

АНАЭРОБНЫЙ ДИСБИОЗ ЦЕРВИКАЛЬНОГО КАНАЛА КАК ФАКТОРА РИСКА ПРЕЖДЕВРЕМЕННОГО РАЗРЫВА ПЛОДНЫХ ОБОЛОЧЕК

М.А. Каганова¹, Н.В. Спиридонова¹, В.А. Петянова², Н.Г. Денисова², С.В. Сыресина², М.Г. Петров², Н.А. Родионова², Л.С. Инюшева²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия;

² Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Самарской области «Самарская городская клиническая больница № 1 им. Н.И. Пирогова», Самара, Россия

Как цитировать: Каганова М.А., Спиридонова Н.В., Петянова В.А., Денисова Н.Г., Сыресина С.В., Петров М.Г., Родионова Н.А., Инюшева Л.С. Анаэробный дисбиоз цервикального канала как фактора риска преждевременного разрыва плодных оболочек // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 1–2. С. 100–109. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.1.100-109>

Поступила: 19.01.2021

Одобрена: 12.02.2021

Принята: 10.03.2021

▪ **Цель исследования** — с помощью ПЦР-РВ анализа мазка цервикального канала выявить наиболее значимые предикторы преждевременного разрыва плодных оболочек при доношенной беременности.

Материалы и методы. На базе ГБУЗ ГКБ № 1 им. Н.И. Пирогова Самары было проведено исследование мазка цервикального канала методом ПЦР-РВ с использованием стандартной панели «Фемофлор-16». В исследовании участвовали 47 беременных в сроке 37–41 неделя, из них 19 беременных без преждевременного разрыва плодных оболочек, которые составили группу контроля, и 28 беременных, включенных в основную группу, с преждевременным разрывом плодных оболочек. По результатам исследования были построены деревья классификации, из которых были вычленены наиболее значимые факторы риска.

Результаты. При построении деревьев классификации были выявлены следующие факторы риска преждевременного разрыва плодных оболочек при доношенной беременности: количество *Lactobacillus* spp. менее 99,3 % (чувствительность 75 %, специфичность 68 %); совокупная анаэробная микрофлора выше 0,55 % (чувствительность 71 %, специфичность 68 %), *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas* spp. более 0,08 % (чувствительность 64,3 %, специфичность 73,7 %) и *Megasphaera* spp. / *Veilonella* spp. / *Dialister* spp. более 0,06 % (чувствительность 66,7 %, специфичность 52,6 %). При выявлении хотя бы одного из вышеперечисленных критериев пациенток относят к группе высокого риска по преждевременному излитию околоплодных вод, при учете всех четырех показателей распределения микроорганизмов чувствительность метода составляет 85,5 %, специфичность — 68,4 %, прогностическая ценность положительного и отрицательного результатов диагностики (точность модели) равнялись 78,7 %.

Выводы. Наиболее прогностически значимыми факторами риска для развития преждевременного разрыва плодных оболочек при исследовании микробиоты цервикального канала являются: количество *Lactobacillus* spp. менее 99,3 %; *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas* spp. более 0,08 %; *Megasphaera* spp. / *Veilonella* spp. / *Dialister* spp. более 0,06 %.

▪ **Ключевые слова:** беременность; преждевременное излитие околоплодных вод; фемофлор; микрофлора цервикального канала; полимеразная цепная реакция; ДНК-технологии.

ANAEROBIC DYSBIOSIS OF THE CERVICAL CANAL AS A RISK FACTOR FOR PREMATURE RUPTURE OF MEMBRANES

M.A. Kaganova¹, N.V. Spiridonova¹, V.A. Petyanova², N.G. Denisova², S.V. Syresina², M.G. Petrov², N.A. Rodionova², L.S. Inyusheva²

¹ Samara State Medical University, Samara, Russia;

² Samara City Clinical Hospital No. 1 named after N.I. Pirogov, Samara, Russia

To cite this article: Kaganova MA, Spiridonova NV, Petyanova VA, Denisova NG, Syresina SV, Petrov MG, Rodionova NA, Inyusheva LS. Anaerobic dysbiosis of the cervical canal as a risk factor for premature rupture of membranes. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhya*. 2021;(1-2):100–109. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.1.100-109>

Received: 19.01.2021

Revised: 12.02.2021

Accepted: 10.03.2021

▪ **BACKGROUND:** To identify the most significant predictors of premature rupture of membranes in full-term pregnancy with the use of RT-PCR analysis of cervical canal smear.

MATERIALS AND METHODS: On the basis of City Clinical Hospital No. 1 named after N.I. Pirogov (Samara), a cervical smear was examined by RT-PCR using a standard panel “Femoflor-16”. The study involved 47 pregnant women at 37-41 weeks of gestation: the control group consists of 19 pregnant women without premature rupture of the membranes (PROM), and 28 pregnant women with PROM, were included in the main group. The most significant risk factors of PROM were revealed with the use of the Classification Trees.

RESULTS: The following risk factors of PROM were identified: the number of *Lactobacillus* spp. less than 99.3% (sensitivity 75%, specificity 68%); total anaerobic microflora above 0.55% (sensitivity 71%, specificity 68%), *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas* spp. more than 0.08% (sensitivity 64.3%, specificity 73.7%) and *Megasphaera* spp. / *Veillonella* spp. / *Dialister* spp. more than 0.06% (sensitivity 66.7%, specificity 52.6%). If at least one of the above criteria was identified, the patient was attributed to the high risk group for PROM; when all four indicators of the distribution of microorganisms are taken into account, the sensitivity of the method was 85.5%, specificity was 68.4%, the predictive value of positive and negative diagnostic results (models accuracy) were 78.7%.

CONCLUSIONS: The most prognostically significant risk factors for the development of PROM in the study of the cervical microbiota are the number of *Lactobacillus* spp. less than 99.3%; *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas* spp. more than 0.08%; *Megasphaera* spp. / *Veillonella* spp. / *Dialister* spp. more than 0.06%.

▪ **Keywords:** pregnancy; premature rupture of membrane; femoflor; microflora of the cervical canal; polymerase chain reaction; DNA technology.

Обоснование

Преждевременное излитие околоплодных вод как минимум за час до начала родов встречается, по данным различных авторов, от 2,7 до 17 % случаев [11, 26]. Преждевременный разрыв плодных оболочек (ПРПО) при доношенной беременности ассоциирован с высоким процентом аномалий родовой деятельности, дистресса плода, родового травматизма, септических осложнений как для матери, так и для новорожденного [26]. Развитие вышеперечисленных осложнений при ПРПО, а также отказ пациенток от подготовки шейки матки, либо ее неэффективность, увеличение продолжительности родов и неготовность рожениц к такой продолжительности родов приводят к увеличению процента кесаревых сечений у данного контингента пациенток и, как правило, это первородящие пациентки. Соответственно, решение проблемы ведения рожениц с ПРПО при доношенной беременности позволит сократить процент кесаревых сечений, а также снизить материнскую и перинатальную заболеваемость.

Связь инфекционного фактора ПРПО при недоношенной беременности доказана большим количеством работ [14, 21, 23, 24]. Современные исследования демонстрируют как одну из ведущих причин преждевременного излития околоплодных вод воспалительные изменения околоплодных оболочек за счет восходящей инфекции [10]. Анализ микрофлоры влагалища и цервикального канала у пациенток с родовым излитием позволит объяснить роль микробного фактора в реализации ПРПО при доношенной беременности.

В отечественной и зарубежной литературе предложены методические рекомендации по исследованию вагинальной микрофлоры, в которых разработаны критерии нормы и инфекционной патологии [5, 12]. Способ интегральной оценки состояния микробиоты влагалища и диагностика оппортунистических вагинитов [1] позволяют установить видовой состав эробных, факультативно- и облигатно-анаэробных бактерий, микроаэрофилов, в том числе лактобацилл, а также дрожжевых грибов рода *Candida*. В литературе описаны изменения биоценоза влагалища у пациенток с ПРПО при доношенной беременности [3], однако не представлены четкие критерии содержания отдельных видов микроорганизмов при данной патологии для более близкорасположенной к плоду топике — цервикального канала.

На основании количественной оценки роста микроорганизмов на питательных средах определяется их этиологическая значимость. Разработаны критерии нормы вагинальной микробиоты у женщин репродуктивного возраста: общая микробная обсемененность не превышает 10^6 – 10^8 КОЕ/мл; абсолютное преобладание лактобацилл; условно-патогенные микроорганизмы определяются в низком титре (менее 10^4 КОЕ/мл) или отсутствуют [12]. Также приведены характеристики различных нарушений вагинальной микрофлоры (бактериальный вагиноз (БВ), кандидозный вагинит (КВ), сочетание БВ и КВ, бессимптомное носительство грибов, неспецифический (аэробный) вагинит, мезоценоз, цитолитический вагиноз, вагинальная эпителиальная

атрофия [15]. Однако вышеописанные критерии разработаны для оценки вагинального биотопа и не учитывают особенности микрофлоры слизистой оболочки цервикального канала, который является основным барьером, отделяющим плодные оболочки от внешней среды.

В последние годы появился новый подход к исследованию условно-патогенной микрофлоры — метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме «реального времени» «Фемофлор-16», который дает возможность исследовать микрофлору и оценить степень и характер дисбаланса микробиоты влагалища. Ближайший аналог предлагаемого способа — метод диагностики дисбаланса микробиоты различных биотопов человека и степени его выраженности [16]. Суть метода ПЦР в режиме «реального времени» заключается в том, что в исследуемой биопробе определяют общее число геномов микроорганизмов, характерных для конкретного биотопа, число геномов нормобиоты и условно-патогенной биоты. Полученные величины сопоставляют между собой, определяют соотношение числа нормобиоты относительно числа геномов условно-патогенной биоты в 1000 раз, констатируют отсутствие дисбаланса в составе микрофлоры, оценивая данный показатель как вариант нормы. При значении данного показателя менее чем в 1000 раз, диагностируют дисбаланс и устанавливают степень его выраженности путем определения соотношения между числом геномов нормобиоты и общим числом геномов микроорганизмов, присутствующих в исследуемой пробе, а также между числом геномов условно-патогенной биоты и нормобиоты. При снижении числа геномов нормобиоты относительно общего числа геномов микроорганизмов в 10–100 раз и снижении числа геномов условно-патогенной биоты относительно числа геномов нормобиоты в 100–1000 раз устанавливают легкую степень дисбаланса. При превышении числа геномов нормобиоты относительно общего числа геномов микроорганизмов более чем в 100 раз и превышении числа геномов условно-патогенной биоты относительно числа геномов нормобиоты в 10 раз и более этой величины устанавливают выраженную степень дисбаланса. В основу способа положена предлагаемая авторами комплексная оценка микробиоты человека методом ПЦР в «реальном времени» с проведением сравнительного анализа конкретных представителей нормо- и условно-патогенной биоты с общим количеством микроорганизмов с целью определения дисбаланса биоты, степени его выраженности

при условии контролирования качества получения исследуемой биопробы. Недостатком метода является отсутствие учета особенностей микробного пейзажа слизистой оболочки цервикального канала, вариантов нормы распределения различных биотопов в цервикальном канале, с указанием конкретных групп микроорганизмов, что затрудняет его использование для этиологической диагностики патологических процессов в шейке матки, связанных с преждевременным излитием околоплодных вод.

Цель исследования — с помощью ПЦР-РВ анализа мазка цервикального канала выявить наиболее значимые предикторы преждевременного разрыва плодных оболочек при доношенной беременности.

Материалы и методы

На базе родовых отделений ГБУЗ ГКБ № 1 им. Н.И. Пирогова Самары в исследование включены 47 пациенток со сроком беременности 37–42 нед. Из них основную группу с ПРПО составили 28 пациенток и 19 пациенток вошли в группу контроля с интактными плодными оболочками. Все пациентки были родоразрешены путем операции кесарева сечения. В группе контроля родоразрешение выполнялось в плановом порядке (показаниями к операции были неправильное положение и предлежание плода, наличие рубца на матке после предыдущего кесарева сечения, бесплодие в сочетании с отягощенным акушерским анамнезом, возраст), в группе с ПРПО показания были те же, но операция выполнена в срочном порядке не позднее 6 ч с момента излития околоплодных вод, при условии отсутствия родовой деятельности и неподготовленных родовых путях.

Критерии исключения:

- 1) беременные, относящиеся к группе высокого риска, согласно порядку оказания помощи по профилю: «Акушерство и гинекология» № 572 от 01.11.2012 г., по соматической патологии (сахарный диабет, гестационный диабет), особенностям плацентации и акушерской патологии (преэклампсия, плацентарная недостаточность);
- 2) наличие острых и обострений хронических воспалительных заболеваний, в том числе наличие кольпита во время беременности;
- 3) антибактериальная терапия при беременности.

Мазки из цервикального канала брали у пациенток перед операцией. Исследование содержимого цервикального канала выполняли методом ПЦР с детекцией результатов

в режиме реального времени (Фемофлор-16) и применением детектирующего амплификатора ДТ-96 производства ООО «НПО ДНК-Технология» (РУ ФСР 2009/04663, патент № 2362808 от 13.02.08). Исходно методика Фемофлор-16 была разработана для оценки состояния влагалища, а нами была использована с целью оценки микробного пейзажа цервикального канала. Данная технология предусматривает анализ биоты различных биотопов, в том числе и цервикального канала [2, 9], включающего определение микроорганизмов: *Lactobacillus* spp., *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas* spp., *Eubacterium* spp., *Sneathia* spp. / *Leptotrichia* spp. / *Fusobacterium* spp., *Megasphaera* spp. / *Veillonella* spp. / *Dialister* spp., *Lachnobacterium* spp. / *Clostridium* spp., *Mobiluncus* spp. / *Corynebacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Atopobium vaginae*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma (urealyticum + parvum)*, *Candida* spp. Результат исследования выдается либо в десятичных логарифмах соответствующих количеству ГЭ/образец, либо в процентном соотношении по общей бактериальной массе (ОБМ).

Статистический анализ. Обработку результатов исследования проводили с помощью программы Statistica 10.0, SPSS 13. Для описания количественных данных использована медиана (*Me*), а в качестве интервальной оценки — верхний (Q_1) и нижний (Q_3) квартили, так как исследуемые выборки не подчиняются закону нормального распределения (несоответствие нормальному распределению определено методом Шапиро – Уилка), к количественным переменным относились натуральные логарифмы содержания различных видов микроорганизмов в анализе ПЦР в режиме реального времени. Остальные признаки относились к бинарным качественным переменным по типу есть/нет, частоты приведены в абсолютных числах и процентах. Анализ качественных признаков проводили с помощью таблиц сопряженности, с применением критерия хи-квадрат либо двустороннего критерия Фишера. Построение деревьев классификации выполнено с помощью модуля Classification and Regression Trees (CART). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования. Исследуемые группы были сопоставимы между собой по возрасту ($32,2 \pm 5,4$ и $31,0 \pm 5,3$ года; $T = 0,73$; $p = 0,46$), паритету родов (число первородящих в основной группе — 51,6 %, в контрольной — 36,8 %, $p = 0,14$) и беременностей ($2,29 \pm 1,21$ и $2,47 \pm 1,71$; $T = -0,44$; $p = 0,79$).

Средний срок гестации в основной группе был ниже ($38,2 \pm 0,92$ нед.), чем в контрольной группе ($39,3 \pm 0,65$ нед.; $T = -4,74$; $p = 0,000$). Результаты анализа ПЦР-РВ образцов плаценты представлены в табл. 1.

Основные представители нормофлоры отделяемого влагалища у здоровых женщин репродуктивного возраста — это представители рода *Lactobacillus* spp. В норме на долю H_2O_2 продуцирующих *Lactobacillus* spp. приходится от 80 до 100 % всех микроорганизмов (по: Nugentatal, 1991; А.Л. Тихомиров, Ч.Г. Олейник, 2004). У здоровых женщин абсолютное количество *Lactobacillus* spp. практически не отличается от общего количества бактерий, то есть составляет 10^6 – 10^8 [1]. Наличие *Lactobacillus* spp. в цервикальном канале также является вариантом нормы и в процентном соотношении должно преобладать над другими микроорганизмами (более 80 %). В нашем случае абсолютное количество *Lactobacillus* spp. было ниже в основной группе (медиана $10^{5,8}$), чем в контрольной — $10^{7,6}$ ($p = 0,000$). В 2 случаях (10 %) в основной группе *Lactobacillus* spp. выявлены не были.

ОБМ в основной группе составила 6,0 (5,3; 6,5) в ГЭ/образец, что значимо ниже, чем в контрольной — 7,5 (7,0; 8,1) ГЭ/образец ($p < 0,001$). На первом месте по частоте выявления были *Staphylococcus* spp. в контрольной группе — 16 (84 %), в основной — 13 (46,4 %, $p = 0,008$). Несмотря на то что в контрольной группе различные виды *Staphylococcus* spp. выделялись чаще, но при этом в более низком абсолютном количестве, поэтому на фоне преобладания *Lactobacillus* spp. данные результаты были отнесены к варианту нормы.

Частота выявления представителей семейств *Enterobacteriaceae* spp., *Streptococcus* spp. была сопоставима в группах: 6 (21,4 %) и 7 (25 %) в основной группе, 7 (37 %) и 4 (21 %) в группе сравнения ($p = 0,327$; $p = 0,947$) соответственно.

При ПРПО не отмечено преобладания каких-либо видов облигатной анаэробной микрофлоры как в количественном соотношении, например *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp., так и по частоте выявления: 21 (75 %) и $10^{4,3}$ ГЭ/образец в основной группе, 15 (78,9 %) и $10^{4,2}$ ГЭ/образец в контрольной ($p = 0,9$). *Eubacterium* spp. определялись одинаково часто в обеих группах: 19 (67,8 %) и 13 (68,4 %) соответственно ($p = 0,9$), процентное соотношение в составе остальной микрофлоры также не различалось.

Анаэробы: *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp., *Megasphaera* spp. + *Veillonella* spp. + *Dialister* spp., *Lachnobacterium* spp. +

Таблица 1 / Table 1

Микробный пейзаж цервикального канала при доношенной беременности в зависимости от целостности плодного пузыря, определенный методом ПЦР-РВ
The microbial landscape of the cervical canal, detecting by RT-PCR, in terms of intact or ruptured fetal membrane in full-term pregnancy

	Основная группа		Группа контроля		P_1 (двусторонний точный критерий Фишера)	P_2 (критерий Манна – Уитни)
	n	$Me (Q_1; Q_3)$	n	$Me (Q_1; Q_3)$		
КВМ	28 (100 %)	4,9 (4,6; 5,1)	19 (100 %)	5,8 (5,5; 6,1)	1	$U = 24,5; p = 0,000$
ОБМ	28 (100 %)	6,0 (5,3; 6,5)	19 (100 %)	7,5 (7,0; 8,1)	1	$U = 39,5; p = 0,000$
<i>Lactobacillus</i> spp.	26 (92,8 %)	5,3 (5,1; 6,4)	19 (100 %)	7,6 (7,1; 8,2)	0,51	$U = 21; p = 0,000$
сем. <i>Enterobacteriaceae</i>	6 (21,4 %)	3,2 (3,1; 3,4)	7 (37 %)	3,3 (3,1; 3,6)	0,327	$U = 14; p = 0,79$
<i>Streptococcus</i> spp.	7 (25 %)	3,6 (3,3; 3,9)	4 (21 %)	4,0 (3,7; 4,7)	0,947	$U = 5,5; p = 0,32$
<i>Staphylococcus</i> spp.	13 (46,4 %)	3,9 (3,2; 4,3)	16 (84 %)	3,4 (3,3; 3,9)	0,008	$U = 58; p = 0,36$
<i>Gardnerella vaginalis</i> + <i>Prevotella bivia</i> + <i>Porphyromonas</i> spp.	21 (75 %)	4,3 (4,0; 4,9)	15 (79 %)	4,2 (3,2; 5,2)	0,941	$U = 98; p = 0,62$
<i>Eubacterium</i> spp.	19 (67,8 %)	4,4 (3,9; 5,5)	13 (68 %)	4,4 (4,2; 6,4)	0,323	$U = 62,5; p = 0,31$
<i>Sneathia</i> spp. + <i>Leptotrichia</i> spp. + <i>Fusobacterium</i> spp.	4 (14,3 %)	5,0 (3,1; 6,6)	2 (11 %)	4,0 (3,3; 4,7)	0,88	$U = 2; p = 0,77$
<i>Megaesphaera</i> spp. + <i>Veillonella</i> spp. + <i>Dialister</i> spp.	18 (64,3 %)	4,3 (3,6; 5,2)	9 (47 %)	3,9 (3,3; 4,7)	0,377	$U = 42; p = 0,36$
<i>Lachnobacterium</i> spp. + <i>Clostridium</i> spp.	8 (28,6 %)	4,5 (4,4; 4,9)	6 (32 %)	4,7 (4,2; 5,3)	0,534	$U = 9,5; p = 0,67$
<i>Mobiluncus</i> spp. + <i>Corynebacterium</i> spp.	13 (46,4 %)	3,8 (3,4; 4)	12 (63 %)	4,1 (3,4; 4,6)	0,310	$U = 45,5; p = 0,76$
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	10 (35,7 %)	4,0 (3,0; 4,8)	7 (37 %)	3,3 (3,2; 4,2)	0,774	$U = 21,5; p = 0,8$
<i>Atopobium vaginae</i>	9 (32,1 %)	3,3 (2,0; 6,2)	6 (32 %)	2,1 (2,1; 2,8)	0,853	$U = 13,0; p = 0,34$
<i>Candida</i> spp.	8 (28,6 %)	3,7 (3,5; 4,4)	4 (21 %)	4,2 (3,3; 5,0)	0,959	$U = 8,5; p = 0,54$
<i>Mycoplasma hominis</i> *	2 (7,1 %)	3,0	0 (0 %)	–	0,203	1
<i>Ureaplasma (urealyticum + parvum)</i> *	11 (39,2 %)	3,9 (3,3; 4,3)	8 (42 %)	4,2 (3,8; 4,6)	0,430	$U = 25; p = 0,62$
<i>Mycoplasma genitalium</i> *	1 (3,6 %)	–	0 (0 %)	–	0,374	–
Сумма анаэробов		11,49 (7,81; 14,27)		11,28 (6,16; 14,40)		0,72

Примечание. * Качественный анализ (есть/нет). КВМ — качество взятого материала; ОБМ — общая бактериальная масса.
Note. * Binominal analysis (present/absent). КВМ — total bacterial mass; ОБМ — collection quality material.

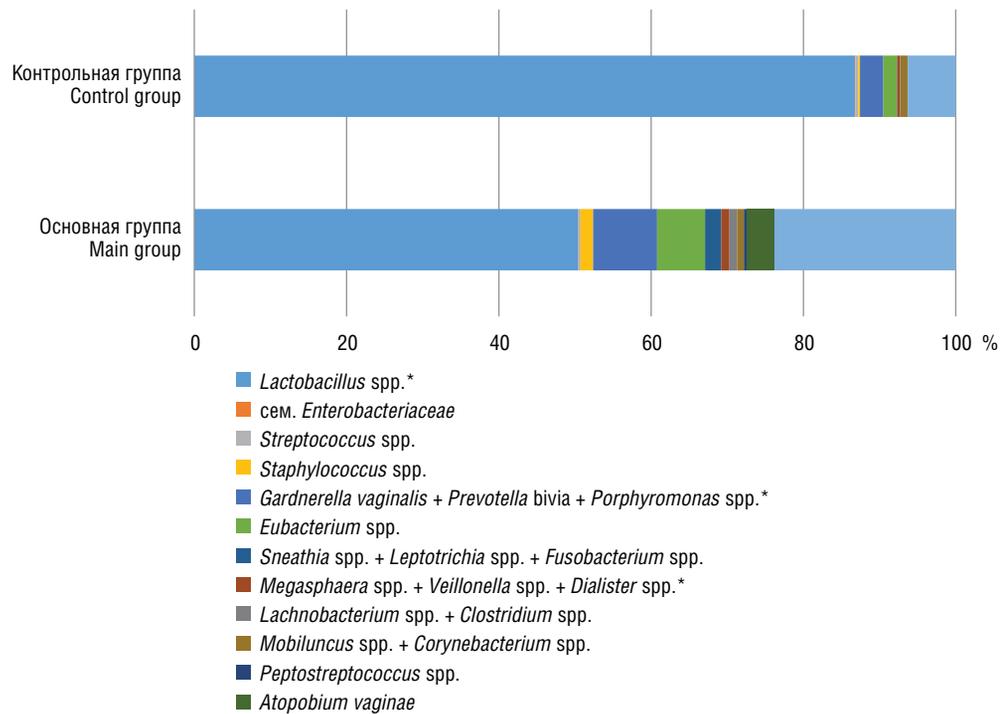


Рисунок. Относительная частота (количество выявленного микроорганизма по отношению к общей бактериальной массе) в мазке из цервикального канала (* выделены микроорганизмы, различающиеся с уровнем значимости $p < 0,05$)

Figure. Relative frequency (the number of detected microorganisms in relation to the total bacterial mass) in a smear from the cervical canal (* microorganisms had various significance level of $p < 0.05$)

+ *Clostridium* spp., *Peptostreptococcus* spp. наблюдались в основной группе чаще и в большей абсолютной и относительной концентрации (рис. 1), что подтверждает наше предположение о преобладании анаэробной микрофлоры у пациенток с ПРПО.

Микоплазмы (*Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*) наблюдались только в основной группе. *Ureaplasma (urealyticum + parvum)* с одинаковой частотой встречалась в обеих группах.

В результате построения деревьев классификации были выявлены следующие факторы риска преждевременного разрыва плодных оболочек: количество *Lactobacillus* spp. менее 99,3 % (чувствительность 75 %, специфичность 68 %); совокупная анаэробная микрофлора выше 0,55 % (чувствительность 71 %, специфичность 68 %); *Gardnerella vaginalis* / *Prevotellabivia* / *Porphyromonas* spp. более 0,08 % (чувствительность 64,3 %, специфичность 73,7 %); *Megasphaera* spp. / *Veillonella* spp. / *Dialister* spp. более 0,06 % (чувствительность 66,7 %, специфичность 52,6 %). При выявлении хотя бы одного из вышеперечисленных критериев пациентки относятся к группе высокого риска по преждевременному излитию околоплодных вод. При учете всех четырех показателей распределения микроорганизмов

чувствительность метода составляет 85,5 %, специфичность — 68,4 %, прогностическая ценность положительного и отрицательного результатов диагностики (точность модели) равнялись 78,7 %.

Результаты исследования и их обсуждение

Нормальная микрофлора влагалища здоровой женщины репродуктивного возраста содержит грамположительные и грамотрицательные аэробные, факультативно-аэробные и облигатно-анаэробные микроорганизмы, при этом 95–98 % всех микроорганизмов представлено *Lactobacillus* spp. [17]. К нормальной микрофлоре относятся также *Mycoplasma hominis* в титре менее 10^4 КОЕ/мл, грибы рода *Candida* в титре менее 10^3 КОЕ/мл [4]. Применение методики ПЦР с детекцией в режиме реального времени перспективно в плане исследования биотопа не только влагалища, но и цервикального канала. Однако показатели нормы для этой методики для различных биотопов пока окончательно не разработаны, особенно во время беременности. Наши исследования продемонстрировали, что ОБМ при ПРПО значимо ниже, чем при интактном плодном пузыре, при этом наблюдается снижение абсолютного и относительного

количества *Lactobacillus* spp. и преобладание облигатных анаэробов. Низкую ОБМ можно связать с антимикробной активностью околоплодных вод, что, соответственно, приводит к снижению обсемененности цервикального канала бактериальной флорой в сравнении с группой пациенток без отхождения околоплодных вод.

Согласно результатам нашего исследования, различные виды *Staphylococcus* spp. в небольшом количестве ($10^{3,3}$ – $10^{3,9}$) являются наиболее распространенными представителями биотопа цервикального канала, относятся к нормальной микрофлоре и присутствуют практически у всех пациенток контрольной группы, в отличие от основной группы. Наши данные подтверждает ряд других работ, в которых *Staphylococcus* spp. отнесены к нормальной микробиоте и встречаются на всем протяжении желудочно-кишечного тракта [6, 25]. Изменение особенностей местного иммунитета приводит к усиленному размножению *Staphylococcus* spp. в половых путях.

Анализ ПЦР в режиме реального времени позволяет идентифицировать семейство *Enterobacteriaceae*, представители которого чаще наблюдались в контрольной группе — 7 (37 %) случаев, тогда как в основной — лишь в 6 (21,4 %) случаях ($p = 0,327$).

В целом, большинство вышеперечисленных условно-патогенных микроорганизмов входят в список бактерий, ассоциированных с аэробным вагинитом (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus Group B*), и многочисленными работами продемонстрирована их связь с неблагоприятными исходами беременности [7, 8, 20], такими как преждевременные роды, ПРПО, ранний неонатальный сепсис, хориоамниониты и послеродовые метрэндометриты.

Что касается анаэробной флоры, суммарный процент согласно расчету более 0,55 % является фактором риска ПРПО. *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas* spp. является микроорганизмом, наиболее часто ассоциированным с бактериальным вагинозом, микроорганизмом, который связан с неблагоприятными исходами беременности — самопроизвольные выкидыши, преждевременные роды [19]. В нашем исследовании фактором риска является содержание *Gardnerella vaginalis* / *Prevotellabivia* / *Porphyromonas* spp. свыше 0,08 % относительно общей бактериальной массы.

Из всего многообразия участников формирования дисбиоза влагалища в отношении фактора-предиктора ПРПО нами были

выделены *Megasphaera* spp. / *Veilonella* spp. / *Dialister* spp., относящиеся к классу *Clostridia*, порядку *Clostridiales*, семейству *Veillonellaceae*. *Megasphaera* spp., которые входят в резидентную микрофлору толстой кишки человека. В процессе жизнедеятельности *Megasphaera* продуцируют короткоцепочечные жирные кислоты: масляную, изомаляную, валериановую, капроновую, изовалериановую, изокапроновую [13]. *Veillonella* spp. (*V. atypica*, *V. denticariosi*, *V. dispar*, *V. parvula*, *V. rogosae*, и *V. tobetsuensis*) у человека, как правило, обитают в ротовой полости. В литературе имеются данные о более высоком содержании *Megasphaera* spp. / *Veilonella* spp. / *Dialister* spp. во влагалище у пациенток, у которых впоследствии гистологически диагностирована легкая степень хороамнионита [27] при доношенной беременности; по данным других авторов [18, 22], у всех пациенток с ПРПО при недоношенной беременности были выявлены представители *Megasphaera* spp. / *Veilonella* spp. / *Dialister* spp. и *Prevotella* spp., причем второе исследование было проспективным, забор материала проводился пятикратно за время беременности, и во всех случаях ПРПО на фоне сниженного общего количества *Lactobacillus* spp. к моменту ПРПО в мазках выявлялись именно эти микроорганизмы.

В целом результаты сопоставимы с результатами М.А. Власовой и соавт. [4], которые в своей работе подчеркивают доминирующую роль анаэробных микроорганизмов в структуре дисбиоза женщин с ПРПО в сроке 26–34 нед. беременности.

Заключение

Наиболее прогностически значимые факторы риска развития ПРПО — дисбиоз влагалища, выявленный ПЦР-РВ; наиболее важные предикторы при исследовании микробиоты цервикального канала являются: количество *Lactobacillus* spp. менее 99,3 %; *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas* spp. более 0,08 %; *Megasphaera* spp. / *Veilonella* spp. / *Dialister* spp. более 0,06 %.

Список литературы

1. Анкирская А.С., Муравьева В.В. Интегральная оценка состояния микробиоты влагалища. Диагностическая оппортунистических вагинитов (медицинская технология) // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. 2020. Т. 8, № 1. С. 69–76. DOI: 10.24411/2303-9698-2020-11009
2. Болдырева М.Н., Липова Е.В., Алексеев Л.П. и др. Характеристика биоты урогенитального тракта

- у женщин репродуктивного возраста методом ПЦР в реальном времени // Журнал Акушерства и женских болезней. 2009. Т. 58, № 6. С. 36–42.
3. Болотских В.М. Преждевременное излитие околоплодных вод. Теория и практика. СПб., 2018.
 4. Власова М.А., Островская О.В., Супрун С.В. и др. Оценка состояния микробиоценоза генитального тракта у беременных женщин с преждевременным разрывом околоплодных оболочек с применением теста «Фемофлор» // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2014. № 54. С. 92–96.
 5. Воропаева Е.А., Караулов А.В., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Оценка микробиоценоза влагалища при акушерской и гинекологической патологии (новая медицинская технология). Москва; Астрахань, 2012.
 6. Гомберг М.А. Бактериальный вагиноз и новые инфекции, с ним ассоциированные // Российский вестник акушера-гинеколога. 2010. Т. 10, № 2. С. 32–34.
 7. Доброхотова Ю.Э., Бондаренко К.Р., Гуцин А.Е. и др. Результаты исследования цервико-вагинальной микробиоты методом ПЦР в реальном времени у беременных с угрожающими преждевременными родами // Акушерство и гинекология. 2018. № 11. С. 50–59. DOI: 10.18565/aig.2018.11.50-59
 8. Дятлова Л.И. Особенности микробиоценоза влагалища при преждевременном разрыве околоплодных мембран при сроках гестации 22–34 недели // Международный журнал экспериментального образования. 2015. № 3–5. С. 502–506.
 9. Егорова Ю.В., Нестеров А.С. Характеристика цервико-вагинальной микробиоты у женщин с урогенитальным хламидиозом // Современные проблемы науки и образования. 2014. № 6. С. 1188.
 10. Каганова М.А., Спиридонова Н.В., Ларина Т.В. и др. Плацента и плодные оболочки при дородовом излитии околоплодных вод и доношенной беременности // Аспирантский вестник Поволжья. 2018. № 5–6. С. 57–64. DOI: 10.17816/2072-2354.2018.18.3.57-64
 11. Князева Т.П. Причины и факторы риска преждевременного разрыва плодных оболочек // Дальневосточный медицинский журнал. 2016. № 2. С. 128–135.
 12. Кочеровец В.И., Бунятыян Н.Д. Нормальная микрофлора женских мочеполовых путей и препараты для ее коррекции: учебное пособие. М., 2012.
 13. Липова Е.В., Болдырева М.Н., Трофимов Д.Ю. и др. Урогенитальные инфекции, обусловленные условно-патогенной биотой, у женщин репродуктивного возраста (клинико-лабораторная диагностика): учебное пособие. М., 2009.
 14. Островская О.В., Кожарская О.В., Супрун С.В. и др. Морфометрическая характеристика терминальных ворсин при инфицировании плаценты возбудителями внутриутробных инфекций // Тихоокеанский медицинский журнал. 2018. № 4(74). С. 29–33. DOI: 10.17238/PmJ1609-1175.2018.4.29-33
 15. Патент RU2405453C1/10.12.2010. Борзова Н.Ю., Крошкина Н.В., Таланова И.Е. Способ прогнозирования преждевременного излития околоплодных вод у беременных.
 16. Патент RU 2362808/27.07.2009. Липова Е.В., Баткаев Э.А., Витвицкая Ю.Г. и др. Способ диагностики дисбаланса микробиоты различных биотопов человека и степени его выраженности.
 17. Уварова Е.В., Артюх Ю.А., Казакова А.В. Соотношение аэробной и анаэробной микрофлоры влагалища в различные периоды полового созревания // Современные проблемы науки и образования. 2017. № 1. С. 124.
 18. Brown R.G., Al-Memar M., Marchesi J.R., et al. Establishment of vaginal microbiota composition in early pregnancy and its association with subsequent preterm prelabor rupture of the fetal membranes // *Transl Res.* 2019. Vol. 207. P. 30–43. DOI: 10.1016/j.trsl.2018.12.005
 19. Garcia-Grau I., Perez-Villaroya D., Bau D., et al. Taxonomical and functional assessment of the endometrial microbiota in a context of recurrent reproductive failure: a case report // *Pathogens.* 2019. Vol. 8, No. 4. P. 205. DOI: 10.3390/pathogens8040205
 20. Kaambo E., Africa C.W.J. The threat of aerobic vaginitis to pregnancy and neonatal morbidity // *Afr J Reprod Health.* 2017. Vol. 21, No. 2. P. 108–118.
 21. Soucy-Giguère L., Gasse C., Giguère Y., et al. Intra-amniotic inflammation and child neurodevelopment: a systematic review protocol // *Syst Rev.* 2018. Vol. 7, No. 1. P. 1–5. DOI: 10.1186/s13643-018-0683-z
 22. Paramel Jayaprakash T., Wagner E.C., van Schalkwyk J., et al. High diversity and variability in the vaginal microbiome in women following preterm premature rupture of membranes (PPROM): A prospective cohort study // *PLoS ONE.* 2016. Vol. 11, No. 11. P. e0166794. DOI: 10.1371/journal.pone.0166794
 23. Premature rupture of membranes. Practice Bulletin No. 172 // *Obst. Gynecol.* 2016. Vol. 128, No. 4. P. e165–e177. DOI: 10.1097/AOG.0000000000001712
 24. Romero R., Chaemsathong P., Docheva N., et al. Clinical chorioamnionitis at term VI: acute chorioamnionitis and funisitis according to the presence or absence of microorganisms and inflammation in the amniotic cavity // *J Perinat Med.* 2016. Vol. 44, No. 1. P. 33–51. DOI: 10.1515/jpm-2015-0119
 25. Chun S., Yun J.W., Huh H.J., Lee N.Y. Clinical characteristics of *Raoultella ornithinolytica* bacteremia // *Infection.* 2015. Vol. 43, No. 1. P. 59–64. DOI: 10.1007/s15010-014-0696-z
 26. Huang S., Xia W., Sheng X., et al. Maternal lead exposure and premature rupture of membranes: a birth cohort study in China // *BMJ Open.* 2018. Vol. 8, No. 7. P. e021565. DOI: 10.1136/bmjopen-2018-021565
 27. Lannon S.M.R., Adams Waldorf K.M., Fiedler T., et al. Parallel detection of *Lactobacillus* and bacterial vaginosis associated bacterial DNA in the chorioamnion and vagina of pregnant women at term // *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2019. Vol. 32, No. 16. P. 2702–2710. DOI: 10.1080/14767058.2018.1446208

References

- Ankirkirskaya AS, Murav'eva VV. Integral assessment of the condition of the vaginal microbiota. diagnosis of opportunistic vaginitis. *Obstetrics and gynecology. News. Views. Education*. 2020;(1):69–76. (In Russ.) DOI: 10.24411/2303-9698-2020-11009
- Boldyreva MN, Lipova EV, Alekseev LP, et al. Features of urogenital tract's biota determined by means of real-time PCR among women of reproductive age. *Journal of obstetrics and womans diseases*. 2009;58(6):36–42. (In Russ.)
- Bolotskih VM. Prezhdevremennoe izlitie okolo-plodnykh vod. Teoriya i praktika. Saint Petersburg; 2018. (In Russ.)
- Vlasova MA, Ostrovskaya OV, Suprun SV, et al. Evaluation of genital tract microbiocenosis in pregnant women with preterm rupture of membranes using "femoflor" test. *Bulletin physiology and pathology of respiration*. 2014;(54):92–96. (In Russ.)
- Voropaeva EA, Karaulov AV, Afanas'ev SS, Aleshkin VA. Ocenka mikrobiocenoza vlagalishcha pri akusherskoj i ginekologicheskoj patologii (novaya medicinskaya tekhnologiya). Moscow; Astrahan'; 2012. (In Russ.)
- Gomberg MA. Bacterial vaginosis and associated new infections. *Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist*. 2010;10(2):32–34. (In Russ.)
- Dobrohotova YuE, Bondarenko KR, Gushchin AE, et al. The results of the examination of cervical-vaginal microbiota in pregnant women with threatened preterm birth using a real-time polymerase chain reaction. *Obstetrics and Gynecology*. 2018;(11):50–59. (In Russ.) DOI: 10.18565/aig.2018.11.50-59
- Dyatlova LI. Features vaginal microbiocenosis for rupture of membranes of 22-34 weeks. *Mezhdunarodnyi zhurnal ehksperimental'nogo obrazovaniya*. 2015;(3–5):502–506. (In Russ.)
- Egorova YuV, Nesterov AS. The characteristic of women cervico-vaginal microbiota with urogenital chlamydiosis. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2014;(6):1188. (In Russ.)
- Kaganova MA, Spiridonova NV, Larina TV, et al. Placenta and fetal membranes with premature rupture of membrane at term pregnancy. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya*. 2018;(5–6):57–64. (In Russ.) DOI: 10.17816/2072-2354.2018.18.3.57-64
- Knyazeva TP. Causes and risk factors of premature rupture membranes. *Dal'nevostochnyj medicinskiy zhurnal*. 2016;(2):128–135. (In Russ.)
- Kocherovec VI, Bunyatyan ND. Normal'naya mikroflora zhenskih mocheopolovnykh putej i preparaty dlya ee korrektsii. Uchebnoe posobie. Moscow; 2012. (In Russ.)
- Lipova EV, Boldyreva MN, Trofimov DYU, et al. Urogenital'nye infekcii, obuslovlennyye uslovno-patogennoy biotoj, u zhenshchin reproduktivnogo vozrasta (kliniko-laboratornaya diagnostika). Uchebnoe posobie. Moscow; 2009. (In Russ.)
- Ostrovskaya OV, Kozharskaya OV, Suprun SV, et al. Morphometric characteristics of acroteric villi in case of placenta infection by pathogens of intrauterine infections. *Pacific medical journal*. 2018;(4(74)):29–33. (In Russ.) DOI: 10.17238/PmJ1609-1175.2018.4.29-33
- Patent RU2405453C1/10.12.2010. Borzova NYu, Kroschkina NV, Talanova IE. Sposob prognozirovaniya prezhevremennogo izlitiya okolo-plodnykh vod u beremennykh. (In Russ.)
- Patent RU 2362808/27.07.2009. Lipova EV, Batkaev EhA, Vitvitskaya YuG, et al. Sposob diagnostiki disbalansa mikrobioty razlichnykh biotopov cheloveka i stepeni ego vyrazhennosti. (In Russ.)
- Uvarova EV, Artyuh YuA, Kazakova AV. The correlation of aerobic and anaerobic vaginal microflora at different stages of sexual development. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2017;(1):124. (In Russ.)
- Brown RG, Al-Memar M, Marchesi JR, et al. Establishment of vaginal microbiota composition in early pregnancy and its association with subsequent preterm prelabor rupture of the fetal membranes. *Transl Res*. 2019;207:30–43. DOI: 10.1016/j.trsl.2018.12.005
- Garcia-Grau I, Perez-Villaroya D, Bau D, et al. Taxonomical and functional assessment of the endometrial microbiota in a context of recurrent reproductive failure: a case report. *Pathogens*. 2019;8(4):205. DOI: 10.3390/pathogens8040205
- Kaambo E, Africa CWJ. The threat of aerobic vaginitis to pregnancy and neonatal morbidity. *Afr J Reprod Health*. 2017;21(2):108–118.
- Soucy-Giguère L, Gasse C, Giguère Y, et al. Intra-amniotic inflammation and child neurodevelopment: a systematic review protocol. *Syst Rev*. 2018;7(1):1–5. DOI: 10.1186/s13643-018-0683-z
- Paramel Jayaprakash T, Wagner EC, van Schalkwyk J, et al. High diversity and variability in the vaginal microbiome in women following preterm premature rupture of membranes (PPROM): A prospective cohort study // *PLoS ONE*. 2016;11(11):e0166794. DOI: 10.1371/journal.pone.0166794
- Premature rupture of membranes. Practice Bulletin No. 172. *Obst Gynecol*. 2016;128(4):e165–e177. DOI: 10.1097/AOG.0000000000001712
- Romero R, Chaemsaitong P, Docheva N, et al. Clinical chorioamnionitis at term VI: acute chorioamnionitis and funisitis according to the presence or absence of microorganisms and inflammation in the amniotic cavity. *J Perinat Med*. 2016;44(1):33–51. DOI: 10.1515/jpm-2015-0119
- Chun S, Yun JW, Huh HJ, Lee NY. Clinical characteristics of Raoultella ornithinolytica bacteremia. *Infection*. 2015;43(1):59–64. DOI: 10.1007/s15010-014-0696-z
- Huang S, Xia W, Sheng X, et al. Maternal lead exposure and premature rupture of membranes: a birth cohort study in China. *BMJ Open*. 2018;8(7):e021565. DOI: 10.1136/bmjopen-2018-021565
- Lannon SMR, Adams Waldorf KM, Fiedler T, et al. Parallel detection of lactobacillus and bacterial vaginosis associated bacterial DNA in the chorioamnion and vagina of pregnant women at term. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2019;32(16):2702–2710. DOI: 10.1080/14767058.2018.1446208

▪ Информация об авторах

Мария Александровна Каганова — кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии ИПО. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: mkaganova@yandex.ru

Наталья Владимировна Спиридонова — доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии ИПО. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: nvspiridonova@mail.ru

Виктория Александровна Петянова — заместитель главного врача по акушерству и гинекологии. ГБУЗ «Самарская городская клиническая больница № 1 им. Н.И. Пирогова», Самара, Россия. E-mail: victoria.petianova@yandex.ru

Наталья Георгиевна Денисова — кандидат медицинских наук, заведующая отделением № 20. ГБУЗ «Самарская городская клиническая больница № 1 им. Н.И. Пирогова», Самара, Россия. E-mail: denisov_a_nata@mail.ru

Светлана Витальевна Сыресина — заведующая отделением № 21. ГБУЗ «Самарская городская клиническая больница № 1 им. Н.И. Пирогова», Самара, Россия. E-mail: svetlana.syresina@yandex.ru

Максим Геннадьевич Петров — врач отделения № 21. ГБУЗ «Самарская городская клиническая больница № 1 им. Н.И. Пирогова», Самара, Россия. E-mail: svetlana.syresina@yandex.ru

Наталья Алексеевна Родионова — врач отделения № 20. ГБУЗ «Самарская городская клиническая больница № 1 им. Н.И. Пирогова», Самара, Россия. E-mail: natalyaarodionova@gmail.com

Луиза Симоновна Инюшева — врач отделения № 20. ГБУЗ «Самарская городская клиническая больница № 1 им. Н.И. Пирогова», Самара, Россия. E-mail: luiza846@rambler.ru

▪ Information about the authors

Maria A. Kaganova — Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, IPE. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: mkaganova@yandex.ru

Natalya V. Spiridonova — Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, IPE. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: nvspiridonova@mail.ru

Viktoriya A. Petyanova — Deputy Chief of the Hospital for Obstetrics and Gynecology. Samara City Clinical Hospital No. 1 named after N.I. Pirogov, Samara, Russia. E-mail: victoria.petianova@yandex.ru

Natalya G. Denisova — Candidate of Medical Sciences, Head of the Obstetrics Department No. 20. Samara City Clinical Hospital No. 1 named after N.I. Pirogov, Samara, Russia. E-mail: denisov_a_nata@mail.ru

Svetlana V. Syresina — Head of the Obstetrics Department No. 21. Samara City Clinical Hospital No. 1 named after N.I. Pirogov, Samara, Russia. E-mail: svetlana.syresina@yandex.ru

Maxim G. Petrov — Obstetrician of the Obstetrics Department No. 21. Samara City Clinical Hospital No. 1 named after N.I. Pirogov, Samara, Russia. E-mail: svetlana.syresina@yandex.ru

Natalya A. Rodionova — Obstetrician of the Obstetrics Department No. 20. Samara City Clinical Hospital No. 1 named after N.I. Pirogov, Samara, Russia. E-mail: natalyaarodionova@gmail.com

Luiza S. Inyusheva — Obstetrician of the Obstetrics Department No. 20. Samara City Clinical Hospital No. 1 named after N.I. Pirogov, Samara, Russia. E-mail: luiza846@rambler.ru