

Значение определения генотипов *Gardnerella vaginalis* в диагностике рецидивирующего бактериального вагиноза

А. А. Крысанова^{1,2}, А. Е. Гущин³, А. М. Савичева^{1,2}

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д. О. Отта», Санкт-Петербург

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург

³ГБУЗ г. Москвы «Московский научно-практический центр дерматовенерологии и косметологии Департамента здравоохранения Москвы»

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Оценить значение выявления разных генотипов *Gardnerella vaginalis* в диагностике рецидивирующего бактериального вагиноза.

Материалы и методы. В исследовании участвовали 299 женщин репродуктивного возраста. Все пациентки были разделены на три группы (здоровые женщины, женщины с первым эпизодом бактериального вагиноза и женщины с рецидивирующим бактериальным вагинозом). ДНК *Gardnerella vaginalis* в отделяемом влагалища выявляли методом ПЦР в реальном времени. Обнаружение четырех генотипов *G. vaginalis* выполнено с использованием мультиплексного ПЦР в реальном времени. Для количественного определения амплифицированных ПЦР-фрагментов были сконструированы стандартные количественные образцы. Статистический анализ результатов осуществляли с использованием статистического пакета NCSS 11 (NCSS, LCC).

Результаты. У 38,2% здоровых женщин в вагинальном биотопе выявляли какой-либо генотип *G. vaginalis*, причем наиболее часто это был генотип 4 (35,2%), при этом концентрация ДНК *G. vaginalis* была низкой (10^2 – 10^3 ГЭ/мл). При выявлении нескольких генотипов гарднерелл одновременно у здоровых женщин концентрация ДНК не превышала 10^4 ГЭ/мл. Совершенно другая картина наблюдалась среди женщин с бактериальным вагинозом (БВ). При первом эпизоде БВ превалировал 4-й генотип *G. vaginalis* как в качестве единственного генотипа, так и в сочетании с 1-м, или 2-м, или 3-м. При рецидивирующем течении БВ выявлялись исключительно сразу 3–4 генотипа *G. vaginalis*, причем в 78% случаев имело место сочетание 1-го, 2-го и 4-го генотипов, а концентрация ДНК составляла 10^7 – 10^8 ГЭ/мл.

Заключение. Для диагностики рецидивирующих форм БВ необходимы разработка и внедрение в практику лабораторной диагностики тест-системы для выявления разных генотипов *G. vaginalis* методом ПЦР в реальном времени.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: рецидивирующий бактериальный вагиноз, *Gardnerella vaginalis*, генотипы, диагностика.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Significance of *Gardnerella vaginalis* genotyping in diagnosis of recurrent bacterial vaginosis

A. A. Krysanova^{1,2}, A. E. Guschin³, A. M. Savicheva^{1,2}

¹Scientific and Research Institute for Obstetrics and Gynecology n.a. D. O. Ott, Saint Petersburg, Russia

²Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia

³Moscow Scientific and Practical Centre for Dermatovenereology and Cosmetology, Moscow, Russia

SUMMARY

Objective. To assess the importance of identifying different genotypes of *Gardnerella vaginalis* in the diagnosis of recurrent bacterial vaginosis.

Materials and methods. The study involved 299 women of reproductive age. All patients were divided into three groups (healthy women, women with the first episode of bacterial vaginosis, and women with recurrent bacterial vaginosis). DNA of *Gardnerella vaginalis* in vaginal discharge was detected by real-time PCR. The detection of four genotypes of *G. vaginalis* was performed using real-time multiplex PCR. To quantify the amplified PCR fragments, quantitative standard samples were constructed. Statistical analysis of the results was carried out using the statistical package NCSS 11 (NCSS, LCC).

Results. In 38.2% of healthy women, any one genotype of *G. vaginalis* was identified in the vaginal biotope, most often it was genotype 4 (35.2%), while the concentration of *G. vaginalis* DNA was low (10^2 – 10^3 geqs/ml). When several genotypes of *Gardnerella* were detected simultaneously in healthy women, the DNA concentration did not exceed 10^4 geqs/ml. A completely different picture was observed among women with bacterial vaginosis (BV). In the first episode of BV, genotype 4 of *G. vaginalis* prevailed, both as a single genotype and in combination with 1 or 2, or 3 genotypes. In the recurrent course of BV, only 3–4 genotypes of *G. vaginalis* were detected at once, and in 78% of cases it had place is a combination of 1, 2 and 4 genotypes, and the DNA concentration was 10^7 – 10^8 geqs/ml.

Conclusion. To diagnose recurrent forms of BV, it is necessary to develop and introduce into practice laboratory diagnostics a test system for detecting different genotypes of *G. vaginalis* by real-time PCR.

KEY WORDS: recurrent bacterial vaginosis, *Gardnerella vaginalis*, genotypes, diagnostics.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Введение

Бактериальный вагиноз (БВ) – распространенное заболевание влагалища женщин репродуктивного возраста, которое может протекать как с развитием характерной симптоматики, так и бессимптомно. Примерно у 50 %

женщин могут появиться неприятный запах из влагалища, выделения, зуд, а также повышение pH влагалища. БВ может увеличить риск заражения многими возбудителями инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), такими как вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), *Neisseria*

gonorrhoeae (NG), *Chlamydia trachomatis* (CT), *Trichomonas vaginalis* (TV), вирус простого герпеса-2 (HSV-2) [1]. В литературе также описывается связь между БВ и вирусом папилломы человека (HPV) [2].

В большинстве случаев заболевание поддается лечению с использованием доступных препаратов, включая пероральный и интравагинальный метронидазол и клиндамицин, а также тинидазол, однако эти методы оказываются неэффективными в долгосрочной перспективе.

Частота возникновения рецидивов после эпизодов БВ может достигать 80 % через 3 месяца после эффективного лечения [3]. До 50 % женщин с БВ испытывают рецидив в течение года после начала лечения от первичного эпизода [4, 5]. В ряде случаев причинами рецидива могут быть нарушение режима терапии и прекращение приема препаратов пациентками, резистентность основных микроорганизмов-возбудителей БВ к метронидазолу или клиндамицину, а также развитие антибиотикостойчивости БВ-ассоциированных микроорганизмов.

В настоящее время активно обсуждается половой путь передачи возбудителей от партнера (партнеров). Описаны случаи носительства БВ-ассоциированных бактерий у мужчин, а также обмена БВ-ассоциированными бактериями в рамках сексуальных партнерств между мужчинами и женщинами, женщинами и женщинами [6, 7].

Кроме того, рецидив заболевания может развиваться из-за образования биопленки, которая защищает бактерии, вызывающие БВ, от антимикробной терапии [8–13].

БВ – это полимикробное заболевание, однако основным возбудителем БВ является *Gardnerella vaginalis* [14–16]. Этот микроорганизм характеризуется исключительным фенотипическим и генотипическим разнообразием. Различают от 8 до 17 метаболических биотипов *G. vaginalis* на основании присутствия или отсутствия ферментов β-галактозидазы, липазы, способности гидролизовать гиппурат натрия ферментировать сахара (ксилозу, арабинозу и галактозу) [17, 18].

Генотипическое разнообразие *G. vaginalis* было продемонстрировано с использованием молекулярных методов, таких как рестрикционный анализ амплифицированной рибосомальной ДНК (ARDRA). Используя этот метод, были идентифицированы три различных генотипа *G. vaginalis*, два из которых продуцировали сиалидазу. Хотя связь с продуцированием сиалидазы была показана для определенных генотипов ARDRA *G. vaginalis*, четкой связи между БВ и любым из генотипов ARDRA выявлено не было. Были описаны различные генетические варианты *G. vaginalis*, основанные на сравнительном геномном анализе и сообщалось о существенных различиях в метаболическом и вирулентном потенциале между генотипами микроорганизма [19–21].

Gardnerella vaginalis демонстрирует исключительный потенциал вирулентности по сравнению с другими БВ-ассоциированными бактериями. Она секретирует холестерин-зависимый токсин вагинолизин, порообразующая активность которого связана с апоптозом эпителиальных клеток. Сиалидаза, секретируемая *G. vaginalis*, участвует в разрушении физиологических мукозных компонентов влагалища, обеспечивая питание бактерии, и улучшает их способность уклоняться от иммунной системы хозяина [22, 23].

Описаны две формы существования гарднерелл – «рассеянная» (disperced) форма *G. vaginalis*, рассредоточенная среди другой микрофлоры и «сцепленная» (cohesive) форма *G. vaginalis*, адгезированная на клетках эпителия и образующая «ключевые» клетки. Дисперсная форма была обнаружена у 10–18 % случайно отобранных женщин, 3–4 % мужчин и 10 % детей и не имела связи с сексуальными контактами. Сцепленная форма присутствовала у всех пациентов с подтвержденным БВ и их сексуальных партнеров, но не была выявлена ни у одного из здоровых людей или детей [24].

В более поздних исследованиях было подтверждено генетическое разнообразие гарднерелл, и с 2019 года предложена принципиально новая таксономическая классификация, устанавливающая, что род *Gardnerella* включает как минимум 13 отдельных видов. В дополнение к виду *G. vaginalis* были описаны три новых вида – *G. piotii*, *G. swidsinskii* и *G. Leopoldii* – на основе сравнения полногеномных последовательностей, биохимических свойств и матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации с времяпролетной масс-спектрометрией (MALDI-TOF). Остальные девять геномных видов не были названы и описаны, предположительно из-за отсутствия достаточного количества изолятов, чтобы иметь веские основания для их обозначения [25].

Несмотря на получение новых знаний о генотипах и видах гарднерелл, до сих пор обсуждаются проблемы частого рецидивирования этого заболевания, особенностей его диагностики и терапии [26]. Ключевую роль в развитии рецидивирующих форм БВ отводят образованию бактериальных пленок, которые чаще всего формируют корпоративные формы гарднерелл.

Цель исследования: оценить значение выявления разных генотипов *Gardnerella vaginalis* в диагностике рецидивирующего бактериального вагиноза.

Материалы и методы

В исследовании участвовали 299 женщин репродуктивного возраста (18–54 года), обратившихся в лечебные учреждения гинекологического профиля Санкт-Петербурга для обследования с жалобами на выделения из половых путей. На основании результатов микроскопии по Граму со шкалой Нуджента все пациентки были разделены на группы: 162 женщины – с физиологическим микробиоценозом влагалища (здоровые), 58 – с промежуточным и 79 женщин – с бактериальным вагинозом. Для лучшего определения диагностических характеристик случаи с промежуточной микрофлорой по Нудженту были исключены из анализа.

Пациентки с бактериальным вагинозом были разделены на две подгруппы: с первым эпизодом БВ (по результатам анамнеза) и с рецидивирующим БВ (более четырех эпизодов БВ в год). В итоге были сформированы три группы пациенток: I – здоровые женщины, II – женщины с первым эпизодом БВ и III – женщины с рецидивирующим БВ.

Клиническим материалом для исследования служило отделяемое влагалища, которое получали с помощью дакронных тампонов.

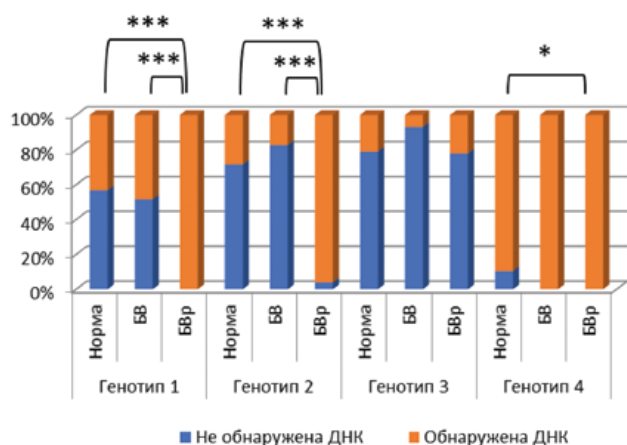


Рисунок 1. Частота выявления ДНК определенных генотипов *G. vaginalis* в группах женщин с физиологическим микробиоценозом влагалища (норма), первым эпизодом БВ и рецидивирующим БВ.

ДНК *Gardnerella vaginalis* из образцов клинического материала для исследования методом ПЦР в реальном времени выделяли с помощью набора реагентов ДНК-сорб-АМ (ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва) в соответствии с инструкцией производителя.

Обнаружение ДНК четырех генотипов *G. vaginalis* было выполнено с использованием мультиплексного ПЦР-анализа в реальном времени с ранее описанными праймерами и зондами [27]. Для количественного определения амплифицированных ПЦР-фрагментов были сконструированы стандартные количественные образцы путем клонирования фрагментов ПЦР-генов-мишеней pGEM-T Vector Systems (Promega, Madison, США). Концентрацию ДНК в плазмидных препаратах тестировали с использованием количественной ПЦР с теми же специфическими праймерами и зондами в цифровой системе ПЦР QX100 Droplet (BioRad, США). Стандартные кривые были получены путем тестирования количественных стандартных образцов (в двух повторениях) в концентрациях 10^3 , 10^5 , 10^7 и 10^9 геном эквивалент (ГЭ) на 1 мл для всех мишеней. Концентрации экстракта ДНК в клинических образцах выражали в ГЭ/мл.

Статистический анализ результатов осуществляли с использованием статистического пакета NCSS 11 (NCSS, LCC).

Результаты и обсуждение

На основании клинико-анамнестических данных и результатов микроскопической оценки микробиоценоза

влагалища со шкалой Нуджента были сформированы три группы женщин: I группа (норма) – женщины с физиологическим микробиоценозом влагалища – 162 человека, II группа – 29 женщин с первым эпизодом БВ и III группа – 50 женщин с рецидивирующим БВ.

В общей сложности ДНК *Gardnerella vaginalis* в вагинальных пробах пациенток разных групп выявлялись с частотой 95,8%. В I группе женщин ДНК этого микроорганизма была обнаружена в 93,2% случаев (151 из 162), у женщин II и III – в 100%. Это согласуется с данными литературы о том, что *Gardnerella vaginalis* часто присутствует в вагинальном биотопе здоровых женщин [28, 29].

Однако концентрация ДНК *Gardnerella vaginalis* в группе женщин с физиологическим микробиоценозом влагалища была значительно ниже, чем у женщин с БВ, и составила в среднем 10^3 ($0-8 \times 10^7$) ГЭ на 1 мл. В то же время в группе женщин с первым эпизодом БВ концентрация ДНК была равна 5×10^7 ГЭ/мл, ($4 \times 10^6-3 \times 10^8$), а при рецидивирующем БВ – 1×10^8 ГЭ/мл ($2 \times 10^7-3 \times 10^8$). Различия в концентрации ДНК *Gardnerella vaginalis* в вагинальном биотопе женщин с физиологическим микробиоценозом влагалища и женщин с течением БВ были достоверными ($p < 0,0001$).

На рисунке 1 представлены данные по частоте выявления ДНК определенных генотипов *G. vaginalis* в группах женщин с физиологическим микробиоценозом влагалища (норма), первым эпизодом БВ и рецидивирующим БВ.

Следует отметить, что 4-й генотип *G. vaginalis* был самым распространенным и выявлялся во всех группах женщин, как здоровых, так и с БВ. Генотип 1 был обнаружен у всех женщин с рецидивирующими формами БВ и лишь у части женщин с первым эпизодом БВ и здоровых женщин. Такая же картина была и при выявлении 2-го генотипа гарднерелл.

Среди этих групп женщин были обнаружены разные генотипы *Gardnerella vaginalis* – от 1 до 4 одновременно. Данные по количеству генотипов *Gardnerella vaginalis* в вагинальных пробах пациенток с БВ, рецидивирующим БВ и у здоровых женщин представлены в таблице 1.

Как видно из данных, представленных в таблице 1, у здоровых женщин в вагинальном биотопе *G. vaginalis* наиболее часто (в 38% случаев) представлена одним генотипом по сравнению с женщинами, у которых был первый эпизод БВ ($p < 0,05$). При рецидивирующем БВ один генотип *G. vaginalis* не был обнаружен ни у одной пациентки. Кроме того, два генотипа *G. vaginalis*, тем более три и четыре ге-

Таблица 1
Количество генотипов *Gardnerella vaginalis* и их концентрация в вагинальных пробах здоровых женщин, пациенток с первым эпизодом БВ и рецидивирующим течением БВ

Количество генотипов <i>Gardnerella vaginalis</i> в образце	Здоровые (n = 162)		Первый эпизод БВ (n = 29)		Рецидивирующий БВ (n = 50)		p
	Частота (%)	Концентрация ДНК, медиана (ГЭ/мл)	Частота (%)	Концентрация ДНК, медиана (ГЭ/мл)	Частота (%)	Концентрация ДНК, медиана (ГЭ/мл)	
<i>G. vaginalis</i> не обнаружены	11 (6,8)	–	0	–	0	–	
1	62 (38,3)	$2,0 \times 10^3$ [$8,3 \times 10^2-4,7 \times 10^3$]	8 (27,6)	$2,2 \times 10^6$ [$1,6 \times 10^3-2,5 \times 10^9$]	0	–	I-II < 0,05
3	49 (30,2)	$1,8 \times 10^4$ [$4,5 \times 10^3-1,6 \times 10^5$]	21 (72,4)	$8,0 \times 10^7$ [$1,2 \times 10^7-4,0 \times 10^9$]	0	–	I-II < 0,001
4	25 (15,4)	$2,4 \times 10^4$ [$1,1 \times 10^4-1,0 \times 10^5$]	0	–	41 (82)	$1,2 \times 10^8$ [$2,2 \times 10^7-3,3 \times 10^9$]	I-III < 0,001
4	15 (9,3)	$2,3 \times 10^4$ [$1,3 \times 10^4-2,0 \times 10^5$]	0	–	9 (18)	$1,1 \times 10^8$ [$4,1 \times 10^7-1,5 \times 10^9$]	I-III < 0,001

Таблица 2

Сочетание генотипов *G. vaginalis*, выявленных в вагинальных образцах здоровых женщин, пациенток с первым эпизодом БВ и рецидивирующим течением БВ

Генотипы <i>G. vaginalis</i> , обнаруженные в вагинальных образцах	Здоровые (n = 162)		Первый эпизод БВ (n = 29)		Рецидивирующий БВ (n = 50)		p
	I		II		III		
	Частота (%)	Концентрация ДНК	Частота (%)	Концентрация ДНК	Частота (%)	Концентрация ДНК	
Только 1	3 (1,8)	7,0 × 10 ²	0	–	0	–	
Только 2	1 (0,6)	1,7 × 10 ²	0	–	0	–	
Только 3	1 (0,6)	1,3 × 10 ³	0	–	0	–	
Только 4	57 (35,2)	2,2 × 10 ³ [9,4 × 10 ² –5,1 × 10 ³]	8 (27,6)	2,2 × 10 ⁶ [1,6 × 10 ³ –2,5 × 10 ⁹]	0	–	I-II > 0,05
Сочетание 1 и 2	1 (0,6)	4,9 × 10 ⁴	0	–	0	–	
Сочетание 1 и 4	30 (18,5)	1,8 × 10 ⁴ [5,6 × 10 ³ –2,2 × 10 ⁵]	14 (48,3)	1,5 × 10 ⁸ [1,5 × 10 ⁷ –4,2 × 10 ⁹]	0	–	I-II < 0,001
Сочетание 2 и 4	12 (7,4)	2,7 × 10 ⁴ [2,9 × 10 ³ , 1,1 × 10 ⁵]	5 (17,2)	5,3 × 10 ⁷ [6,2 × 10 ⁶ –8,0 × 10 ⁷]	0	–	I-II < 0,01
Сочетание 3 и 4	6 (3,7)	1,1 × 10 ⁴ [4,5 × 10 ³ –2,0 × 10 ⁴]	2 (6,9)	1,6 × 10 ⁷ [2,6 × 10 ³ –3,3 × 10 ⁷]	0	–	I-II > 0,05
Сочетание 1, 2 и 4	13 (8,0)	7,3 × 10 ⁴ [1,7 × 10 ⁴ –7,4 × 10 ⁵]	0	–	39 (78,0)	1,7 × 10 ⁸ [2,2 × 10 ⁷ –3,8 × 10 ⁹]	I-III < 0,001
Сочетание 1, 3 и 4	8 (4,9)	2,2 × 10 ⁴ [1,5 × 10 ⁴ –2,8 × 10 ⁴]	0	–	2 (4,0)	3,2 × 10 ⁷ [6,4 × 10 ³ –6,3 × 10 ⁷]	I-III > 0,05
Сочетание 2, 3 и 4	4 (2,5)	4,0 × 10 ³ [3,4 × 10 ³ –2,3 × 10 ⁴]	0	–	0	–	
Сочетание 1, 2, 3 и 4	15 (9,3)	2,3 × 10 ⁴ [1,3 × 10 ⁴ –2,0 × 10 ⁵]	0	–	9 (18,0)	1,1 × 10 ⁸ [4,1 × 10 ⁷ –1,5 × 10 ⁹]	I-III < 0,001

нотипа одновременно существенно реже были обнаружены у здоровых женщин по сравнению с пациентками II и III групп. Различия достоверны по частоте обнаружения двух генотипов *G. vaginalis* в I и II группах женщин ($p < 0,001$). В III группе два генотипа не были обнаружены ни в одном случае. Интересны данные по выявлению трех и четырех генотипов *G. vaginalis* в группе женщин с рецидивирующим течением БВ. Такое количество генотипов не обнаруживалось во влагалище женщин с первым эпизодом БВ, а среди здоровых женщин частота их выявления была существенно ниже ($p < 0,001$), также значительно ниже была и концентрация этих генотипов.

Таким образом, одновременное выявление трех и более генотипов *G. vaginalis* во влагалище женщин и их максимальная концентрация более 10^8 ГЭ/мл наиболее характерны для рецидивирующего течения БВ. По-видимому, разные генотипы, а возможно, разные виды гарднерелл, потенцируют патогенный потенциал друг друга, способствуя образованию прочной бактериальной пленки. Поэтому заболевание часто рецидивирует, не поддаваясь традиционным методам терапии.

Далее мы исследовали, как сочетались генотипы *G. vaginalis* друг с другом у здоровых женщин и женщин с БВ (табл. 2).

Как видно из данных, приведенных в таблице 2, среди здоровых женщин в вагинальном биоотопе в 38,2% случаев выявлялся какой-либо один генотип *G. vaginalis*, причем наиболее часто это был генотип 4 (35,2%). Сочетание генотипов *G. vaginalis* было разным, выявлялось с частотой от 0,6% (1-й и 2-й генотипы) до 18,5% (1-й и 4-й генотипы). В случае выявления одного генотипа *G. vaginalis* у здоровых женщин концентрация ДНК *G. vaginalis* была низкой: 10^2 – 10^3 ГЭ/мл. При выявлении нескольких генотипов гарднерелл одновременно у здоровых женщин концентрация ДНК не превышала 10^4 ГЭ/мл.

Совершенно другая картина наблюдалась среди женщин с БВ. При первом эпизоде БВ превалировал 4-й генотип *G. vaginalis*, как в качестве единственного генотипа, так и в сочетании с 1-м, или 2-м, или 3-м. При рецидивирующем течении БВ выявлялись исключительно сразу 3–4 генотипа *G. vaginalis*, причем в 78% случаев имело место сочетание 1-го, 2-го и 4-го генотипов, а концентрация ДНК составляла 10^7 – 10^8 ГЭ/мл.

По-видимому, выявление каждого генотипа *G. vaginalis* по отдельности не имеет большого прогностического значения для диагностики рецидивирующих форм БВ. Именно соотношение генотипов и одновременное выявление сразу нескольких, причем наиболее часто 1-го, 2-го и 4-го генотипов, а также их повышенное количественное содержание может помочь в прогнозировании и диагностике рецидивирующих форм БВ, а это, в свою очередь, улучшит качество терапии БВ. Поскольку в патогенезе рецидивов БВ существенную роль играют биопленки, образованные разными бактериями, в основном *G. vaginalis* [11, 30], генетический анализ этих микроорганизмов позволит выявить биопленкообразующие гарднереллы. На сегодняшний день в широкой медицинской практике выявление бактериальных пленок при БВ затруднительно. В ряде исследований отмечено использование технологии FISH для выявления биопленок [31], однако в диагностической работе эта технология не используется. Опосредованно возможно выявление ключевых клеток в отделяемом влагалища в качестве маркера биопленки, однако многие лаборатории неправильно трактуют эти клетки. Здесь требуется обучение врачей лабораторной службы методам микроскопического исследования вагинальных мазков. Разработка и внедрение в практику лабораторной диагностики метода ПЦР в реальном времени с выявлением разных генотипов *G. vaginalis* помогут в диагностике рецидивирующих форм БВ.

Закключение

Для рецидивирующего течения БВ наиболее характерным является одновременное выявление трех и более генотипов *G. vaginalis* во влагалище женщин и их максимальная концентрация более 10^8 ГЭ/мл. При рецидивирующем течении БВ выявлялись исключительно сразу 3–4 генотипа *G. vaginalis*, причем в 78% случаев имеет место сочетание 1-го, 2-го и 4-го генотипов. Для диагностики рецидивирующих форм БВ необходимы разработка и внедрение в практику лабораторной диагностики тест-системы для выявления разных генотипов *G. vaginalis* методом ПЦР в реальном времени.

Список литературы / References

1. Shipitsyna E, Khushnudinova T, Budilovskaya O et al. Bacterial vaginosis-associated vaginal microbiota is an age-independent risk factor for Chlamydia trachomatis, Mycoplasma genitalium and Trichomonas vaginalis infections in low-risk women, St. Petersburg, Russia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2020 Jul; 39 (7): 1221–1230. DOI: 10.1007/s10096-020-03831-w. Epub 2020 Feb 8. PMID: 32036466. PMID: PMC 7303053.
2. Schwebke JR, Desmond R. Natural history of asymptomatic bacterial vaginosis in a high-risk group of women. Sexually transmitted diseases. 2007; 34 (11): 876–7. DOI: 10.1097/OLQ.0b013e318073bd82.
3. Oduyebo OO, Anorlu RI, Ogunsoola FT. The effects of antimicrobial therapy on bacterial vaginosis in non-pregnant women. Cochrane Database Syst Rev 2009; DOI: 10.1002/14651858.CD006055.pub2.
4. Sobel JD, Schmitt C, Meriwether C. Long-term follow-up of patients with bacterial vaginosis treated with oral metronidazole and topical clindamycin. J Infect Dis. 1993 Mar; 167 (3): 783–4. DOI: 10.1093/infdis/167.3.783. PMID: 8440952.
5. Bradshaw CS, Morton AN, Hocking J, et al. High recurrence rates of bacterial vaginosis over the course of 12 months after oral metronidazole therapy and factors associated with recurrence. J Infect Dis. 2006 Jun 1; 193 (11): 1478–86. DOI: 10.1086/503780. Epub 2006 Apr 26. PMID: 16652274.
6. Bradshaw CS, Walker SM, Vodstrcil LA, et al. The influence of behaviors and relationships on the vaginal microbiota of women and their female partners: the WOW Health Study. J Infect Dis. 2014 May 15; 209 (10): 1562–72. DOI: 10.1093/infdis/jit664. Epub 2013 Nov 27. PMID: 24285846.
7. Vodstrcil LA, Walker SM, Hocking JS, et al. Incident bacterial vaginosis (BV) in women who have sex with women is associated with behaviors that suggest sexual transmission of BV. Clin Infect Dis. 2015 Apr 1; 60 (7): 1042–53. DOI: 10.1093/cid/ciu1130. Epub 2014 Dec 16. PMID: 25516188.
8. Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V, et al. An adherent Gardnerella vaginalis biofilm persists on the vaginal epithelium after standard therapy with oral metronidazole. Am J Obstet Gynecol. 2008 Jan; 198 (1): 97.e1–6. DOI: 10.1016/j.ajog.2007.06.039. Epub 2007 Nov 19. PMID: 18005928.
9. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Mendling W, et al. Infection through structured polymicrobial Gardnerella biofilms (SPM-G8). Histol Histopathol. 2014 May; 29 (5): 567–87. DOI: 10.14670/HH-29.10.567. Epub 2013 Dec 11. PMID: 24327088.
10. Muzny CA, Schwebke JR. Biofilms: An Underappreciated Mechanism of Treatment Failure and Recurrence in Vaginal Infections. Clin Infect Dis. 2015 Aug 15; 61 (4): 601–6. DOI: 10.1093/cid/civ353. Epub 2015 May 1. PMID: 25935553. PMID: PMC 4607736.
11. Machado A, Cerca N. Influence of Biofilm Formation by Gardnerella vaginalis and Other Anaerobes on Bacterial Vaginosis. J Infect Dis. 2015 Dec 15; 212 (12): 1856–61. DOI: 10.1093/infdis/jiv338. Epub 2015 Jun 16. PMID: 26080369.
12. Castro J, Cerca N. BV and non-BV associated Gardnerella vaginalis establish similar synergistic interactions with other BV-associated microorganisms in dual-species biofilms. Anaerobe. 2015 Dec; 36: 56–9. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2015.10.008. Epub 2015 Oct 24. PMID: 26505928.
13. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Swidsinski S, Verstraeten H. Polymicrobial Gardnerella biofilm resists repeated intravaginal antiseptic treatment in a subset of women with bacterial vaginosis: a preliminary report. Arch Gynecol Obstet. 2015 Mar; 291 (3): 605–9. DOI: 10.1007/s00404-014-3484-1. Epub 2014 Sep 23. PMID: 25245669.
14. Alves P, Castro J, Sousa C, Cereija TB, Cerca N. Gardnerella vaginalis outcompetes 29 other bacterial species isolated from patients with bacterial vaginosis, using an in vitro biofilm formation model. J Infect Dis. 2014 Aug 15; 210 (4): 593–6. DOI: 10.1093/infdis/jiu131. Epub 2014 Mar 4. PMID: 24596283.
15. Machado A, Jefferson KK, Cerca N. Interactions between Lactobacillus crispatus and bacterial vaginosis (BV)-associated bacterial species in initial attachment and biofilm formation. Int J Mol Sci. 2013 Jun 5; 14 (6): 12004–12. DOI: 10.3390/ijms140612004. PMID: 23739678. PMID: PMC 3709769.
16. Castro J, Alves P, Sousa C, Cereija T, França Â, Jefferson KK, Cerca N. Using an in-vitro biofilm model to assess the virulence potential of bacterial vaginosis or non-bacterial vaginosis Gardnerella vaginalis isolates. Sci Rep. 2015 Jun 26; 5: 11640. DOI: 10.1038/srep11640. PMID: 26113465. PMID: PMC 4481526.
17. Piot P, Van Dyck E, Peeters M, Hale J, Totten PA, Holmes KK. Biotypes of Gardnerella vaginalis. J Clin Microbiol. 1984 Oct; 20 (4): 677–9. DOI: 10.1128/JCM.20.4.677–679.1984. PMID: 6333366. PMID: PMC 271409.
18. Benito R, Vazquez JA, Berron S, Fenoll A, Saez-Neito JA. A modified scheme for biotyping Gardnerella vaginalis. J Med Microbiol. 1986 Jun; 21 (4): 357–9. DOI: 10.1099/j00222615-21-4-357. PMID: 3088281.
19. Santiago GL, Deschaght P, El Aila N, Kiana TN, Verstraeten H, Jefferson KK, Temmerman M, Vaneechoutte M. Gardnerella vaginalis comprises three distinct genotypes of which only two produce sialidase. Am J Obstet Gynecol. 2011 May; 204 (5): 450.e1–7. DOI: 10.1016/j.ajog.2010.12.061. Epub 2011 Mar 27. PMID: 21444061.
20. Paramel Jayaprakash T, Schellenberg JJ, Hill JE. Resolution and characterization of distinct cpn60-based subgroups of Gardnerella vaginalis in the vaginal microbiota. PLoS One. 2012; 7 (8): e43009. DOI: 10.1371/journal.pone.0043009. Epub 2012 Aug 10. PMID: 22900080. PMID: PMC 3416817.
21. Ahmed A, Earl J, Retchless A, Hillier SL, Rabe LK, Cherpes TL, Powell E, Janto B, Eutsey R, Hillier NL, Boissy R, Dahlgren ME, Hall BG, Costerton JW, Post JC, Hu FZ, Ehrlich GD. Comparative genomic analyses of 17 clinical isolates of Gardnerella vaginalis provide evidence of multiple genetically isolated clades consistent with speciation into genovars. J Bacteriol. 2012 Aug; 194 (15): 3922–37. DOI: 10.1128/JB.00056–12. Epub 2012 May 18. PMID: 22609915. PMID: PMC 3416530.
22. Lewis WG, Robinson LS, Gilbert NM, Perry JC, Lewis AL. Degradation, foraging, and depletion of mucus sialoglycans by the vagina-adapted Actinobacterium Gardnerella vaginalis. J Biol Chem. 2013 Apr 26; 288 (17): 12067–79. DOI: 10.1074/jbc.M113.453654. Epub 2013 Mar 11. PMID: 23479734. PMID: PMC 3636892.
23. Brisdelen AM, Moncla BJ, Stevens CE, Hillier SL. Sialidases (neuraminidases) in bacterial vaginosis and bacterial vaginosis-associated microflora. J Clin Microbiol. 1992 Mar; 30 (3): 663–6. DOI: 10.1128/JCM.30.3.663–666.1992. PMID: 1551983. PMID: PMC 265128.
24. Swidsinski A, Doerffel Y, Loening-Baucke V, Swidsinski S, Verstraeten H, Vaneechoutte M, Lemm V, Schilling J, Mendling W. Gardnerella biofilm involves females and males and is transmitted sexually. Gynecol Obstet Invest. 2010; 70 (4): 256–63. DOI: 10.1159/000314015. Epub 2010 Oct 16. PMID: 21051845.
25. Vaneechoutte M, Guschin A, Van Simaey L, Gansemans Y, Van Nieuwerburgh F, Cools P. Emended description of Gardnerella vaginalis and description of Gardnerella leopoldii sp. nov., Gardnerella ptoii sp. nov. and Gardnerella swidsinskii sp. nov., with delineation of 13 genomic species within the genus Gardnerella. Int J Syst Evol Microbiol. 2019 Mar; 69 (3): 679–687. DOI: 10.1099/ijsem.0003200. Epub 2019 Jan 16. PMID: 30648938.
26. Brooke M Faught I, Sonia Reyes J Womens Health (Larchmt) 2019 Sep; 28 (9): 1218–1226. Characterization and Treatment of Recurrent Bacterial Vaginosis DOI: 10.1089/jwh.2018.7383.
27. Balashov SV, Mordechai E, Adelson ME, Gygas SE. Identification, quantification and subtyping of Gardnerella vaginalis in noncultured clinical vaginal samples by quantitative PCR. J Med Microbiol. 2014 Feb; 63 (Pt 2): 162–175. DOI: 10.1099/jmm.0.066407-0. Epub 2013 Nov 7. PMID: 24200640.
28. Zozaya-Hinchliffe M, Lillis R, Martin DH, Ferris MJ. Quantitative PCR assessments of bacterial species in women with and without bacterial vaginosis. J Clin Microbiol. 2010 May; 48 (5): 1812–9. DOI: 10.1128/JCM.00851–09.
29. Castro J, Jefferson KK, Cerca N. Genetic Heterogeneity and Taxonomic Diversity among Gardnerella Species. Trends Microbiol. 2020 Mar; 28 (3): 202–211. DOI: 10.1016/j.tim.2019.10.002. Epub 2019 Nov 4. PMID: 31699644.
30. Castro J, Machado D, Cerca N. Unveiling the role of Gardnerella vaginalis in polymicrobial Bacterial Vaginosis biofilms: the impact of other vaginal pathogens living as neighbors. ISME J. 2019 May; 13 (5): 1306–1317. DOI: 10.1038/s41396-018-0337-0. Epub 2019 Jan 22. PMID: 30670827. PMID: PMC 6474217.
31. Machado A, Cerca N. Multiplex Peptide Nucleic Acid Fluorescence in Situ Hybridization (PNA-FISH) for Diagnosis of Bacterial Vaginosis. Methods Mol Biol. 2017; 1616: 209–219. DOI: 10.1007/978-1-4939-7037-7_13. PMID: 28600771.

Статья поступила / Received 19.04.21
Получена после рецензирования / Revised 28.04.21
Принята в печать / Accepted 30.04.21

Сведения об авторах

Крысанова Анна Александровна, н.с. группы экспериментальной микробиологии¹, ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики ФП и ДПО². E-mail: krusanova.anna@mail.ru. ID researcher: K-3678-2018. Scopus: 57199643089. ORCID: 0000-0003-4798-1881

Гущин Александр Евгеньевич, к.б.н., вед.н.с.³. E-mail: mcdik@zdrav.mos.ru. ORCID ID: 0000-0002-0399-1167

Савичева Алевтина Михайловна, д.м.н., проф., з.д.н. РФ, зав. отделом медицинской микробиологии¹, зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики². ID researcher: P-6788-2015. Scopus: 6602838765. E-mail: savicheva@mail.ru

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д. О. Отта», Санкт-Петербург

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург

³ГБУЗ г. Москвы «Московский научно-практический центр дерматовенерологии и косметологии Департамента здравоохранения Москвы»

Автор для переписки: Крысанова Анна Александровна. E-mail: krusanova.anna@mail.ru

About authors

Krusanova Anna A., researcher of the Group of Experimental Microbiology¹, assistant of Dept of Clinical Laboratory Diagnostics². E-mail: krusanova.anna@mail.ru. Researcher ID: K-3678-2018. Scopus: 57199643089. ORCID: 0000-0003-4798-1881

Gushchin Alexander E., PhD Bio, led. researcher³. E-mail: mcdik@zdrav.mos.ru. ORCID ID: 0000-0002-0399-1167

Savicheva Alevtina M., DM Sci (habil.), professor, head of Dept of Medical Microbiology¹, head of Dept of Clinical Laboratory Diagnostics². Researcher ID: P-6788-2015. Scopus: 6602838765. E-mail: savicheva@mail.ru

¹Scientific and Research Institute for Obstetrics and Gynecology n.a. D. O. Ott, Saint Petersburg, Russia

²Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia

³Moscow Scientific and Practical Centre for Dermatovenereology and Cosmetology, Moscow, Russia

Corresponding author: Krusanova Anna Alexandrovna. E-mail: krusanova.anna@mail.ru

For citation: Krusanova A.A., Guschin A.E., Savicheva A.M. Significance of Gardnerella vaginalis genotyping in diagnosis of recurrent bacterial vaginosis. Medical alphabet. 2021; (30):48–52. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-30-48-52>

