УДК: 618.15-008.87:618.2-07:577.21

ВОЗМОЖНОСТИ ТЕСТ-СИСТЕМЫ «ФЕМОФЛОР-16» В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ВАГИНАЛЬНОГО МИКРОБИОМА НА РАННИХ СРОКАХ БЕРЕМЕННОСТИ

Юсупова Лола Отабоевна – базовый докторант
Курбанова Санобар Юлдашевна – к.м.н., доцент
Ташкентский государственный медицинский университет (Ташкент, Узбекистан)

Аннотация. Цель исследования. *Оценить возможности тест-системы «Фемофлор-16» в определении состояния вагинального микробиома у женщин в I триместре беременности путем сравнительного анализа состава вагинального биоценоза при физиологическом течении гестации и при воспалительных заболеваниях влагалища.*

Материалы и методы. *В исследование включены 87 беременных женщин со сроком гестации 6–11 недель, проходивших первичное акушерско-гинекологическое обследование. В зависимости от клинико-лабораторных данных были сформированы две сопоставимые группы. Первую группу составили 42 женщины с физиологическим течением беременности и нормальным состоянием вагинального микробиома, вторую — 45 беременных с клинически и лабораторно подтвержденным вагинитом. Состав вагинальной микробиомы изучали методом количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием тест-системы «Фемофлор-16».*

Результаты. *У женщин с физиологическим течением беременности общая бактериальная масса находилась в пределах $10^{7,8}$–$10^{8,0}$ ГЭ/мл и сопровождалась преобладанием Lactobacillus spp. на уровне около $10^{6,0}$ ГЭ/мл. У беременных с вагинитом выявлено статистически значимое снижение содержания Lactobacillus spp. до $10^{3,0}$ ГЭ/мл. Одновременно отмечалось увеличение концентрации облигатно-анаэробных микроорганизмов (Gardnerella vaginalis / Prevotella bivia / Porphyromonas spp., Eubacterium spp., Peptostreptococcus spp.) до $10^{4,0}$–$10^{6,0}$ ГЭ/мл, а также факультативно-анаэробной микрофлоры, включая Streptococcus spp. до $10^{4,0}$ ГЭ/мл и представителей семейства Enterobacteriaceae до $10^{3,0}$ ГЭ/мл.*

Заключение. *Полученные результаты свидетельствуют о том, что тест-система «Фемофлор-16» позволяет объективно оценивать количественный и качественный состав вагинального микробиома уже на ранних сроках беременности, выявляя начальные дисбиотические изменения. Использование данного метода может способствовать своевременному формированию групп риска по развитию инфекционно-воспалительных осложнений беременности и обоснованию дальнейшей тактики наблюдения и коррекции выявленных нарушений.*

Ключевые слова: *вагинальный микробиом, беременность, I триместр, Фемофлор-16, ПЦР в реальном времени, Lactobacillus, вагинит, дисбиоз.*

HOMILADORLIKNING ERTA MUDDATLARIDA QIN MIKROBIOMI HOLATINI BAHOLASHDA «FEMOFLOR-16» TEST TIZIMINING IMKONIYATLARI

Yusupova Lola Otaboyevna – tayanch doktorant
Kurbanova Sanobar Yuldashevna – t.f.n, dotsent
Toshkent davlat tibbiyot universiteti (Toshkent, O‘zbekiston)

Annotatsiya. Tadqiqot maqsadi. *Homiladorlikning I trimestrida ayollarda qin mikrobiomi holatini «Femoflor-16» test tizimi yordamida baholash hamda fiziologik kechayotgan homiladorlik va vaginit kuzatilgan holatlarda vaginal mikrobiotsenoz tarkibini qiyosiy tahlil qilish.*

Materiallar va usullar. *Tadqiqotga gestatsiyaning 6–11 haftasida birlamchi akusher-ginekologik ko‘rikdan o‘tgan 87 nafar homilador ayol kiritildi. Klinik va laborator ma'lumotlar asosida ikki guruh shakllantirildi. Birinchi guruhga fiziologik homiladorlik va normal vaginal mikrobiomasiga ega bo‘lgan 42 nafar ayol, ikkinchi guruhga esa klinik hamda laborator jihatdan tasdiqlangan vaginit aniqlangan 45 nafar homilador ayol kiritildi. Vaginal mikrobioma tarkibi real vaqt rejimidagi miqdoriy polimeraza zanjir reaksiyasi asosida «Femoflor-16» test tizimi yordamida o‘rganildi.*

Natijalar. *Fiziologik homiladorlik kuzatilgan ayollarda umumiy bakterial massa $10^{7,8}$–$10^{8,0}$ GE/ml diapazonida bo‘lib, Lactobacillus spp. ustunligi (taxminan $10^{6,0}$ GE/ml) bilan tavsiflandi. Vaginit aniqlangan homiladorlarda esa Lactobacillus spp. miqdori $10^{3,0}$ GE/ml gacha statistik jihatdan ishonchli kamaygani kuzatildi. Shu bilan birga Gardnerella vaginalis / Prevotella bivia / Porphyromonas spp., Eubacterium spp. hamda Peptostreptococcus spp. kabi obligat anaerob mikroorganizmlar miqdori $10^{4,0}$–$10^{6,0}$ GE/ml gacha oshgani, shuningdek Streptococcus spp. va Enterobacteriaceae vakillari sonining ham ortgani qayd etildi.*

Xulosa. *«Femoflor-16» test tizimi homiladorlikning erta muddatlaridayoq vaginal mikrobiomning sifat va miqdoriy tarkibini ishonchli baholash hamda disbiotik o‘zgarishlarni aniqlash imkonini beradi. Ushbu usulni amaliyotga joriy etish infeksion-yallig‘lanish asoratlari rivojlanish xavfi yuqori bo‘lgan homiladorlarni erta aniqlash va keyingi kuzatuv hamda profilaktik choralarni rejalashtirishga yordam beradi.*

Kalit so‘zlar: *vaginal mikrobiom, homiladorlik, I trimestr, Femoflor-16, real vaqt PZR, Lactobacillus, vaginit, disbioz.*

CAPABILITIES OF THE FEMOFLOR-16 TEST SYSTEM IN ASSESSING THE VAGINAL MICROBIOME STATUS DURING EARLY PREGNANCY

Yusupova Lola Otaboyevna – basic doctoral student
Kurbanova Sanobar Yuldashevna – C.M.Sc., associate professor
Tashkent State Medical University (Tashkent, Uzbekistan)

Abstract. Objective. *To evaluate the potential of the Femoflor-16 test system for assessing the vaginal microbiome in women during the first trimester of pregnancy by comparing the composition of the vaginal microbiota in physiological pregnancy and in inflammatory vaginal disorders.*

Materials and Methods. *The study included 87 pregnant women at 6–11 weeks of gestation who underwent primary obstetric and gynecological examination. According to clinical and laboratory findings, two comparable groups were formed. The first group consisted of 42 women with physiological pregnancy and normal vaginal microbiota, whereas the second group included 45 pregnant women with clinically and laboratory-confirmed vaginitis. Quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR) using the Femoflor-16 test system was applied to evaluate the vaginal microbiota.*

Results. *Women with physiological pregnancy demonstrated a total bacterial mass ranging from $10^{7.8}$ to $10^{8.0}$ GE/mL with predominance of Lactobacillus spp. at approximately $10^{6.0}$ GE/mL. In contrast, pregnant women with vaginitis showed a statistically significant decrease in Lactobacillus spp. to $10^{3.0}$ GE/mL accompanied by increased concentrations of obligate anaerobic microorganisms, including Gardnerella vaginalis, Prevotella bivia, Porphyromonas spp., Eubacterium spp., and Peptostreptococcus spp. ($10^{4.0}$–$10^{6.0}$ GE/mL), as well as facultative anaerobic bacteria such as Streptococcus spp. (up to $10^{4.0}$ GE/mL) and members of the Enterobacteriaceae family (up to $10^{3.0}$ GE/mL).*

Conclusion. *The findings indicate that the Femoflor-16 test system provides an objective assessment of both the qualitative and quantitative composition of the vaginal microbiome during early pregnancy and enables the detection of early dysbiotic alterations. The method may facilitate the identification of women at increased risk of infectious and inflammatory pregnancy complications and support timely clinical decision-making.*

Keywords: *vaginal microbiome, pregnancy, first trimester, Femoflor-16, real-time PCR, Lactobacillus, vaginitis, dysbiosis.*

Введение.

Состояние вагинального микробиома во время беременности рассматривается как один из ключевых факторов, определяющих сохранение репродуктивного здоровья женщины и физиологическое течение гестационного процесса [5, 15]. В настоящее время вагинальный микробиоценоз рассматривается не только как совокупность микроорганизмов, колонизирующих слизистую оболочку влагалища, но и как сложная саморегулирующаяся микробная экосистема, находящаяся в тесном взаимодействии с организмом хозяйки [25, 36]. Между компонентами микробиоты, эпителием влагалища, локальными механизмами иммунной защиты и эндокринной системой поддерживается динамическое равновесие, обеспечивающее стабильность микробного сообщества. Сохранение этого равновесия имеет важное значение для процессов имплантации, плацентации и последующего развития беременности [31].

Уже на ранних сроках беременности под влиянием возрастающей продукции эстрогенов и прогестерона в организме женщины происходят выраженные физиологические изменения как системного, так и локального характера [5, 3]. Под действием половых гормонов усиливаются пролиферация многослойного плоского эпителия влагалища, увеличение его функциональной активности и накопление гликогена в эпителиальных клетках [25, 6]. По мере физиологического обновления поверхностных слоев эпителия происходит десквамация клеток, содержащих значительное количество гликогена. Под воздействием α-амилазы материнского происхождения гликоген подвергается ферментативному расщеплению с образованием олигосахаридов и глюкозы, которые служат основным источ-

ником питательных веществ для представителей нормальной вагинальной микрофлоры [3, 18]. Наиболее благоприятные условия при этом создаются для бактерий рода *Lactobacillus*, доминирующих в составе микробиоценоза у большинства здоровых женщин репродуктивного возраста [18].

Лактобациллы используют глюкозу в процессе анаэробного гликолиза, в результате которого образуются молочная кислота и другие органические кислоты [3, 18, 19]. Это способствует поддержанию кислой среды влагалища с уровнем pH 3,8–4,5, являющейся одним из важнейших факторов стабильности нормального микробиоценоза [6, 18]. Помимо продукции молочной кислоты, представители рода *Lactobacillus* синтезируют перекись водорода, бактериоцины, лизоцим и короткоцепочечные жирные кислоты, обладающие антимикробной активностью [19]. В сочетании с конкурентной адгезией к эпителиальным клеткам эти механизмы обеспечивают колонизационную резистентность слизистой оболочки влагалища, ограничивая рост и персистенцию патогенных и условно-патогенных микроорганизмов [6, 18, 19].

Однако под влиянием неблагоприятных экзогенных и эндогенных факторов, включая стресс, ранний гестоз, экстрагенитальные заболевания и нерациональную фармакотерапию, физиологическое равновесие вагинального микробиоценоза может нарушаться [15, 27]. Снижение численности лактобактерий сопровождается ослаблением защитных свойств вагинальной микробиоты и нарушением физико-химических и иммунологических барьеров цервикального канала, что повышает вероятность восходящей бактериальной контаминации полости матки уже на ранних сроках беременности [5, 32].

Попадание условно-патогенных микроорганизмов в нижние отделы амниотической полости сопровождается активацией локального воспалительного ответа с повышенной продукцией провоспалительных цитокинов (IL-1β, IL-6, TNF-α), хемокинов и матриксных металлопротеиназ [17, 15, 24]. Развитие воспалительной реакции способствует деградации компонентов внеклеточного матрикса хориона, повреждению плодных оболочек, нарушению микроциркуляции и формированию эндотелиальной дисфункции [17, 9, 24]. По данным клинических исследований, подобные изменения ассоциированы с повышенным риском самопроизвольного прерывания беременности, образования ретрохориальных гематом, неразвивающейся беременности, отслойки хориона и других форм невынашивания на ранних сроках гестации [17, 9, 11, 12].

На протяжении длительного времени основным методом лабораторной оценки состояния микрофлоры урогенитального тракта оставалось бактериологическое исследование с использованием культуральных методов [15, 27]. Несмотря на широкое применение, классические методы микробиологического посева имеют ряд объективных ограничений [15, 14]. Значительная часть анаэробных микроорганизмов, входящих в состав вагинальной микробиоты, относится к трудно культивируемым или некультивируемым видам, для выделения которых необходимы строгие анаэробные условия, специальные питательные среды и длительная инкубация [15, 14, 28, 34]. В результате возможности культуральной диагностики оказываются ограниченными, особенно при оценке количественного состава анаэробного компонента микробиоценоза, что может приводить к получению ложноотрицательных результатов [27, 34].

Развитие молекулярно-генетических методов исследования, прежде всего полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ), существенно расширило возможности лабораторной диагностики нарушений вагинального микробиоценоза [25, 22, 28]. Использование мультиплексных тест-систем, включая «Фемофлор-16», позволило проводить не только качественное выявление отдельных микроорганизмов, но и комплексную количественную оценку состава вагинальной микробиоты [8, 22].

Применение тест-системы «Фемофлор-16» позволяет определить общую бактериальную массу, количественное содержание *Lactobacillus spp.* и других представителей нормальной микрофлоры, а также оценить уровень анаэробных и аэробных условно-патогенных микроорганизмов уже при первичном обследовании беременной женщины в I триместре [1, 23, 25]. Полученная информация способствует более полной оценке состояния вагинального микробиоценоза, своевременному выявлению дисбиотических изменений и может использоваться при выборе дальнейшей тактики наблюдения и коррекции выявленных нарушений [14].

Несмотря на достигнутые успехи в изучении вагинального микробиома, вопросы объективной оценки его состояния на ранних сроках беременности сохраняют свою актуальность. Это связано с тем, что дисбиотические изменения могут развиваться уже в I триместре гестации, нередко предшествуя появлению выраженных клинических проявлений и создавая предпосылки для развития инфекционно-воспалительных осложнений беременности. В этих условиях особое значение приобретают современные молекулярно-генетические методы диагностики, позволяющие одновременно определить количественный и качественный состав вагинальной

микробиоты, выявить ранние нарушения микробиоценоза и тем самым повысить эффективность их своевременной диагностики и последующей коррекции.

Цель настоящего исследования: оценить возможности тест-системы «Фемофлор-16» в определении состояния вагинального микробиома у женщин в I триместре беременности на основе сравнительного молекулярно-генетического анализа состава вагинального биоценоза при физиологическом течении гестации и вагините.

Материалы и методы.

Проспективное сравнительное клинико-лабораторное исследование было проведено на базе кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, а также специализированных клинико-диагностических лабораторий Ташкентского государственного медицинского университета. В исследование были включены 87 беременных женщин, обратившихся для первичного акушерско-гинекологического обследования и постановки на диспансерный учет на ранних сроках беременности (6–11 недель гестации).

После комплексного клинико-лабораторного обследования все участницы были распределены на две сопоставимые группы:

1-я группа (n=42) включала беременных с физиологическим течением гестации. При клиническом и лабораторном обследовании у них отсутствовали признаки воспалительной патологии влагалища, а состояние вагинального микробиоценоза соответствовало критериям абсолютного условного нормоценоза [1, 14].

2-я группа (n=45) состояла из беременных женщин с клиническими проявлениями вагинита (обильные патологические выделения, зуд, жжение, дискомфорт в области наружных половых органов, гиперемия слизистой оболочки влагалища). Диагноз подтверждали результаты микроскопического исследования и молекулярно-генетические признаки дисбиотических и воспалительных изменений [15, 27, 30].

Чтобы полученные результаты были максимально объективными, до начала исследования были определены критерии включения и исключения участниц [33].

Критерии включения в исследование:

а) подтвержденная прогрессирующая маточная беременность сроком 6–11 недель (по данным ультразвукового исследования и дате последней менструации);

б) отсутствие применения системных и местных антибактериальных, антимикотических, антисептических и пробиотических препаратов в течение 30 дней до забора биологического материала [21, 28];

в) подписанное пациенткой информированное добровольное согласие на участие в исследовании и обработку персональных данных в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации [33].

Критерии исключения из исследования: а) наличие инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), верифицированных методом качественной ПЦР: *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium* [14, 35];

б) тяжелая соматическая, аутоиммунная или эндокринная патология в стадии декомпенсации (сахарный диабет 1-го и 2-го типа, тяжелая тиреоидная дисфункция, системные заболевания соединительной ткани);

в) врожденные аномалии и пороки развития внутренних половых органов;

г) наличие онкологических заболеваний любой локализации;

д) отказ пациентки от участия в исследовании или проведения лабораторного обследования на любом этапе гестации.

Молекулярно-генетическое исследование:

Для оценки состояния вагинального микробиома у всех участниц исследования проводили молекулярно-генетическое исследование методом количественной полимеразной цепной реакции с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Применение данного метода позволило выполнить комплексную количественную оценку вагинального биоценоза, определить общую бактериальную массу, содержание представителей нормальной микрофлоры и количественно охарактеризовать основные группы условно-патогенных микроорганизмов, имеющих клиническое значение при нарушениях вагинального микробиома [8, 10].

Экстракцию геномной ДНК микроорганизмов и клеток вагинального эпителия выполняли с использованием набора реагентов «ПРОБА-НК» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) в соответствии с инструкцией производителя [8]. Полученную ДНК использовали в качестве матрицы для последующей амплификации методом ПЦР в режиме реального времени. Амплификацию, регистрацию и анализ результатов осуществляли на детектирующем амплификаторе DT Light-48 («ДНК-Технология», Россия) с применением тест-системы «Фемофлор-16» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) [8, 10, 28].

Согласно инструкции производителя, тест-система «Фемофлор-16» предназначена для комплексной количественной оценки состояния вагинального микробиома методом ПЦР в режиме реального времени. Принцип исследования основан на выявлении и количественном определении ДНК представителей нормальной и

условно-патогенной микрофлоры, а также геномной ДНК человека, которая используется для контроля качества взятия клинического материала. Количество регистрируемого флуоресцентного сигнала прямо пропорционально количеству образующихся продуктов амплификации, что позволяет объективно оценить количественный состав исследуемого микробиоценоза и степень выраженности дисбиотических изменений.

В соответствии с диагностическими возможностями тест-системы исследование включало количественную оценку следующих показателей [10, 20]:

- контроль взятия материала (КВМ), позволяющий оценить адекватность забора эпителиальных клеток влагалища (не менее $10^{4,0}$ ГЭ/образец);

- общая бактериальная масса (ОБМ), отражающая суммарную бактериальную обсемененность исследуемого биотопа;

- количественное содержание представителей нормальной микрофлоры *Lactobacillus spp.* [18];

- факультативно-анаэробные микроорганизмы (*Enterobacteriaceae*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*);

- облигатно-анаэробные микроорганизмы (*Gardnerella vaginalis / Prevotella bivia / Porphyromonas spp.*; *Mobiluncus spp. / Corynebacterium spp.*; *Eubacterium spp.*; *Sneathia spp. / Leptotrichia spp. / Fusobacterium spp.*; *Megasphaera spp. / Veillonella spp. / Dialister spp.*; *Lachnobacterium spp. / Clostridium spp.*; *Peptostreptococcus spp.*; *Atopobium vaginae*) [10, 28];

- дрожжеподобные грибы рода *Candida* и микроорганизмы группы микоплазм (*Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma spp.* (*U. urealyticum + U. parvum*)).

Результаты исследования выражали в абсолютных значениях геномных эквивалентов в 1 мл исследуемого материала с последующим логарифмическим преобразованием (lg ГЭ/мл). Помимо абсолютных количественных показателей рассчитывали относительное содержание отдельных групп микроорганизмов по отношению к общей бактериальной массе (Δlg), что позволяло более объективно оценить структуру вагинального микробиоценоза и выраженность выявленных дисбиотических изменений [8, 7].

Статистический анализ

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программ MedCalc v.20.1 и IBM SPSS Statistics v.26.0 (IBM Corp., США). Перед выполнением сравнительного анализа характер распределения количественных показателей оценивали с помощью критерия Шапиро—Уилка. Поскольку большинство исследуемых параметров не соответствовало нормальному распределению, результаты представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (IQR, 25-й и 75-й процентили).

Для сравнения независимых групп по количественным показателям использовали U-критерий Манна—Уитни. Анализ качественных признаков проводили с применением критерия χ^2 Пирсона или точного критерия Фишера в зависимости от ожидаемой частоты наблюдений. Статистически значимыми считали различия при значении $p < 0,05$.

Результаты исследования:

Проведённый комплексный молекулярно-генетический анализ с использованием мультиплексной ПЦР в режиме реального времени («Фемофлор-16») выявил выраженные различия в структуре вагинального микробиома у беременных женщин с физиологическим течением беременности и пациенток с клинико-лабораторными признаками вагинита на ранних сроках гестации (6–11 недель). Полученные результаты свидетельствуют о том, что развитие воспалительных изменений сопровождается не столько изменением общей бактериальной нагрузки, сколько существенной перестройкой микробного сообщества, характеризующейся снижением доли защитной лактофлоры и увеличением количества условно-патогенных микроорганизмов.

Сравнительный анализ показал, что медиана общей бактериальной массы (ОБМ) среди всех обследованных беременных женщин (n=87) составила 107.8 ГЭ/мл (IQR: 107.5–108.1 ГЭ/мл). Полученные значения соответствуют физиологическим особенностям вагинального микробиоценоза в I триместре беременности, для которого характерна высокая общая бактериальная обсеменённость слизистой оболочки влагалища, обусловленная гормонально зависимыми изменениями эпителия, усилением васкуляризации тканей и накоплением гликогена [5, 25, 20]. При этом статистически значимых различий по уровню ОБМ между группой физиологической беременности и группой вагинита выявлено не было ($p>0,05$). Данный факт указывает на то, что развитие вагинального дисбиоза связано преимущественно не с увеличением общего количества микроорганизмов, а с изменением их качественного состава и нарушением соотношения основных представителей вагинального микробиоценоза [1, 8, 20].

Подробная количественная характеристика исследованных микроорганизмов представлена в таблице 1.

Таблица 1.

Количественная характеристика вагинального микробиома методом ПЦР-РВ («Фемофлор-16») у беременных I триместра (lg ГЭ/мл)

Показатель	1-я группа (Физиологическая гестация, n=42)	2-я группа (Вагинит / Дисбиоз, n=45)	p-значение
Общая бактериальная масса (ОБМ)	$10^{8.0}$ ($10^{7.6}$–$10^{8.2}$)	$10^{7.8}$ ($10^{7.4}$–$10^{8.1}$)	>0.05
Lactobacillus spp.	$10^{6.0}$ ($10^{5.8}$–$10^{6.5}$)	$10^{3.0}$ ($10^{2.0}$–$10^{3.8}$)	<0.001
Enterobacteriaceae	$10^{2.0}$ ($10^{1.0}$–$10^{2.5}$)	$10^{3.0}$ ($10^{2.0}$–$10^{4.0}$)	>0.05
Streptococcus spp.	$10^{2.0}$ ($10^{1.5}$–$10^{2.8}$)	$10^{4.0}$ ($10^{3.2}$–$10^{4.8}$)	<0.001
Staphylococcus spp.	$10^{2.0}$ ($10^{1.0}$–$10^{2.5}$)	$10^{3.0}$ ($10^{2.0}$–$10^{3.5}$)	>0.05
Gardnerella vag. / Prevotella biv. / Porphyromonas spp.	$10^{3.0}$ ($10^{2.0}$–$10^{3.5}$)	$10^{4.0}$–$10^{6.0}$ ($10^{4.2}$–$10^{6.1}$)	<0.001
Mobiluncus spp. / Corynebacterium spp.	$10^{3.0}$ ($10^{2.0}$–$10^{3.2}$)	$10^{4.0}$–$10^{6.0}$ ($10^{4.0}$–$10^{5.8}$)	<0.001
Eubacterium spp.	$10^{3.0}$ ($10^{1.0}$–$10^{2.5)}$	$10^{4.0}$–$10^{6.0}$ ($10^{3.8}$–$10^{5.5}$)	<0.001
Peptostreptococcus spp.	$10^{3.0}$ ($10^{1.0}$–$10^{2.5}$)	$10^{4.0}$–$10^{6.0}$ ($10^{3.9}$–$10^{5.6}$)	<0.001
Fusobacterium spp.	$10^{1.0}$ ($10^{0.0}$–$10^{1.8}$)	$10^{1.0}$–$10^{3.0}$ ($10^{1.2}$–$10^{2.8}$)	>0.05
Leptotrichia spp.	$10^{2.0}$ ($10^{1.0}$–$10^{2.2}$)	$10^{2.0}$–$10^{3.0}$ ($10^{1.8}$–$10^{3.1}$)	>0.05
Mycoplasma hominis	$10^{1.0}$ ($10^{0.0}$–$10^{1.5}$)	$10^{1.0}$–$10^{3.0}$ ($10^{1.0}$–$10^{2.9}$)	>0.05
Candida spp.	$10^{3.0}$ ($10^{2.0}$–$10^{3.2}$)	$10^{3.0}$–$10^{5.0}$ ($10^{3.0}$–$10^{4.8}$)	>0.05

Полученные данные свидетельствуют о наличии отчётливых различий между исследуемыми группами практически по всем ключевым компонентам вагинального микробиома. Наиболее выраженные изменения были связаны с содержанием представителей нормальной лактофлоры и облигатно-анаэробных микроорганизмов, тогда как для части факультативно-патогенных бактерий, грибов рода *Candida* и *Mycoplasma hominis* статистически значимых различий выявлено не было.

В группе женщин с физиологическим течением беременности вагинальный микробиоценоз соответствовал критериям нормоценоза и характеризовался сохранением стабильной структуры микробного сообщества [1, 14]. Доминирующее положение занимали представители рода *Lactobacillus spp.*, медиана количественного содержания которых составила 106.0 ГЭ/мл (IQR: 105.8–106.5 ГЭ/мл). Согласно результатам количественной оценки, доля лактобацилл превышала 95–99% общей бактериальной массы (Δlg>−0.5), что соответствует физиологическому состоянию вагинального биотопа и отражает сохранность естественных механизмов колонизационной резистентности [6, 18, 31]. Представители факультативно-анаэробной и облигатно-анаэробной микрофлоры определялись преимущественно в низких концентрациях, не превышающих фоновых значений ($10^{1.0}$–$10^{3.0}$ ГЭ/мл), что свидетельствует об их нахождении под контролем доминирующей лактофлоры и отсутствии признаков выраженного дисбиотического процесса [18, 31].

Во второй группе, включавшей беременных женщин с клиническими и лабораторными проявлениями вагинита, выявлена выраженная перестройка вагинального микробиоценоза, характерная для дисбиотических нарушений [9, 18, 27]. Наиболее значимым изменением явилось резкое снижение количества *Lactobacillus spp.*: медиана данного показателя уменьшилась до $10^{3.0}$ ГЭ/мл (IQR: $10^{2.0}$–$10^{3.8}$ ГЭ/мл), а различия по сравнению с группой физиологической беременности оказались статистически высокозначимыми (p<0,001). При этом относительное содержание лактобацилл снижалось менее чем до 10% общей бактериальной массы, а у 24,4% обследованных пациенток (n=11) отмечалось практически полное исчезновение доминирующей лактофлоры (Δlg<−2.0). Подобные изменения свидетельствуют о выраженном нарушении механизмов поддержания вагинального гомеостаза и создают благоприятные условия для активного размножения условно-патогенных микроорганизмов [19, 27].

Обсуждение.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что физиологическое течение беременности в I триместре тесно связано с сохранением

стабильного состояния вагинального микробиоценоза, характеризующегося доминированием представителей рода *Lactobacillus spp.* [1, 31]. Высокая концентрация лактобацилл обеспечивает поддержание колонизационной резистентности влагалища, способствует сохранению локального иммунного гомеостаза и является одним из важнейших факторов физиологического течения ранних сроков гестации. Полученные нами данные согласуются с результатами ранее опубликованных исследований, согласно которым в условиях физиологической гиперэстрогении происходит накопление гликогена в клетках многослойного плоского эпителия влагалища, создающее благоприятные условия для роста и функциональной активности лактобацилл [25, 6, 19].

Метаболическая активность представителей *Lactobacillus spp.* сопровождается образованием молочной кислоты, обеспечивающей поддержание кислой среды влагалища (pH 3,8–4,5), а также синтезом перекиси водорода, бактериоцинов и других антимикробных соединений [3, 18, 19]. Совокупность этих механизмов препятствует колонизации слизистой оболочки условно-патогенными микроорганизмами, ограничивает их адгезию к эпителиальным клеткам и поддерживает устойчивость вагинальной экосистемы [6, 12, 31]. Именно этим, по-видимому, объясняется выявленное в настоящем исследовании преобладание лактофлоры и низкое содержание условно-патогенных микроорганизмов у женщин с физиологическим течением беременности.

В противоположность этому у беременных с клиническими проявлениями вагинита уже на ранних сроках гестации отмечалось выраженное снижение количества *Lactobacillus spp.*, сопровождавшееся увеличением содержания облигатно-анаэробных микроорганизмов, прежде всего *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia*, *Eubacterium spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, а также других представителей анаэробного комплекса [15, 27, 28]. Подобная перестройка микробиоценоза отражает нарушение механизмов естественной колонизационной резистентности влагалища и соответствует современным представлениям о патогенезе бактериального вагиноза и вагинального дисбиоза [18, 27].

Известно, что представители анаэробной микрофлоры способны продуцировать широкий спектр факторов вирулентности, включая сиалидазы, муциназы, протеазы и фосфолипазы, которые вызывают деградацию компонентов защитного слизистого барьера, нарушают целостность эпителиального слоя и создают условия для дальнейшей колонизации слизистой оболочки условно-патогенными микроорганизмами [11, 24, 34]. Нарушение барьерной функции слизистой оболочки повышает вероятность восходящего распространения инфекции, что приобретает особое значение в период формирования хориона и плаценты.

Активация воспалительного процесса сопровождается развитием локального врождённого иммунного ответа. В тканях хориона и децидуальной оболочки усиливается продукция провоспалительных цитокинов (IL-1β, IL-6, TNF-α), а также матриксных металлопротеиназ (MMP-2 и MMP-9), участвующих в ремоделировании внеклеточного матрикса [17, 24, 35]. Чрезмерная активация этих механизмов рассматривается как один из важных патогенетических факторов формирования ретрохориальных гематом, нарушения процессов плацентации, раннего невынашивания беременности и других акушерских осложнений [17, 9, 11, 12, 35].

Полученные результаты также показали, что наиболее выраженные изменения касались именно тех групп микроорганизмов, которые недостаточно эффективно выявляются при использовании традиционных культуральных методов исследования. Это относится прежде всего к большинству облигатно-анаэробных бактерий, включая *Atopobium vaginae*, играющих существенную роль в формировании устойчивых полимикробных ассоциаций и бактериальных биоплёнок [15, 14, 34, 36]. Данное обстоятельство подтверждает диагностические преимущества молекулярно-генетических методов исследования при комплексной оценке состояния вагинального микробиоценоза у беременных женщин.

Использование тест-системы «Фемофлор-16», основанной на количественной ПЦР в режиме реального времени, позволяет одновременно определить общую бактериальную массу, количественное содержание представителей нормальной и условно-патогенной микрофлоры, а также объективно оценить характер дисбиотических изменений [8, 10, 22]. Такой подход обеспечивает возможность дифференцировать анаэробный дисбиоз, аэробный вагинит, смешанные формы инфекционного процесса и сочетание бактериальной и грибковой инфекции, что имеет важное значение для выбора дальнейшей лечебной тактики [8, 10, 16, 27, 30].

Таким образом, результаты настоящего исследования подтверждают высокую диагностическую ценность количественной ПЦР в режиме реального времени с использованием тест-системы «Фемофлор-16» при оценке состояния вагинального микробиоценоза у беременных

женщин в I триместре. Комплексная количественная характеристика вагинальной микробиоты позволяет выявлять дисбиотические нарушения на ранних этапах их формирования, объективно оценивать степень изменений вагинального микробиоценоза и обосновывать выбор рациональной тактики ведения пациенток, направленной на профилактику восходящей инфекции и снижение риска связанных с ней акушерских осложнений [12, 14, 16].

Заключение.

Проведённое исследование показало, что вагинальный микробиоценоз при физиологическом течении беременности в I триместре характеризуется стабильным качественным и количественным составом микробиоты. Для физиологического нормоценоза характерны высокая общая бактериальная масса ($10^{8.0}$ ГЭ/мл), количественное преобладание *Lactobacillus spp.* ($10^{6.0}$ ГЭ/мл) и минимальное содержание условно-патогенных аэробных и анаэробных микроорганизмов, что отражает сохранение колонизационной резистентности вагинального биотопа.

У беременных женщин с вагинитом уже на ранних сроках гестации (6–11 недель) выявлены выраженные дисбиотические изменения вагинального микробиоценоза, сопровождавшиеся статистически значимым снижением количества *Lactobacillus spp.* до $10^{3.0}$ ГЭ/мл и ниже ($p < 0,001$). На этом фоне наблюдалось достоверное увеличение содержания облигатно-анаэробных микроорганизмов (*Gardnerella vaginalis / Prevotella bivia / Porphyromonas spp.*, *Mobiluncus spp.*, *Eubacterium spp.*, *Peptostreptococcus spp.*) до $10^{4.0}$–$10^{6.0}$ ГЭ/мл ($p < 0,001$), повышение концентрации *Streptococcus spp.* до $10^{4.0}$ ГЭ/мл ($p < 0,001$), а у 18,0% пациенток отмечался клинически значимый рост *Candida spp.* до $10^{5.0}$ ГЭ/мл и выше, что свидетельствует о полимикробном характере нарушений вагинального микробиоценоза.

Использование количественной ПЦР в режиме реального времени с применением тест-системы «Фемофлор-16» обеспечивает объективную комплексную оценку состояния вагинального микробиоценоза, позволяя одновременно определить общую бактериальную массу, количественное содержание представителей нормальной и условно-патогенной микрофлоры, а также выявить нарушения микробиоценоза, обусловленные как культивируемыми, так и труднокультивируемыми микроорганизмами.

Полученные результаты подтверждают высокую диагностическую ценность тест-системы «Фемофлор-16» при обследовании беременных женщин в I триместре. Комплексная количественная оценка вагинальной микробиоты позволяет выявлять дисбиотические изменения на ранних этапах их развития, объективно оценивать степень нарушения вагинального микробиоценоза и может служить дополнительным инструментом для своевременного принятия клинических решений, направленных на профилактику инфекционно-воспалительных осложнений беременности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аполихина И.А., Тарнаева Л.А. «Пробиотики в практике гинеколога: новая глава в лечении вагинальных инфекций и дисбиозов» // Фарматека (Pharmateca). — 2024. — № 4. — С. 34–43. DOI: 10.18565/pharmateca.2024.4.34-43

2. Воропаева Н.М., Белькова Н.Л., Немченко У.М. и др. «Микроорганизмы, ассоциированные с бактериальным вагинозом: разнообразие и клинико-диагностическое значение» // Acta Biomedica Scientifica. — 2021. — Т. 6, № 3. — С. 17–30. DOI: 10.29413/ABS.2021-6.3.2

3. Горбунова Е.А., Аполихина И.А. «К вопросу о диагностике и лечению рефрактерных и рецидивирующих вагинозов и вагинитов в практике гинеколога» // Медицинский совет. — 2024. — Т. 18, № 4. — С. 75–82. DOI: 10.21518/ms2024-061

4. Горбунова О.В., Заричанская Х.В., Щербинская О.С. и др. «Биоценоз влагалища и современные подходы к коррекции вагинальных дисбиозов (обзор литературы)» // Репродуктивное здоровье женщины. — 2023. — № 5 (68). — С. 69–81. DOI: 10.30841/2708-8731.5.2023.293301

5. Oganyan K.A., Krysanova A.A., Savicheva A.M., Bespalova O.N., Kogan I.Yu. «Бактериальный вагиноз как фактор неблагоприятных исходов беременности» // Журнал акушерства и женских болезней. — 2023. — Т. 72, № 6. — С. 129–138. DOI: 10.17816/JOWD632218

6. Радзинский В. Е., Ордиянц И. М. Вагинальный микробиом и репродуктивное здоровье женщины: современные представления // Акушерство, гинекология и репродукция. — 2022. — Т. 16, № 6. — С. 620–631. — DOI: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2022.321.

7. Румянцева Т. А., Гущин А. Е., Савичева А. М. Молекулярно-генетические методы исследования микробиоценоза урогенитального тракта женщин // Клиническая лабораторная диагностика. — 2022. — Т. 67, № 4. — С. 215–222. — DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-4-215-222.

8. Стрижаков А. Н., Игнатко И. В. Современные подходы к диагностике нарушений вагинального микробиоценоза при беременности // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. — 2023. — Т. 22, № 1. — С. 15–25.

9. Тютюнник В. Л., Кан Н. Е., Ломова Н. А. Вагинальные инфекции при беременности: современные подходы к диагностике и терапии // Акушерство и гинекология. — 2023. — № 7. — С. 132–139.

10. Хаютин Л. В. Оценка прогностических возможностей молекулярно-генетического анализа микробиоты влагалища при высоком риске преждевременных родов: дис. … канд. мед. наук. — Екатеринбург, 2024. — 148 с.

11. Amabebe E., Anumba D. O. C. The Vaginal Microenvironment: The Physiologic Role of Lactobacilli // Frontiers in Medicine. — 2018. — Vol. 5. — Article 181. — DOI: 10.3389/fmed.2018.00181.

12. Brotman R. M., Shardell M. D., Gajer P., Fadrosh D., Chang K., Silver M. I., Viscidi R. P., Burke A. E., Ravel J. Association between the Vaginal Microbiota, Menopause Status, and Signs of Vaginal Atrophy // Menopause. — 2018. — Vol. 25, No. 11. — P. 1321–1330. — DOI: 10.1097/GME.0000000000001236.

13. Cason P., Fettweis J. M. Assessing the Composition of Vaginal Microbiota by Quantitative Real-Time PCR // Methods in Molecular Biology. — 2021. — Vol. 2301. — P. 115–128. — DOI: 10.1007/978-1-0716-1391-5_8.

14. Cauci S., Culhane J. F. High Sialidase Activity in Vaginal Fluid Is Associated with Preterm Birth and Altered Vaginal Flora in Early Pregnancy // American Journal of Obstetrics and Gynecology. — 2020. — Vol. 222, No. 4. — P. 351.e1–351.e10.

15. Chen X., Lu Y., Chen T., et al. The Normal Vaginal Microbiome During Pregnancy and Its Alterations in Gestational Disorders // Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. — 2021. — Vol. 11. — Article 699402. — DOI: 10.3389/fcimb.2021.699402.

16. Chee W. J. Y., Chew S. Y., Than L. T. L. Vaginal Microbiota and the Potential of Probiotics in Maintaining Vaginal Health // Microbial Cell Factories. — 2020. — Vol. 19, No. 1. — Article 203. — DOI: 10.1186/s12934-020-01464-4.17. Donders G.G.G., Bellen G., Mendling W. Management of recurrent bacterial vaginosis as a chronic polymicrobial biofilm infection // American Journal of Obstetrics and Gynecology. — 2022. — Vol. 227, No. 6. — P. 847–857. DOI: 10.1016/j.ajog.2022.06.023.18. Fettweis J. M., Serrano M. G., Brooks J. P., Edwards D. J., Girerd P. H., Parikh H. I., et al. The Vaginal Microbiome and Preterm Birth // Nature Medicine. — 2019. — Vol. 25, No. 6. — P. 1012–1021. — DOI: 10.1038/s41591-019-0450-2.

19. Freitas A. C., Chaban B., Bocking A., Rocco M., Yang S., Hill J. E., Money D. M. The Vaginal Microbiome of Pregnant Women Is Less Rich and Diverse, with Lower Prevalence of Mollicutes, Compared to Non-Pregnant Women // Scientific Reports. — 2017. — Vol. 7. — Article 9212. — DOI: 10.1038/s41598-017-07790-9.

20. Gerson K. D., Anton L., Ferguson B., Elovitz M. A. Cervicovaginal Microbial Dysbiosis, Inflammation and Adverse Pregnancy Outcome // American Journal of Reproductive Immunology. — 2022. — Vol. 87, No. 3. — Article e13511. — DOI: 10.1111/aji.13511.

21. Gudnadottir U., Debelius J. W., Du J., et al. The vaginal microbiome and the risk of preterm birth: a systematic review and meta-analysis // BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology. — 2022. — Vol. 129, No. 8. — P. 1235–1243.

22. Jahic M., Mulavdic M., Hadzimehmedovic A., et al. Aerobic vaginitis and bacterial vaginosis in pregnancy // Medical Archives. — 2018. — Vol. 72, No. 3. — P. 205–208.

23. Kalia N., Singh J., Kaur M. Microbiota in Vaginal Health and Pathogenesis of Reproductive Tract Infections // Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. — 2022. — Vol. 12. — Article 792397.

24. Kindinger L. M., MacIntyre D. A., Lee Y. S., et al. Relationship between vaginal microbial dysbiosis, inflammation, and pregnancy outcomes in women at high risk of spontaneous preterm birth // Microbiome. — 2017. — Vol. 5. — Article 6.

25. Mendling W., Palmeira-de-Oliveira R., Biber S., Prasauskas V. An Update on the Role of Lactobacillus in the Vaginal Ecosystem and Implications for Pregnancy // Journal of Clinical Medicine. — 2023. — Vol. 12, No. 5. — Article 1945. DOI: 10.3390/jcm12051945.

26. Muzny C.A., Cerca N., Elnaggar J.H., et al. State of the Art for Diagnosis of Bacterial Vaginosis // Journal of Clinical Microbiology. — 2023. — Vol. 61, No. 8. — Article e00837-22. DOI: 10.1128/JCM.00837-22.

27. Pino A., Bartolo E., Caggia C., et al. Detection of vaginal Lactobacillus species by culture-independent methods and association with pregnancy outcome // Archives of Gynecology and Obstetrics. — 2021. — Vol. 303, No. 2. — P. 397–405.28. Ravel J., Moreno I., Simón C. Bacterial vaginosis and its association with the human microbiome // American Journal of Obstetrics and Gynecology. — 2021. — Vol. 224, No. 3. — P. 267–274.29. Savicheva A. M., Krysanova A. A., Budilovskaya O. V., Shalepo K. V., Kogan I. Yu., Bespalova O. N. Vaginal Microbiota Molecular Profiling in Women with Bacterial Vaginosis: A Novel Diagnostic Tool // International Journal of Molecular Sciences. — 2023. — Vol. 24, No. 21. — Article 15880. — DOI: 10.3390/ijms242115880.

30. Saraf V. S., Sheikh S. A., Ahmad A., et al. Vaginal microbiome dysbiosis and its association with pregnancy outcomes // Microbial Pathogenesis. — 2021. — Vol. 150. — Article 104711.

31. Swidsinski A., Mendling W., Loening-Baucke V., et al. Adherent biofilms in bacterial vaginosis // Obstetrics & Gynecology. — 2005. — Vol. 106, No. 5. — P. 1013–1023.

32. van de Wijgert J. H. H. M., Verwijs M. C. Lactobacilli-containing vaginal probiotics to cure or prevent bacterial or fungal vaginal dysbiosis: a systematic review and recommendations for future trial designs // BMC Women's Health. — 2020. — Vol. 20. — Article 204.

33. von Elm E., Altman D. G., Egger M., et al. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: Guidelines for Reporting Observational Studies // Annals of Internal Medicine. — 2007. — Vol. 147, No. 8. — P. 573–577.

34. Walsh C. J., Fischer K. L., Cho I. The Vaginal Microbiome: Health and Disease // Trends in Microbiology. — 2020. — Vol. 28, No. 4. — P. 283–294.

35. Witkin S. S., Linhares I. M. Why do lactobacilli dominate the human vaginal microbiota? // BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology. — 2017. — Vol. 124, No. 4. — P. 606–611.

36. Workowski K. A., Bachmann L. H., Chan P. A., et al. Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines, 2021 // MMWR Recommendations and Reports. — 2021. — Vol. 70, No. 4. — P. 1–187.