

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

акушерство и ГИНЕКОЛОГИЯ

1/2011

■ Широкова В.И., Филиппов О.С., Гусева Е.В. Итоги деятельности и основные направления модернизации службы родовспоможения в Российской Федерации

■ Хаматханова Е.М., Кучеров Ю.И., Подуровская Ю.Л., Дорофеева Е.И., Жиркова Ю.В. Гастрошизис: проблемы, первый опыт, алгоритм врачебной тактики

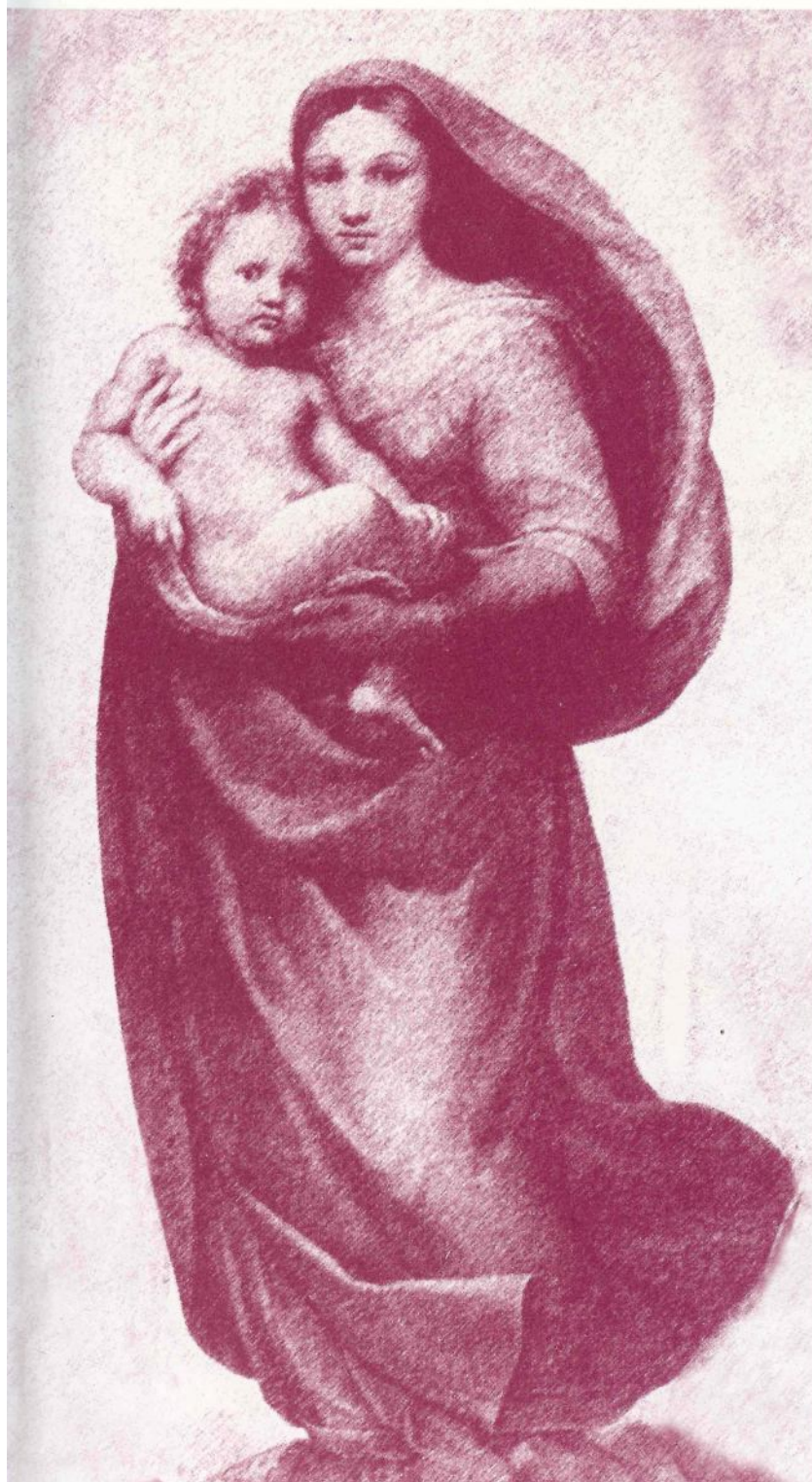
■ Ворошилина Е.С., Тумбинская Л.В., Донников А.Е., Плотко Е.Э., Хаютин Л.В. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной полимеразной цепной реакции: что есть норма?

Scientifically-practical magazine **AND**
OBSTETRICS
GYNECOLOGY

■ Shirokova V.I., Filippov O.S., Guseva E.V. The activity results of obstetric care service and the main lines of its modernization in the Russian Federation

■ Khamatkhanova E.M., Kucherov Yu.I., Podurovskaya Yu.L., Dorofeyeva E.I., Zhirkova Yu.V. Gastroschisis: problems, first experience, algorithm for medical tactics

■ Voroshilina E.S., Tumbinskaya L.V., Donnikov A.E., Plotko E.A., Khayutin L.V. Vaginal biocenosis with a view to quantitative polymerase chain reaction: what is its norm?



© Коллектив авторов, 2011

Е.С. ВОРОШИЛИНА¹, Л.В. ТУМБИНСКАЯ²,
А.Е. ДОННИКОВ³, Е.Э. ПЛОТКО⁴, Л.В. ХАЮТИН⁴**БИОЦЕНОЗ ВЛАГАЛИЩА С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ
КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ:
ЧТО ЕСТЬ НОРМА?**¹ГОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Росздрава;²ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Москва;³ФГУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова
Минздравсоцразвития России, Москва;⁴Медицинский центр «Гармония», Екатеринбург

Цель исследования. Изучение количественных характеристик микробиоты влагалища здоровой женщины для внедрения в клиническую практику молекулярно-генетических методов исследования качественного и количественного состава биоценоза влагалища.

Материал и методы. С помощью количественной полимеразной цепной реакции с использованием реагента «Фемофлор» изучен качественный и количественный состав биоценоза влагалища у 604 клинически здоровых женщин в разные периоды жизни.

Результаты исследования. Показано, что факультативно-анаэробные микроорганизмы (такие как стафилококки и стрептококки) встречаются гораздо реже, чем облигатно-анаэробные микроорганизмы. У каждой пятой клинически здоровой женщины репродуктивного возраста выявлена уреоплазма в количестве более 104 гз/мл. У 10% женщин репродуктивного возраста без клинических признаков дисбиотических процессов во влагалище были обнаружены дрожжеподобные грибы в количестве более 104 гз/мл. Учитывая отсутствие каких-либо клинических признаков воспаления или дискомфорта, данное состояние можно рассматривать как вариант нормального биоценоза. Показана неприемлемость интерпретации состояния биоценоза влагалища у женщин старшей возрастной группы с позиции нормы, характерной для женщин репродуктивного возраста.

Заключение. Высокая чувствительность полимеразной цепной реакции позволяет идентифицировать даже незначительные количества микроорганизмов, составляющих биоценоз влагалища.

Ключевые слова: микрофлора влагалища, полимеразная цепная реакция, клинически здоровые женщины, беременность, менопауза.

E.S. Voroshilina¹, L.V. Tumbinskaya²,
A.E. Donnikov³, E.A. Plotko⁴, L.V. Khayutin⁴**VAGINAL BIOCECENOSIS IN THE CONTEXT OF VIEW OF QUANTITATIVE
POLYMERASE CHAIN REACTION: WHAT IS ITS NORM?**¹Ural State Medical Academy, Russian Agency for Health Care, Yekaterinburg;²ZAO «DNA-Technology Research-and-Production Firm», Moscow;³Academician V. I. Kulakov Research Center of Obstetrics, Gynecology,
and Perinatology, Ministry of Health and Social Development of Russia, Moscow;⁴Harmony Medical Center, Yekaterinburg

Objective. To study the quantitative characteristics of the vaginal microbiota in a healthy woman for the introduction of molecular genetic studies of the qualitative and quantitative composition of vaginal biocenosis into clinical practice.

Subjects and methods. Quantitative polymerase chain reaction with «Femoflor» was used to study the qualitative and quantitative composition of vaginal biocenosis in 604 clinically healthy women in different life periods.

Results. Facultative anaerobic microorganisms (such as Staphylococci and Streptococci) were found to be much less common than obligate anaerobes. Every five clinically healthy women of reproductive age were found to have Ureaplasma in a quantity of more than 104 per ml. Yeast-like fungi were detected in a quantity of more than 104 per ml in 10% of the reproductive-age women without clinical signs of vaginal dysbiotic processes. By taking into account the absence of any clinical signs of inflammation or discomfort, this condition can be considered as a variant of normal biocenosis. The authors show it unacceptable to interpret

vaginal biocenosis in old-age group women in the context of its normal characteristics in reproductive-age women.

Conclusion. *The high sensitivity of polymerase chain reaction permits identification of even insignificant amount of microorganisms that comprise vaginal biocenosis.*

Key words: *vaginal microflora, polymerase chain reaction, clinically healthy women, pregnancy, menopause.*

Вагинальный биоценоз представляет сложную динамическую систему, находящуюся в каждый отдельный момент времени в равновесном состоянии, обусловленном множеством эндогенных и экзогенных факторов (следует уточнить, что понятия нормы и равновесия не являются тождественными).

Наиболее значимыми факторами являются возраст, репродуктивное поведение, акушерско-гинекологический анамнез, гормональный статус, использование гормональных и антибактериальных препаратов, наличие экстрагенитальной патологии. Также следует учитывать влияние на женщину социальных и культурных факторов, таких как национальные традиции, реклама средств интимной гигиены и мода на ношение тесной обтягивающей одежды, интимный пирсинг и другие травмирующие косметические процедуры в области гениталий, которые существенно изменили представление самой женщины о норме применительно к состоянию вульвы и влагалища. Широкое распространение приобрела практика самостоятельного применения вагинальных антисептических, антибактериальных и антимикотических средств.

Тем не менее понятие нормы применительно к биоценозу влагалища — это медицинская категория, основанная прежде всего на четких представлениях о количественном и качественном составе вагинальной микрофлоры [1], а современные молекулярно-генетические методы исследования позволяют получить на сегодняшний день максимально полное и объективное представление о всех участниках вагинальной биоты.

Для клинического применения молекулярно-генетических методов лабораторной диагностики необходимо определение нормальных и патологических характеристик вагинальной экосистемы у различных групп женщин. В силу разнообразных медико-социальных причин именно формирование группы клинически здоровых женщин вызывает наибольшие затруднения для акушеров-гинекологов и венерологов.

Целью настоящего исследования явилось изучение вагинального биоценоза с помощью метода ПЦР с детекцией результатов в режиме реального

времени (ПЦР-РВ) у клинически здоровых женщин репродуктивного возраста и женщин в перименопаузе и постменопаузе.

Материал и методы исследования

В исследование были включены 604 женщины в возрасте от 17 до 73 лет. В 1-ю группу вошли 230 небеременных женщин репродуктивного возраста — от 26 до 36 лет, обратившихся к гинекологу с целью профилактического осмотра или предгравидарной подготовки. Во 2-ю группу вошли 283 беременные женщины в возрасте от 25 до 33 лет, из них 140 женщин были обследованы в I (72 женщины планировали беременность вынашивать, 68 — прерывать), 50 — во II и 93 — в III триместре беременности. В исследование были включены женщины, у которых при микроскопии вагинального отделяемого лейкоциты выявляли в количестве от 0 до 5 клеток в поле зрения, флора была представлена преимущественно лактоморфотипами [2]. В 3-ю группу были включены 65 женщин в перименопаузе в возрасте от 48 до 52 лет. В 4-ю группу вошли 26 женщин в постменопаузе в возрасте от 57 до 60 лет.

Критериями включения в исследование являлись отсутствие жалоб на патологические выделения, дискомфорт в области вульвы и влагалища. Критериями исключения являлись следующие параметры: клинические признаки вагинита или бактериального вагиноза, выраженная лейкоцитарная реакция в вагинальном отделяемом, признаки воспалительного процесса во влагалище.

Исследование биоценоза влагалища проводили методом ПЦР-РВ с использованием реагента «Фемофлор» (производитель: ООО «НПО ДНК-Технология», РУ ФСР 2009/04663, патент № 2362808 от 13.02. 08). Материал для исследования собирали с заднебоковой стенки влагалища на предметное стекло и в пробирку Эппендорф, содержащую 1 мл физиологического раствора. Хранение и транспортировку материала проводили согласно действующим нормативным документам. Микроскопию препаратов, окрашенных по Граму, осуществляли при увеличении в 1000 раз. При этом оценивали количество лейкоцитов и характер микрофлоры. Для исследования биоценоза влагалища выделяли ДНК микроорганизмов с использованием набора реагентов «Проба-ГС» (ООО «НПО ДНК-Технология»), а ПЦР-РВ проводили в амплификаторе ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология») согласно инструкции производителя. С помощью специального программного обеспечения рас-

Для корреспонденции:

Ворошилина Екатерина Сергеевна, доц. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии ГОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Росздрава
Адрес: 620028, Екатеринбург, ул. Репина, 3
Телефон: (343) 251-08-75
E-mail: voroshilina@gmail.com

считывали количество (в геном-эквивалентах/мл — гЭ/мл) общей бактериальной массы (ОБМ), лактобацилл и каждой группы условно-патогенных микроорганизмов. Дополнительно оценивали долю нормофлоры, факультативно-анаэробных микроорганизмов и анаэробных микроорганизмов в процентах среди всех выявленных бактерий.

Статистическую обработку данных проводили с помощью статистического пакета SPSS Statistics версии 17.0 (Inc., Chicago, USA). В качестве меры центральной тенденции количественных признаков выбрана медиана, а в качестве интервальной оценки — верхний и нижний квартили, так как исследуемые выборки не подчиняются закону нормального распределения.

Результаты исследования и обсуждение

Результаты исследования вагинального биоценоза, полученные методом ПЦР-РВ, интерпретировали следующим образом. Наличие более 90% лактобактерий в ОБМ, менее 10% условно-патогенных аэробных и анаэробных микроорганизмов, абсолютное количество грибов рода кандиды и микоплазм, не превышающее 10^4 гЭ/мл, расценивали как нормоценоз [4,5]. Как относительный нормоценоз рассматривали вариант биоценоза, при котором на фоне высокого содержания лактобактерий (более 90% от ОБМ) были выявлены микоплазмы или грибы рода *Candida* в количестве 10^4 гЭ/мл

и более [3]. При умеренном снижении доли лактобактерий (от 20 до 90% от ОБМ) и увеличении доли аэробов или анаэробов делали заключение об умеренном аэробном дисбалансе или умеренном анаэробном дисбалансе соответственно. Если доля лактобактерий составляла менее 20% от ОБМ при резком увеличении доли анаэробов, такое состояние расценивали как анаэробный дисбаланс, при увеличении доли аэробов — аэробный дисбаланс.

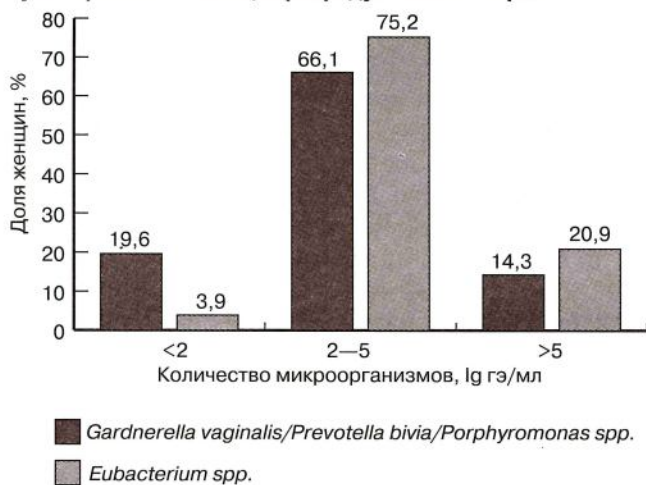
ОБМ и количество лактобактерий у небеременных женщин репродуктивного возраста колебались в достаточно широких пределах — от $10^{5,4}$ до $10^{8,5}$ (табл. 1). Тем не менее доля лактобактерий от общего количества выделенных бактерий у 90% обследованных женщин составляла от 55,5 до 99,9% (медиана равна 99,6%). Количество аэробных и анаэробных микроорганизмов отличалось от количества лактобактерий более чем на 2 порядка, а их доля составляла 0,03 (0,0008–3,1)% и 0,26 (0,006–38,0)% от суммы всех выделенных микроорганизмов соответственно.

Наиболее высоких значений достигает количество двух групп микроорганизмов: *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.* и *Eubacterium spp.* (рис. 1). У абсолютного большинства женщин эти микроорганизмы обнаружены в количестве от 10^2 до 10^5 гЭ/мл. При этом у 14,3% женщин количество *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.* превышало 10^5 гЭ/мл. У 20,9% женщин были выявлены *Eubacterium spp.* в количестве более 10^5 гЭ/мл.

Таблица 1. Количественный состав (lg гЭ/мл) биоценоза влагалища клинически здоровых небеременных женщин репродуктивного возраста (n=230)

Показатель	Медиана	25–75-й процентиль	05–95-й процентиль
Общая бактериальная масса	7,6	6,9–8,1	5,9–8,5
Нормофлора			
<i>Lactobacillus spp.</i>	7,5	6,7–8,0	5,4–8,5
Факультативно-анаэробные (аэробные) микроорганизмы			
Семейство <i>Enterobacteriaceae</i>	3,0	2,6–3,4	2,3–3,4
<i>Streptococcus spp.</i>	2,8	0–3,4	0–5,2
<i>Staphylococcus spp.</i>	3,0	2,5–3,8	1,5–4,8
Облигатно-анаэробные микроорганизмы			
<i>Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/</i> <i>Porphyromonas spp.</i>	3,7	2,5–4,3	0–6,0
<i>Eubacterium spp.</i>	4,0	3,0–4,7	2,2–6,1
<i>Sneathia spp./Leptotrihia spp./Fusobacterium</i>	2,0	1,5–2,8	0–3,8
<i>Megasphaera spp./Veillonella spp./Dialister spp.</i>	2,5	0,8–3,4	0–5,0
<i>Lachnobacterium spp./Clostridium spp.</i>	2,8	2,2–3,5	0–4,7
<i>Mobiluncus spp./Corynebacterium spp.</i>	3,3	2,7–4,0	1,3–5,0
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	2,9	2,1–3,8	0–4,9
<i>Atopobium vaginae</i>	2,0	0–2,9	0–4,1
Микоплазмы			
<i>Mycoplasma spp.</i>	0	0	0–1,4
<i>Ureaplasma (urealyticum + parvum)</i>	1,4	0–4,0	0–5,4
Дрожжеподобные грибы			
<i>Candida spp.</i>	3,1	2,8–3,5	2,3–4,3

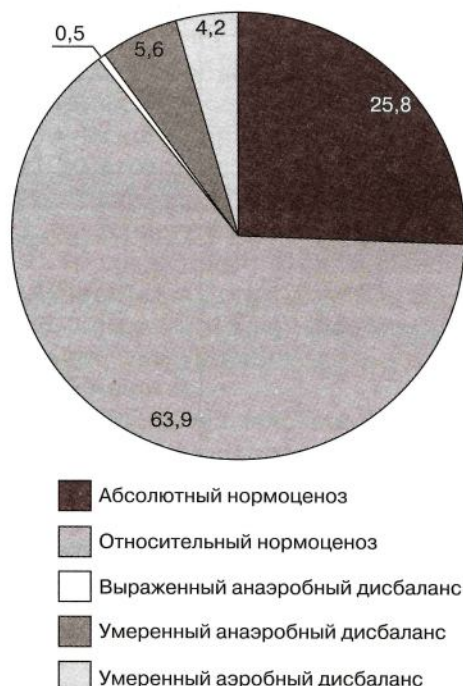
Рис. 1. Частота выявления двух основных групп облигатно-анаэробных микроорганизмов у небеременных женщин репродуктивного возраста



Atopobium vaginae, который рассматривают как маркер бактериального вагиноза наравне с *Gardnerella vaginalis*, выявляли во влагалище клинически здоровых женщин гораздо реже, чем микроорганизмы из группы *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.* У 30% женщин *Atopobium vaginae* не обнаружен и у остальных присутствовал в меньшем количестве (медиана 10^2 гз/мл по сравнению с $10^{3,7}$ гз/мл соответственно). Лишь у 5,2% женщин количество *Atopobium vaginae* было 10^4 гз/мл и выше. По-видимому, наличие *Atopobium vaginae*, менее характерно для клинически здоровых женщин по сравнению с *Gardnerella vaginalis*.

В 1-й группе нормоценоз выявили у 25,8% женщин, относительный нормоценоз — у 63,9% жен-

Рис. 2. Варианты биоценоза влагалища у женщин 1-й группы (n=230), %



щин (рис. 2). На долю выраженного анаэробного дисбаланса пришлось 0,5% случаев, в 4,6% случаев выявили умеренный анаэробный дисбаланс, в 3,6% — умеренный аэробный дисбаланс. Среди женщин с относительным нормоценозом в 18,5% случаев была обнаружена уреоплазма в количестве более 10^4 , в 66,9% — *Candida spp.*, в 14,6% — одновременно выявили уреоплазму и кандиду (рис. 3).

Среди всех клинически здоровых небеременных женщин репродуктивного возраста у 21,1% были выявлены уреоплазмы в количестве более 10^4 . С одной стороны, полученные данные подтверждают точку зрения многих исследователей о возможности персистенции уреоплазм в количествах, превышающих диагностические, во влагалище клинически здоровых женщин. С другой стороны, неизвестно, насколько устойчиво состояние относительного равновесия вагинального биоценоза при наличии в составе его уреоплазм в больших количествах. Требуется изучения вопрос о влиянии различных эндогенных и экзогенных факторов на изменения биоценоза с развитием патологических симптомов.

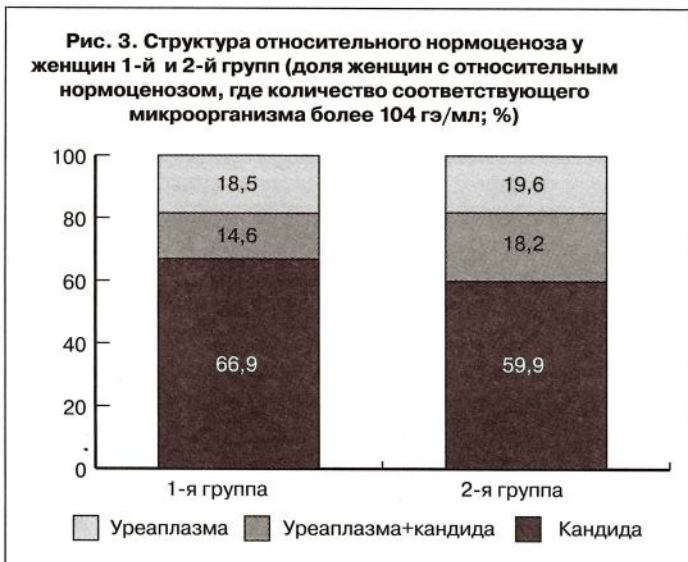
Микоплазмы, в отличие от уреоплазм, практически отсутствовали во влагалище здоровых женщин.

Грибы рода *Candida* в количестве более 10^3 гз/мл выявили у 52% женщин 1-й группы. Кандиды существуют в тех же условиях, что и лактобактерии, они не чувствительны к изменению pH и не конкурируют с нормофлорой, поэтому их интенсивное размножение не приводит к уменьшению количества лактобактерий. Исследование показало, что у части женщин присутствие этого микроорганизма в значительных количествах не приводит к появлению симптомов урогенитального кандидоза. Таким образом, интерпретацию результатов метода ПЦР-РВ необходимо проводить очень осторожно, важно учитывать клинические данные конкретной пациентки.

Во 2-й группе (беременные женщины) нормоценоз выявили у 36,3% женщин, относительный нормоценоз — у 59,8% женщин (рис. 4). На долю анаэробного дисбаланса пришлось 0,5% случаев, в 3,4% случаев выявили умеренный анаэробный дисбаланс. Структура относительного нормоценоза у беременных женщин практически не отличалась от таковой у небеременных. В 18,2% случаев относительный нормоценоз при беременности был обусловлен присутствием уреоплазм в диагностическом количестве, в 59,9% — *Candida spp.*, в 21,9% одновременно выявляли уреоплазму и кандиду.

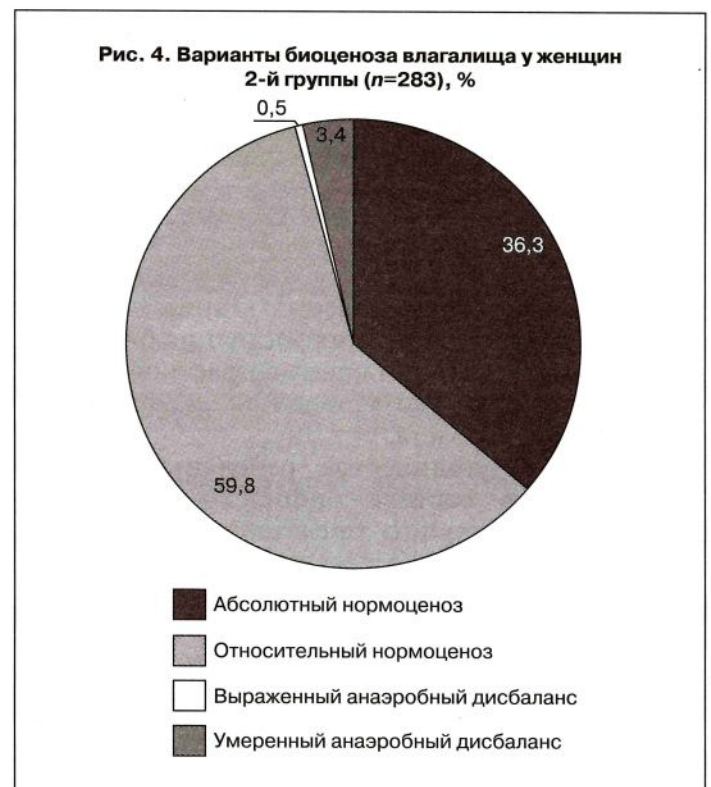
ОБМ у 90% обследованных беременных женщин находилась в диапазоне от $10^{6,6}$ до $10^{8,5}$, причем лактобактерии составляли 99,8% от суммы выделенных бактерий (табл. 2). Количество аэробных и анаэробных микроорганизмов отличалось от количества лактобактерий на несколько порядков, доля их составляла 0,027 и 0,26% соответственно.

Мы не нашли статистически достоверных различий в состоянии биоценоза влагалища у беременных и небеременных женщин. Это позволяет предположить, что качественный и количествен-



ный состав микрофлоры влагалища у клинически здоровых женщин репродуктивного возраста значимо не меняется во время беременности. Во влагалище клинически здоровых женщин репродуктивного возраста лактобактерии составляют более 99% от суммы всех определяемых микроорганизмов (табл. 3).

В период угасания репродуктивной функции и в менопаузе экология влагалища претерпевает значительные изменения, обусловленные прежде всего снижением уровня эстрогенов в организме женщины. В результате уменьшается содержание гликогена в клетках вагинального эпителия и снижается численность лактобактерий. Таким образом, изменение условий существования микроорганизмов вызывает изменение количественного и качественного состава микрофлоры влагалища.



В связи с применением стандартного подхода в интерпретации результатов исследования биоценоза влагалища методом ПЦР-РВ у большинства женщин в перименопаузе и менопаузе были получены патологические варианты заключений (рис. 5).

Абсолютный нормоценоз выявили только у 10,7% женщин 3-й группы (перименопауза) и у 15,4% женщин 4-й группы (постменопауза). Относительный нормоценоз выявили у 21,5 и 11,5% женщин 3-й

Таблица 2. Количественный состав (lg гз/мл) биоценоза влагалища клинически здоровых беременных женщин репродуктивного возраста (n=283)

Показатель	Медиана	25–75-й процентиль	05–95-й процентиль
Общая бактериальная масса	7,7	7,2–8,0	6,6–8,5
Нормофлора			
<i>Lactobacillus spp.</i>	7,6	7,1–7,9	6,4–8,4
Факультативно-анаэробные (аэробные) микроорганизмы			
Семейство <i>Enterobacteriaceae</i>	3,0	2,7–3,3	2,4–4,5
<i>Streptococcus spp.</i>	2,6	1,4–3,2	0–4,4
<i>Staphylococcus spp.</i>	2,9	2,6–3,5	1,9–4,7
Облигатно-анаэробные микроорганизмы			
<i>Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.</i>	3,7	2,5–4,3	0–5,5
<i>Eubacterium spp.</i>	3,8	3,1–4,6	0–5,9
<i>Sneathia spp./Leptotrihia spp./Fusobacterium</i>	2,3	1,7–3,0	0–3,7
<i>Megasphaera spp./Veillonella spp./Dialister spp.</i>	2,7	1,4–3,5	0–4,7
<i>Lachnobacterium spp./Clostridium spp.</i>	2,8	2,4–3,5	0–5,2
<i>Mobiluncus spp./Corynebacterium spp.</i>	3,3	2,9–4,0	2,2–4,7
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	3,2	2,4–3,8	0–4,9
<i>Atopobium vaginae</i>	2,7	1,6–3,1	0–3,8
Микоплазмы			
<i>Mycoplasma spp.</i>	0	0–0	0–2,6
<i>Ureaplasma (urealyticum + parvum)</i>	1,6	0–4,0	0–5,3
Дрожжеподобные грибы			
<i>Candida spp.</i>	3,2	2,8–3,5	2,4–4,5

Таблица 3. Медиана удельного веса лактобактерий, аэробов и анаэробов в составе вагинального биоценоза женщин репродуктивного возраста

Группа	Доля лактобактерий, %	Доля аэробов, %	Доля анаэробов, %
1-я	99,62	0,03	0,26
2-я	99,80	0,01	0,19

и 4-й группы соответственно. Таким образом, неприемлема интерпретация состояния биоценоза влагалища у женщин старшей возрастной группы с позиции нормы, характерной для женщин репродуктивного возраста.

Сведения о количестве отдельных микроорганизмов в составе биоценоза влагалища у женщин 3-й группы представлены в табл. 4, из которой видно, что у женщин в перименопаузе снижена ОБМ. Количество лактобактерий в составе биоценоза также меньше и отличается от ОБМ в 10 раз. Увеличилось количество анаэробов, преимущественно за счет *Gardnerella vaginalis* и *Eubacterium spp.* Количество уреоплазм и *Candida spp.* сопоставимо с таковым у женщин репродуктивного возраста.

По мере углубления менопаузы ОБМ продолжала снижаться, уменьшались абсолютное количество лактобактерий и их доля в составе биоценоза, происходило замещение лактобактерий анаэробными микроорганизмами. Практически отсутствовали уреоплазмы и микоплазмы, что, возможно, связано с изменившимися условиями существования. Грибы рода *Candida* выявлены преимущественно в количестве менее 10^3 гз/мл.

В табл. 5 представлены сведения о количестве отдельных микроорганизмов в составе биоценоза влагалища у женщин в постменопаузе (4-я группа, $n=26$).

В табл. 6 и 7 представлены сведения о доле лактобактерий, аэробов и анаэробов относительно суммы выделенных микроорганизмов у женщин в перименопаузе и постменопаузе.

Представленные данные свидетельствуют о том, что в постменопаузе происходит значительное вытеснение лактобактерий с заменой их преимущественно анаэробными микроорганизмами (рис. 6). Кроме того, значительную роль начинают играть аэробные и смешанные аэробно-анаэробные микробные ассоциации. Отсутствие кли-

Рис. 6. Доля лактобактерий у женщин репродуктивного возраста и в менопаузе (медиана, 5–95-й процентиль)

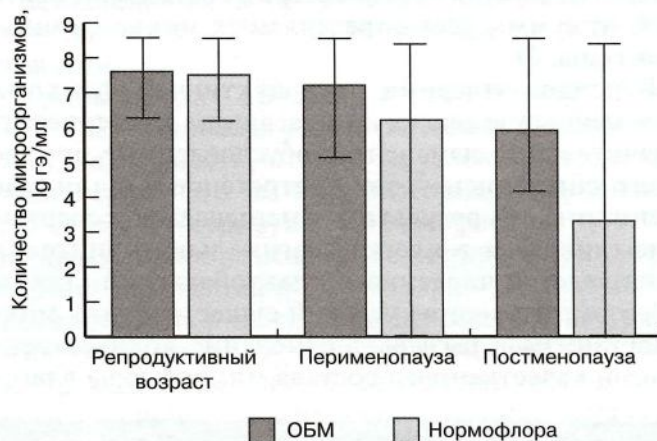


Рис. 5. Варианты биоценоза влагалища у женщин в перименопаузе (а) и постменопаузе (б), %

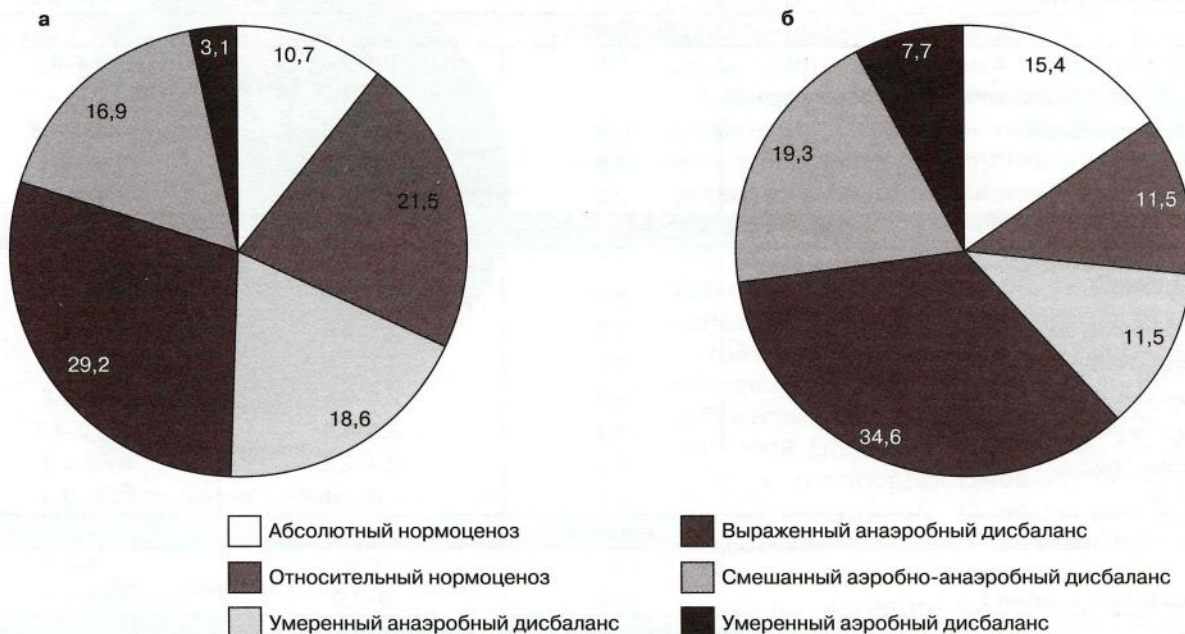


Таблица 4. Количественный состав (lg гэ/мл) биоценоза влагалища клинически здоровых женщин в перименопаузе (n=65)

Показатель	Медиана	25–75-й процентиль	05–95-й процентиль
Общая бактериальная масса	7,2	6,5–7,9	5,1–8,4
Нормофлора			
<i>Lactobacillus spp.</i>	6,2	3,6–7,6	0–8,2
Факультативно-анаэробные (аэробные) микроорганизмы			
Семейство <i>Enterobacteriaceae</i>	3,0	2,7–3,3	2,5–5,4
<i>Streptococcus spp.</i>	3,1	2,3–4,0	0–5,7
<i>Staphylococcus spp.</i>	3,0	2–3,6	1,4–4,5
Облигатно-анаэробные микроорганизмы			
<i>Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.</i>	4,9	3,9–6,1	2,5–7,3
<i>Eubacterium spp.</i>	4,7	3,4–5,9	2,2–6,4
<i>Sneathia spp./Leptotrihia spp./Fusobacterium</i>	2,6	2,1–3,5	0–5,6
<i>Megasphaera spp./Veillonella spp./Dialister spp.</i>	3,5	2,3–4,7	0–6,7
<i>Lachnobacterium spp./Clostridium spp.</i>	3,4	2,7–4,1	0,1–5,4
<i>Mobiluncus spp./Corynebacterium spp.</i>	3,5	2,85–4,4	1,82–5,8
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	3,4	2,6–4,4	0–5,8
<i>Atopobium vaginae</i>	2,6	1,6–3,7	0–6,8
Микоплазмы			
<i>Mycoplasma spp.</i>	0	0–0	0–4,3
<i>Ureaplasma (urealyticum + parvum)</i>	0	0–4,8	0–5,7
Дрожжеподобные грибы			
<i>Candida spp.</i>	3,1	2,9–3,4	2,6–4,5

Таблица 5. Количественный состав (lg гэ/мл) биоценоза влагалища клинически здоровых женщин в постменопаузе (n=26)

Показатель	Медиана	25–75-й процентиль	05–95-й процентиль
Общая бактериальная масса	6,1	5,1–7,3	4,2–8,3
Нормофлора			
<i>Lactobacillus spp.</i>	4,1	1,9–6,9	0–8,4
Факультативно-анаэробные (аэробные) микроорганизмы			
Семейство <i>Enterobacteriaceae</i>	2,7	2,5–3,2	2,3–3,7
<i>Streptococcus spp.</i>	2,8	1,5–3,9	0–5,5
<i>Staphylococcus spp.</i>	2,5	1,9–2,9	1,6–3,8
Облигатно-анаэробные микроорганизмы			
<i>Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.</i>	4,2	3,1–5,8	0,2–7,1
<i>Eubacterium spp.</i>	4,0	3,3–5,3	2,8–6,5
<i>Sneathia spp./Leptotrihia spp./Fusobacterium</i>	2,2	1,0–3,3	0–5,6
<i>Megasphaera spp./Veillonella spp./Dialister spp.</i>	2,9	1,3–4,6	0–6,2
<i>Lachnobacterium spp./Clostridium spp.</i>	2,3	1,7–3,8	0,2–4,5
<i>Mobiluncus spp./Corynebacterium spp.</i>	3,3	2,8–3,6	1,8–4,5
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	2,7	2,2–4,2	0–5,2
<i>Atopobium vaginae</i>	1,0	0–3,4	0–5,0
Микоплазмы			
<i>Mycoplasma spp.</i>	0	0	0–1,9
<i>Ureaplasma (urealyticum + parvum)</i>	0	0–3,7	0–4,9
Дрожжеподобные грибы			
<i>Candida spp.</i>	2,8	2,7–3,1	2,5–4,4

Таблица 6. Медиана удельного веса лактобактерий, аэробов и анаэробов в составе вагинального биоценоза женщин в перименопаузе (n=65)

Критерии	Доля лактобактерий, %	Доля аэробов, %	Доля анаэробов, %
Медиана	44,05	0,09	25,77
25–75-й процентиль	0,26–98,07	0,01–1,79	0,45–83,90
05–95-й процентиль	0,00–99,93	0,00–73,30	0,01–99,74

Таблица 7. Медиана удельного веса лактобактерий, аэробов и анаэробов в составе вагинального биоценоза относительно суммы всех выделенных микроорганизмов у женщин в постменопаузе (n=26)

Критерии	Доля лактобактерий, %	Доля аэробов, %	Доля анаэробов, %
Медиана	10,59	0,83	45,63
25–75-й процентиль	0,05–84,15	0,05–24,13	5,72–70,15
05–95-й процентиль	0,00–99,90	0,00–53,52	0,05–99,58

нических признаков воспалительного процесса во влагалище женщин, обследованных в перименопаузе и постменопаузе, позволяет предположить, что такой вариант биоценоза может быть возрастной нормой.

В течение всего репродуктивного (18–45 лет) возраста у женщин ОБМ сохраняется на уровне 10^7 – 10^8 , с наступлением перименопаузы количество бактерий во влагалище начинает достоверно уменьшаться и у большинства женщин определяется на уровне 10^6 – $10^{7,5}$ ($p < 0,001$). У женщин к постменопаузе этот показатель продолжает снижаться и достигает 10^5 – 10^6 .

Количество лактобактерий, определяемое на уровне 10^7 – 10^8 у большинства женщин репродуктивного возраста, в перименопаузе и постменопаузе снижается до нуля у трети женщин, еще у трети количество лактобактерий находится на уровне 10^2 – 10^3 .

Энтеробактерии в менопаузе не встречаются в количествах, превышающих 10^3 , в то время как у 10% женщин 1-й и 2-й группы эти микроорганизмы определяют в количестве 10^4 – 10^5 . Варианты биоценоза, когда энтеробактерии не были обнаружены совсем, были выявлены в единичных случаях у женщин в I триместре беременности. Во всех остальных случаях эта группа микроорганизмов присутствовала в составе биоценоза влагалища.

Максимально определяемое количество стафилококков при менопаузе не превышало 10^3 , у женщин с атрофией — 10^2 . В то же время у женщин репродуктивного возраста, как беременных, так и небеременных, определяли более высокие количества стафилококков. В единичных случаях стафилококки полностью отсутствовали в составе биоценоза, как у женщин репродуктивного возраста, так и в менопаузе.

Анализ участия группы анаэробов в формировании вагинального биоценоза выявил следующие

закономерности. Микроорганизмы, относящиеся к группам *G.vaginalis spp.*, *Eubacterium spp.*, *Mobiluncus spp.*, *Clostridium spp.*, выявлены у большинства женщин всех групп. Более высокие значения характерны для *G.vaginalis spp.* и *Eubacterium*. У женщин репродуктивного возраста частотное распределение этих микроорганизмов по абсолютному количеству не различалось для беременных и небеременных. Почти у 5% небеременных женщин репродуктивного возраста выявлены *Eubacterium spp.* и *Gargnerella* в количестве 10^6 , другие анаэробы в таких количествах не обнаруживали. В менопаузе *Eubacterium spp.* выявлены у всех женщин, в то время как *Gargnerella* в 20% случаев отсутствовала. В менопаузе достоверно увеличивается доля женщин, у которых обнаруживали *Eubacterium spp.* и *Gargnerella* в количестве 10^6 – 10^7 . *Mobiluncus spp.* присутствовали у всех женщин во время беременности и в менопаузе, и только 5% женщин 1-й группы не являлись носителями этого микроорганизма. Доля женщин с низким уровнем *Mobiluncus spp.* (10^2 – 10^3) увеличивается в менопаузе, что может быть связано с уменьшением ОБМ.

Clostridium spp. и *Peptostreptococcus spp.* встречаются у большинства женщин репродуктивного возраста и в менопаузе в умеренных количествах (10^2 – 10^4). *Megashpaera spp.* выявляли реже описанных выше групп анаэробов у женщин всех трех групп, у 25 женщин 1-й группы этот микроорганизм отсутствовал. У большинства женщин репродуктивного возраста *Megashpaera spp.* присутствовала в незначительных количествах (10^2 – 10^3). В менопаузе увеличивается доля женщин — носителей этого микроорганизма, в том числе больше доля женщин, у которых *Megashpaera spp.* обнаружены в количестве до 10^6 .

Atopobium vaginae у женщин репродуктивного возраста выявлен в небольших количествах (10^2 – 10^3), причем у небеременных женщин его обнаружива-

ли в 2 раза реже, чем у беременных. У 5% женщин в I триместре беременности этот микроорганизм определяли в количестве от $4,1$ до $4,8$ Ig, у 16% женщин в I триместре *Atopobium vaginae* отсутствовал. По мере увеличения срока беременности увеличивалась доля женщин, у которых не выявляли этот микроорганизм, достигая во II триместре 19%, а в III — 30%. У 79% женщин во II триместре беременности и у 70% женщин в III триместре *Atopobium vaginae* присутствовал в количествах менее 10^3 . У 58% женщин 3-й группы (перименопауза) и у 78% женщин 4-й группы (постменопауза) этот микроорганизм отсутствовал. Однако в случае выявления атопобиума у женщин 3-й и 4-й групп преобладали высокие количества — 10^4 – 10^6 .

Микоплазма оказалась редкой находкой у женщин всех групп. Обнаружение ее в единичных случаях и в незначительном количестве характеризует микоплазму как редкого участника вагинального биоценоза у клинически здоровых женщин. У женщин 2-й группы (беременных) этот микроорганизм выявили в 12% случаев, у большинства из них количество микоплазм не превышало 10^2 гз/мл.

Уреаплазмы обнаружены у женщин всех групп. Во всех группах доля женщин, у которых количество уреаплазм превышало 10^4 , была значительной. В том числе уреаплазмы выявлены у 58% беременных. Доля женщин, у которых количество уреаплазм было более 10^4 , в I триместре составила 22,8%, во II — 23,2%, в III — 16,2%.

Грибы рода *Candida* присутствовали у большинства обследованных женщин всех групп в количествах более 10^3 . У 10% женщин репродуктивного возраста грибы выявляли и в более значительных количествах — 10^4 – 10^5 . Аналогичные данные были получены и в группе беременных: в количестве более 10^4 гз/мл грибы рода *Candida* были обнаружены у 10,7% женщин в I триместре, у 9,3% женщин во II триместре и у 8,1% — в III. У женщин в перименопаузе грибы рода *Candida* в количестве более 10^4 – 10^5 были обнаружены в 9,2% случаев, а в постменопаузе — в 7,6% случаев. Полученные данные требуют коррекции существующих представлений о допустимых количествах грибов рода *Candida* в составе биоценоза влагалища с учетом высокой аналитической чувствительности метода.

Таким образом, современный молекулярно-биологический метод ПЦР-РВ с использованием реагента «Фемофлор» является чувствительным инструментом для исследования биотопа влагалища. Изученные группы микроорганизмов участвуют в формировании вагинального биоценоза женщин разного возраста независимо от состояния репродуктивной системы. Данные исследования, проведенного с помощью молекулярно-генетических методов, не противоречат существующим представлениям о структуре вагинальных биоценозов, значительным образом дополняя наши представления о качественном и количественном составе микробиоты. Высокая чувствительность метода

позволяет идентифицировать даже незначительные количества микроорганизмов, составляющих биоценоз.

Определяющей характеристикой нормального биоценоза является количественное взаимоотношение между нормальной флорой (лактобактериями) и условно-патогенными микроорганизмами, которое в репродуктивном возрасте определяется доминированием лактофлоры, а в перименопаузе и постменопаузе — преобладанием анаэробной флоры.

Применение молекулярно-генетических методов для выявления *Atopobium vaginae* показало, что данный микроорганизм, в отличие от *Gardnerella vaginalis*, чрезвычайно редко является компонентом нормального биоценоза.

В биоценозе влагалища клинически здоровых женщин всех групп в незначительном количестве могут присутствовать облигатно-анаэробные микроорганизмы. Факультативно-анаэробные микроорганизмы (такие как стафилококки и стрептококки) встречаются гораздо реже, чем облигатно-анаэробные микроорганизмы.

У каждой пятой женщины репродуктивного возраста выявлена уреаплазма в количестве более 10^4 гз/мл. У 10% женщин репродуктивного возраста без клинических признаков дисбиотических процессов во влагалище были обнаружены дрожжеподобные грибы в количестве более 10^4 гз/мл. Учитывая отсутствие каких-либо клинических признаков воспаления или дискомфорта, данное состояние можно рассматривать как вариант нормального биоценоза. Вопросы стабильности во времени и устойчивости к внешним воздействиям такого биоценоза требуют дополнительного исследования.

Литература

1. Анкирская А.С. Неспецифические вагиниты // Медицина для всех. — 2000. — Т. 2, № 17.
2. Кисина В.И., Забиров К.И. Урогенитальные инфекции у женщин. Клиника, диагностика, лечение. — М., 2005. — С. 276.
3. Липова Е.В., Болдырева М.Н., Трофимов Д.Ю., Витвицкая Ю.Г. Урогенитальные инфекции, обусловленные условно-патогенной биотой у женщин репродуктивного возраста (Клинико-лабораторная диагностика). Пособие для врачей. — М., 2009. — С. 30.
4. Тихомиров А.Л., Олейник Ч.Г. Бактериальный вагиноз: некоторые аспекты этиологии, патогенеза, клиники, диагностики и лечения // Гинекология. — 2004. — Т. 2. — С. 62–65.
5. Nugent R.P., Krohn M.A., Hillier S.L. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation // J. Clin. Microbiol. — 1991. — Т. 29, № 2. — С. 297–301.