вагітності у вагітних досліджуваної та контрольної груп

Ускладнення вагітності	Контрольна група (n= 20)		Основна група(n= 80)	
	n=20	%	n=80	%
загроза абортоту	3	15%	26	32,5%
загроза передчасних пологів	1	5%	39	48,7%
хронічна плацентарна дисфункція	2	10 %	33	41,2 %

Необхідно відзначити, що пацієнтки основної групи належали до групи високого ризику (10 і більше балів за шкалою Фролової О.Г. і Ніколаєвої О.І., 2008 р.) за перебігом вагітності, а контрольної групи - до низького.

При бактеріологічному дослідженні вагітних контрольної групи виявлено, що у 90% жінок складу вагінальної мікрофлори відповідав нормальним показникам - середня кількість лактобактерій складало $(7,3 \pm 0,5)$ lg КУО/г. У деяких жінок (10%) концентрація лактобактерій була незначно знижена до $(4,1 \pm 0,5)$ lg КУО/г. В поодиноких випадках виділялися E.coli, умовно-патогенні стафілококи і стрептококи, а також гриби роду Candida.

При аналізі результатів бактеріологічного дослідження вагінального вмісту жінок основної групи встановлено, що вираженість дисбіозу при бактеріальному вагінозі характеризується різним ступенем зниження кількості лактобактерій аж до їх повного зникнення на тлі домінування умовно-патогенної мікрофлори, відповідно до класифікації стану біоценозу по Болдиревій М.М., 2010 р.:

I. Нормоценоз:

1. Загальна бактеріальна маса (ЗММ) - абсолютний показник 10^6-10^8 для піхви;
2. Нормобіота (Lactobacillus spp) - абсолютний показник 10^6-10^8 для піхви, відносний показник від 0 до 0,3 (100% -70%);
3. Аеробні та анаеробні умовно-патогенні мікроорганізми. Абсолютний показник $<10^4$, відносний показник - менше -3 (0,1%), окремі представники умовно патогенної мікрофлори (УПМ) можуть мати відносний показник від -3 до -2 (0,1% -1%) - слабо збільшений рівень.;
4. Mycoplasma hominis і Ureaplasma (urealiticum + parvum) відсутні або їх абсолютний показник $<10^4$.
5. Гриби роду Candida - відсутні або їх абсолютний показник $<10^3$.

II. Дисбаланс I (помірний) :

1. ОБМ - абсолютний показник 10^6-10^8 ;
2. Нормобіота (Lactobacillus spp) - абсолютний показник 10^6-10^8 ; відносний показник - від -0,3 до -1 (70% -10%);

3. Аеробні та анаеробні умовно-патогенні мікроорганізми: абсолютний показник $> 10^4$, відносні показники різних УПМ варіюють від -3 до -1 (0,1% -10%);

4. *Mycoplasma hominis* і *Ureaplasma (urealiticum + parvum)* - відсутні або абсолютний показник $> 10^4$;

5. Гриби роду *Candida* spp. - відсутні або абсолютний показник $> 10^3$.

III. Дисбаланс II (виражений):

1. ОБМ- Абсолютний показник варіює в широкіх межах, він може бути як менше 10^5 , так і відповідати нормі (10^6 - 10^8) в залежності від етіології та патогенезу урогенітального захворювання;

2. Нормобіота (*Lactobacillus* spp). - абсолютний показник може варіювати від повної відсутності лактобацил до значень 10^{5-6} ; відносний показник - менше -1 (0-10%);

3. Аеробні і анаеробні умовно-патогенні мікроорганізми в більшості випадків абсолютний показник $> 10^5$, відносні показники різних УПМ можуть варіювати від -3 до 0 (0,01% -100%), проте відносні показники хоча б частини УПМ знаходяться в межах від -1 до 0 (10% -100%).

4. *Mycoplasma hominis* і *Ureaplasma (urealiticum + parvum)* можуть бути відсутні або абсолютний показник $> 10^4$; 5. Гриби роду *Candida* spp. відсутні або абсолютний показник $> 10^3$.

У I групі жінок з наявністю помірного дисбалансу вагінального вмісту - відзначено зниження концентрації лактобактерій нижче 10^7 КУО/г і склало в середньому $6,7 \pm 0,3$ lg КУО/г. Провідними облигатно-анаеробними мікроорганізмами виявлено *Gardnerella vaginalis* ($5,2 \pm 0,11$ lg КУО/г.), *Eubacterium* ($5,6 \pm 0,13$ lg КОЕ/г.), *Atopobium vaginae* ($4,3 \pm 0,16$ lg КУО / г), *Snethia* spp. ($4,6 \pm 0,13$ lg КУО/г), *Megasphaera* ($4,3 \pm 0,12$ lg КУО/г) , *Peptostreptococcus* - $4,5 \pm 0,15$ lg КУО/г), *Mobiluncus* spp. ($4,4 \pm 0,12$ lg КУО/г).

Найбільш часто при піхвовому дисбіозі у вагітних даної досліджуваної групи визначалась наявність таких збудників як *Gardnerella vaginalis* 37,5%

(n = 21), *Atopobium vaginae* 25% (n =14), *Eubacterium* 33,9 % (n =19), *Snethia* spp. 30,3 % (n=17), *Mobiluncus* spp. 26,7% (n =14,8), а також *Megasphaera* 21,4 % (n=12).

Вагінальна мікрофлора жінок II групи характеризується вираженим дисбалансом умовно-патогенних мікроорганізмів, які формували мікробні асоціації. При цьому у 95,8% обстежених даної групи відзначено повна відсутність лактобацил, у

решті їх концентрація була різко знижена (максимум 10^2 КУО/г) і в середньому склала $1,2 \pm 0,14$ lg КУО/г. У більшості жінок виявлені асоціації *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, і *Snethia* spp. у концентрації $7,3 \pm 0,15$ lg КУО/г; $5,1 \pm 0,06$ lg КУО/г; $4,7 \pm 0,01$ lg КУО/г відповідно.

Відомо, що *Gardnerella vaginalis* беруть участь у формуванні біоплівки на вагінальному епітелії. Первинне прикріплення гарднерел до вагінального епітелію служить каркасом для прикріплення інших видів бактерій з високим ступенем адгезії, цитотоксичності та здатності до формування біоплівки. Такі біоплівки містять бактерії, укладені в міжклітинний матрикс полімерних з'єднань, які вони синтезують відразу після адгезії - ліпополісахариди, протеоглікани, ендолісахариди, і мають змінені фізіологічні властивості, які надають їм стійкості до дії антибіотиків і факторів імунного захисту [4].

Ми виявили, що у 35(43,7 %) жінок основної групи були виявлені біоплівки: 17 вагітних з помірним дисбалансом і 18 - з вираженим дисбіозом, головною складовою яких стала *Gardnerella vaginalis*. Тому ми порівняли їх мікробіоту з мікробіотою у пацієнтів без біоплівки. У всіх пацієток основним компонентом біоплівки були бактерії, що належать кластеру *Gardnerella* в концентрації $7,4 \pm 0,03$ lg КУО/г. Бактерії кластера *Atopobium* дали позитивні гібридизаційні сигнали більше ніж у половини пацієток і склали 11- 60% бактерій біоплівки із середнім значенням $6,5 \pm 0,13$ lg КУО/г. Крім цього у складі біоплівки у 94,3% (n=33) пацієток визначалась *Snethia* spp. у концентрації $5,3 \pm 0,03$ lg КУО/г. Отже, наявність *Snethia* spp. в вагінальному вмісті можна вважати своєрідним маркером біоплівки. При наявності спільноти *G. vaginalis* і *Megasphaera* spp. біоплівки не були виявлені. Таким чином, *Gardnerella vaginalis* не завжди супроводжується утворенням біоплівки з порушенням мікрофлори піхви. Крім того, слід зазначити, що мала місце тенденція до збільшення кількості умовно-патогенних мікроорганізмів у середовищі до 10^{5-6} КУО/г, що можливо є одним з ознак формування біоплівки [1].

Бактерії кластерів *Lactobacillusi Bacteroides* були присутні менше ніж у половини жінок і становили незначну фракцію біоплівки.

Після проведення комплексної терапії бактеріального вагінозу було проведено бактеріологічне дослідження вмісту піхви у жінок досліджуваних груп (табл.3).

Характеристика патогенної і умовно-патогенної мікробіоти піхви у вагітних з бактеріальним вагінозом до і після лікування

Мікрофлора в КУО/г	Досліджувані групи					
	I група до лікування	I група після лікування	ρ	II група до лікування	II група після лікування	ρ
<i>E.coli</i>	3,4±0,1	3,1±0,09	<0,05	4,6±0,6	4,1±0,2	<0,05
<i>Klebsiella spp.</i>	2,6±0,1	2,3±0,2	<0,05	3,8±0,3	3,1±0,11	<0,05
<i>Candida spp.</i>	3,4±0,2	2,3 ±0,1	<0,05	4,7±1,3	2,3 ±0,2	<0,05
<i>S.aureus</i>	2,8±0,14	2,1±0,2	<0,05	3,7±0,3	2,8±0,08	<0,05
<i>Streptococcus spp.</i>	3,1±0,13	2,6±0,2	<0,05	3,7±0,2	2,7±0,15	<0,05
<i>Gardnerella vaginalis</i>	5,2 ±0,11	3,2±0,08	<0,05	7,3 ±0,15	4,2±0,2	<0,05
<i>Atopobiumvaginae</i>	4,3 ±0,16	2,4±0,2	<0,05	5,1 ±0,06	3,6±0,06	<0,05
<i>Mobiluncus spp.</i>	4,4 ±0,12	1,6±0,2	<0,05	4,7 ±0,15	2,5±0,15	<0,05
<i>Snetia spp.</i>	4,6 ±0,15	1,5±0,09	<0,05	4,7 ±0,01	3,2±0,2	<0,05
<i>Eubacterium spp.</i>	5,6±0,13	2,8±0,14	<0,05	6,0±0,15	3,4±0,14	<0,05
<i>Megasphaera spp.</i>	4,3±0,12	2,9±0,06	<0,05	4,2±0,2	3,1±0,06	<0,05
<i>Lachnobacterium spp.</i>	4,0±0,15	2,4±0,08	<0,05	4,7±0,23	2,9±0,16	<0,05
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	4,5±0,15	2,8±0,05	<0,05	6,1±0,26	3,3±0,15	<0,05

У I групі після проведеного лікування спостерігалось посилення колонізації лактобацилярними видами до 10^4 - 10^5 КУО/г. Від самого початку висока колонізація бактеріями роду *Gardnerella vaginalis* після лікування знизилася до $3,2 \pm 0,08 \lg$ КУО/г, а асоціації грибів роду *Candida* з ентеробактеріями виявлені тільки у 3 жінок даної групи, концентрація ДНК бактерій роду *Mobiluncus spp.* знизилася до $1,6 \pm 0,08 \lg$ КУО/г, а *Atopobium vaginae* до $2,4 \pm 0,2 \lg$ КУО/г.

У II групі після лікування знижувалася ступінь колонізації грибами роду *Candida* більше ніж удвічі- $2,3 \pm 0,2 \lg$ КУО/г. Також виявлена тенденція до поновлення нормобіоценозу за рахунок посилення колонізації молочнокислими бактеріями, які в більшості випадків повністю були відсутні до початку терапії. Кількість умовно патогенних анаеробів таких як *Gardnerella vaginalis*, бактерій роду *Mobiluncus spp.*, *Atopobium vaginae*, *Sneathia spp.*, *Eubacterium*, *Peptostreptococcus* так само значно знизилася: $4,2 \pm 0,2 \lg$ КУО/г; $3,6 \pm 0,06 \lg$ КУО/г; $3,2 \pm 0,2 \lg$ КУО/г; $3,4 \pm 0,14 \lg$ КУО/г; $3, \pm 0,15 \lg$ КУО/г відповідно. Однак, у деяких випадках ефективність лікування виявилася нижчою за очікувану,

у 12 (15%) вагітних жінок основної групи нам не вдалося значно поліпшити стан мікробіоти піхви, що свідчить про персистування порушень вагінальної екосистеми.

ВИСНОВКИ

Таким чином, виявлено, що основним компонентом біоплівки при бактеріальному вагінозі були бактерії, що належать кластеру *Gardnerella vaginalis* та *Atopobium vaginae*. Крім цього в складі біоплівки в більшості випадків визначалася *Sneathia spp.* Отже, наявність *Sneathia spp.* у вагінальному вмісті можна вважати своєрідним маркером біоплівки. При наявності спільноти *G. vaginalis* і *Megasphaera spp.* біоплівки не були виявлені. Таким чином, *Gardnerella vaginalis* не завжди супроводжується утворенням біоплівки з порушенням мікрофлори піхви. Крім того, слід зазначити, що мала місце тенденція до збільшення кількості умовно-патогенних мікроорганізмів у середовищі, що можливо є одним з ознак формування біоплівки [1].

Відсутність ефекту від терапії (використання антисептичного засобу та пробіотику) у 12 (15%) вагітних з бактеріальним вагінозом свідчить про

персистенції порушень вагінальної екосистеми (наявність біоплівки) і появу бактеріальної резистентності. Отже, очевидна необхідність перегляду стандартів діагностики, лікування бактеріального вагінозу та пошук нових протимікробних засобів, що володіють здатністю вибірково, етіотропно впливати на вагінальні патогени біоплівки. Цій темі буде присвячено наші подальші дослідження.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Березовская Е.С. Биопленки при бактериальном вагинозе / Березовская Е.С., Макаров И.О., Гомберг М.А., Боровкова Е.И., Чулкова Е.А., Аракелян Л.А. // Акушерство, гинекология и репродукция.- 2013.-№ 2.- С. 34-36.
2. Дубоссарская Ю.А. Оптимизация тактики ведения беременности с целью профилактики преждевременных родов /Дубоссарская Ю.А., Лебедюк В.В.// Здоровье женщины.- 2016.- № 2.- С.20-24.
3. Шалепо К.В. Роль бактериальных пленок в формировании хронических патологических процессов во влагалище и эндометрии /Шалепо К.В., Михайленко Т.Г., Савичева А.М. // Журнал акушерства и женских болезней.-2016;Т. LXV,№4.- С. 65-75.
4. Alves P.Using an in vitro biofilm model to assess the virulence potential of Bacterial Vaginosis or non-Bacterial Vaginosis Gardnerella vaginalis isolates /Alves P.,Sousa C, Cereija T. // SciRep.-2015.-№ 5.- P.11640.
5. Machado A. Influence of Biofilm Formation by Gardnerella vaginalis and Other Anaerobes on Bacterial Vaginosis /Machado A.,Cerca N. //J Infect Dis.- 2015.-№ 12.- P.1856-1861.
6. Machado D.Bacterial Vaginosis Biofilms: Challenges to Current Therapies and Emerging Solutions /Machado D.,Castro J., Palmeira-de-Oliveira A., Martinez-de-Oliveira J., Cerca N. // Front Microbiol.- 2015.-№ 6.-P.1528.
7. Machado D.Diagnosis of bacterial vaginosis by a new multiplex peptide nucleic acid fluorescence in situ hybridization method /Machado D.,Castro J.,Cereija T., Almeida C., Cerca N. // Peer J. 2015;3:780.
8. Mirmonsef P. The effects of commensal bacteria on innate immune responses in female genital tract /Mirmonsef P. Gilbert D., Zariffard M.R. // Am. J. Reprod. Immunol.- 2011.-№3.- P.190-195.

REFERENCES

1. Berezovskaya Y.S., Makarov I.O., Gomberg M.A., Borovkova Y.I. Biofilms in bacterial vaginosis. Akusherstvo. ginekologiya i reproduktsiya. 2013;2 : 34-36.(in Russian)
2. Dubossarskaya U.A., Lebedjuk V.V. Optimization of pregnancy management tactics for the prevention of preterm birth. Zdorovyе zhenshchiny. 2016; 2 : 2024. (in Russian)
3. Shalepo K. -V., Mikhaylenko T.G., Savicheva A.M. The role of bacterial biofilms in the formation of chronic pathological processes in the vagina and endometrium. Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney.2016; (LXV)4.:С. 65-75.(in Russian)
4. Alves P., Sousa C., Cereija T. Using an in vitro biofilm model to assess the virulence potential of Bacterial Vaginosis or non-Bacterial Vaginosis Gardnerella vaginalis isolates. Sci Rep.2015Jun;5:11640.
5. Machado A, Cerca N. Influence of Biofilm Formation by Gardnerella vaginalis and Other Anaerobes on Bacterial Vaginosis. J Infect Dis. 2015Dec;212(12):1856-1861.
6. Machado D., Castro J., Palmeira-de-Oliveira A., Martinez-de-Oliveira J., Cerca N. Bacterial Vaginosis Biofilms: Challenges to Current Therapies and Emerging Solutions. Front Microbiol.2016 Jan;6:1528.
7. Machado D., Castro J., Cereija T., Almeida C., Cerca N. Diagnosis of bacterial vaginosis by a new multiplex peptide

nucleic acid fluorescence in situ hybridization method. Peer J.2016Feb;3:780.

8. Mirmonsef P., Gilbert D., Zariffard M.R. The effects of commensal bacteria on innate immune responses in female genital tract. Am. J. Reprod. Immunol.2011Mar ;65(3): 190-195.

РЕЗЮМЕ

МИКРОБИОТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ МИКРОФЛОРЫ ВАГАЛИЩА У БЕРЕМЕННЫХ С БАКТЕРИАЛЬНЫМ ВАГИНОЗОМ

ЩЕРБИНА Н.А., ПЛАХОТНА И.Ю.,
ЩЕРБИНА И.Н.

Высокая распространенность БВ у беременных и связанные с этим осложнения, такие как самопроизвольные аборт, преждевременные роды, преждевременное излитие околоплодных вод, внутриутробное инфицирование плода, а также послеродовые гнойно-септические осложнения делают его важной проблемой для общественного здоровья. **Цель исследования** – изучить состояние влагалищного биоценоза у беременных с БВ, а так же выяснить возможную причину неэффективности лечения бактериального вагиноза в некоторых случаях. **Материалы и методы.** Обследовано 80 беременных с БВ. По данным результатов исследования были выделены беременные с умеренным и выраженным дисбиозом, которые были разделены на I (n=56) и II (n=24) клинические группы соответственно. Проведено бактериоскопическое и микробиологическое исследование качественного и количественного состава бактерий влагалища методом ПЦР. Бактерии с биопленки визуализировали с помощью флюоресцентной гибридизации in situ. С целью элиминации патогенной микрофлоры и нормализации состояния слизистой оболочки влагалища проводили орошения влагалища с назначением антисептического средства широкого спектра действия и комбинации бактерий Lactobacillus reuteri RC-14 и Lactobacillus rhamnosus GR-1 по 1 капсуле перорально 1 раз в день во время еды, 14 дней. **Результаты исследования.** Биопленки были выявлены у 35 женщин (43,7%) основной группы. У всех пациенток основным компонентом биопленки были бактерии, принадлежащие кластеру Gardnerella vaginalis в концентрации (7,3 ± 1,5 lg КОЕ/г), Atorobium vaginae обнаружены больше чем у половины пациенток и составили 11- 60% бактерий биопленки в концентрации (6,5 ± 0,13 lg КОЕ/г). Кроме этого в составе биопленки определялась Sneathia spp. в концентрации (5,3 ± 0,03 lg КОЕ/г). Проведенная комплексная терапия с использованием антисептического средства и колонизации слизистой влагалища лактобактериями способствовала элиминации патогенной микрофлоры. Однако у 12 беременных женщин нам не удалось значительно улучшить состояние микробиоты влагалища, что свидетельствует о персистенции нарушений вагинальной экосистемы. **Выводы.** Наличие Sneathiaspp. вагинальном содержимом можно считать своеобразным маркером биопленки. При наличии сообщества G. vaginalis и Megasphaera spp. биопленки не были выявлены. Таким образом, наличие Gardnerella vaginalis не всегда сопровождается образованием биопленки. Отсутствие эффекта от терапии у 12 (15%) беременных с бактериальным вагинозом свидетельствует о появлении

бактериальной резистентности (наличие биопленок). Следовательно, очевидна необходимость пересмотра стандартов диагностики и лечения бактериального вагиноза. Необходимы новые противомикробные средства, обладающие способностью избирательно, этиотропно воздействовать на влагалищные патогены биопленки.

Ключевые слова: бактериальный вагиноз, биопленки, бактериальная резистентность, патогенная и условно-патогенная микрофлора.

SUMMARY

MICROBIOTIC DISORDERS OF THE VAGINAL MICROFLORA IN PREGNANT WOMEN WITH BACTERIAL VAGINOSIS

SHCHERBINA M.O., PLAKHOTNA I.YU.,
SHCHERBINA I.M.

The high prevalence of BV in pregnant women and related complications, such as spontaneous abortions, preterm labor, premature rupture of the amniotic fluid, fetal intrauterine infection, and postpartum purulent-septic complications make it an important public health problem. **The purpose of the research** is to study the state of the vaginal biocenosis in pregnant women with BV to optimize diagnosis, treatment and reduce the incidence of complications during pregnancy and the postpartum period. **Materials and methods.** 80 pregnant women with BV were examined. According to the results of the study, pregnant women with moderate and severe dysbiosis were identified. They were divided into I (n = 56) and II (n = 24) clinical groups respectively. A bacterioscopic and microbiological study of the qualitative and quantitative composition of vaginal bacteria was carried out

by PCR. Bacteria from biofilms were visualized using in situ fluorescent hybridization. In order to eliminate pathogenic microflora and normalize the condition of the mucosa, vaginal irrigation was prescribed with the appointment of a broad-spectrum antiseptic and the combination of bacteria Lactobacillus reuteri RC-14 and Lactobacillus rhamnosus GR-1, 1 capsule orally 1 time a day with meals, 14 days. **The results of the study.** Biofilms were detected in 35 women (43,7%) of the main group. In all patients, the main component of the biofilm was bacteria belonging to the Gardnerella vaginalis in a concentration 7.3 ± 15 lg CFU / g, Atopobium vaginae - more than half of the patients and made up 11-60% of bacteria biofilms in concentration 6.5 ± 0.13 lg CFU / g. In addition in the composition of the biofilm was determined Snethia spp. in concentration 5.3 ± 0.03 lg CFU / g. The combined therapy contributed to the elimination of pathogenic microflora and colonization of the vaginal mucosa by lactobacilli. However, in 12 pregnant women we were unable to improve the condition of the vaginal microbiota significantly, which indicates the persistence of disorders of the vaginal ecosystem. **Conclusions.** Snethia spp. in the vaginal contents can be considered a kind of biofilm marker. The biofilms were not identified in the presence of the community G. vaginalis and Megasphaera sp., thus the presence of Gardnerella vaginalis is not always accompanied by the formation of biofilms. The lack of effect of therapy in 12 (15%) pregnant women with bacterial vaginosis indicates the appearance of bacterial resistance (presence of biofilms). Therefore, the need to revise the standards for the diagnosis and treatment of bacterial vaginosis is obvious. New antimicrobial agents that have the ability to selectively etiotropic affect vaginal pathogens of biofilms are needed.

Key words: bacterial vaginosis, biofilms, bacterial resistance, pathogenic and opportunistic microflora.