

АКУШЕРСТВО ГИНЕКОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИЯ

Включен в перечень ведущих
рецензируемых журналов и изданий ВАК

2013 • Том 7 • № 2

**Методы исследования
шейки матки
у беременных женщин**

БИОПЛЕНКИ ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОМ ВАГИНОЗЕ

Березовская Е.С.¹, Макаров И.О.¹, Гомберг М.А.², Боровкова Е.И.¹,
Чулкова Е.А.¹, Аракелян Л.А.¹

¹ ГБОУ ВПО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава РФ, Москва

² Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова

Резюме: обзор литературы посвящен состоянию изученности проблемы рецидивирования бактериального вагиноза, представлена современная теория патогенеза с точки зрения формирования микробных биопленок и ассоциации микроорганизмов.

Ключевые слова: бактериальный вагиноз, ключевые клетки, дисбактериоз влагалища, биопленки, лактобактерии.

Бактериальный вагиноз (БВ) является одним из наиболее распространенных нарушений состава вагинальной микрофлоры у женщин репродуктивного возраста. В гинекологической практике БВ выявляют у 15-19% пациенток с выделениями из влагалища, у 10-30% беременных и у 35% женщин с воспалительными заболеваниями органов малого таза [3].

БВ считается синергическим полимикробным синдромом, который характеризуется снижением концентрации или полным отсутствием *Lactobacillus spp.* и интенсивным ростом облигатно- и факультативно-анаэробных условно-патогенных микроорганизмов. Специфичными для БВ бактериями, заполняющими влагалищный биотоп, являются *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella spp.*, *Porphyromonas spp.*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus spp.*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* и *Mobiluncus*. В большинстве случаев развития БВ обнаруживают *Gardnerella vaginalis*. Основная роль в возникновении БВ отводится нарушениям микробиоценоза влагалища, происходящим в результате воздействия как экзогенных (длительная нерациональная терапия антибиотиками, цитостатиками, частое использование тампонов, спермицидов), так и эндогенных (гормональных изменений, нарушений в системе местного иммунитета) триггерных факторов [6].

Доказано, что у каждой второй пациентки БВ может протекать бессимптомно. Вместе с тем БВ часто имеет хроническое или рецидивирующее течение, однако причина возникновения рецидивов недостаточно изучена. В последние годы большое внимание исследова-

вателей привлечено к изучению совокупностей микроорганизмов, объединенных в биопленки, в которых бактерии взаимодействуют друг с другом и приобретают повышенную устойчивость к факторам внешней среды [1,2,4].

Согласно классическому определению микробные биопленки – это сообщества микроорганизмов, прикрепленных к эпителиальным, погруженным в матрикс, клеткам, образованный внеклеточными полимерными субстанциями [16]. Отличительным свойством биопленки является наличие гликокаликса биосинтетического полимерного конгломерата, окружающего бактерии и состоящего из внеклеточной ДНК, белков, полисахаридов, нуклеиновых кислот и гликопротеидов [8]. Биопленки в природе обычно состоят из смешанных видов бактерий и выполняют защитную и функциональную роль в различных нишах. Формирование биопленок рассматривается как способность микроорганизмов адаптироваться к особым условиям выживания [9,12,15].

Выделяют пять стадий развития биопленки [17]:

1. Закрепление отдельных бактерий на поверхности эпителия. Вначале происходит первичное прикрепление микроорганизмов к поверхности (адгезия, сорбция) из окружающей среды. Эта стадия обратима.

2. Взаимодействие бактерий друг с другом. Окончательное (необратимое) прикрепление, фиксация микроорганизмов. На этой стадии микробы выделяют внеклеточные полимеры, обеспечивающие прочную адгезию.

3. Формирование зрелой биопленки. Первые бактерии, прикрепившиеся к поверхности, облегчают прикрепление последующих клеток, а внеклеточный матрикс удерживает вместе всю колонию. На этой стадии происходит накопление питательных веществ и клетки начинают делиться.

4. Рост. Образование зрелой биопленки в белково-полисахаридном каркасе и изменение ее размера и формы. Внеклеточный матрикс служит защитой клеток от внешних факторов.

5. Дисперсия. На этой стадии происходит отщепление бактерий-спор, которые способны через некото-

рое время прикрепляться к поверхности эпителиальных клеток для образования новых колоний биопленок.

Для биопленок описан феномен кворумной сигнализации – сетевой коммуникации бактерий (Quorum Sensis), координирующей экспрессию бактериальных генов в зависимости от условий внешней среды [13,17]. Такая организация обеспечивает ее физиологическую и функциональную стабильность и является основой конкурентного выживания в экологической нише. Сообщество микроорганизмов организует единую генетическую систему в виде плазмид-кольцевых ДНК, несущих поведенческий код, для компонентов биопленки, определяющих их пищевые, энергетические и другие связи между собой и внешним миром [5]. Предполагается, что при достижении некоторого количества бактерий в биопленке происходит разделение и выход ряда бактерий для создания новых колоний биопленок.

По влиянию на здоровье человека микробные биопленки можно разделить на нормальные и патологические. Примером нормальных биопленок является влажлищная индигенная флора. Важным компонентом индигенной флоры являются лактобациллы, бифидобактерии и пропионобактерии. Влажлищные лактобациллы способны синтезировать перекись водорода, подавляющую рост облигатных анаэробов родов *Mobiluncus*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, *Clostridium* и др. Важным защитным фактором влажлищной индигенной микрофлоры является ее способность синтезировать лизоцим и бактериоцины. Колонизационные свойства индигенной флоры в наибольшей степени зависят от ее адгезивных свойств. Прикрепление к поверхности эпителиоцитов и формирование на слизистой оболочке влажлища биопленки, состоящей из влажлищной слизи, колоний индигенной микрофлоры и ее метаболитов, являются мощными защитными факторами, предупреждающими адгезию и чрезмерное развитие условно-патогенных микроорганизмов, а также проникновение их клеток и продуктов обмена за пределы влажлищного биотопа [3,4,5,6].

Патологические биопленки это биопленки, образованные микроорганизмами, являющимися возбудителями инфекционного процесса. Около 60% микробных инфекций человека сопровождается образованием биопленок. К особенностям биопленочных инфекций относятся:

1. Затяжное течение процесса и склонность к его хронизации.

2. Повышенная вероятность диссеминации возбудителя, приводящая к генерализации инфекционного процесса. Биопленки, образованные грамотрицательными бактериями, могут продуцировать эндотоксин, что может приводить к развитию инфекционно-токсического шока.

3. Неэффективность методов традиционной антимикробной терапии. Бактерии в биопленках могут

обмениваться плазмидами резистентности (передача резистентности от вида к виду).

4. Бактерии в биопленке не поддаются воздействию иммунной системы хозяина.

У пациенток с БВ биопленки выявляются в 90% случаев. Наиболее распространенными микроорганизмами, входящими в состав биопленок при БВ, являются *G. Vaginalis* (от 60 до 90% массы биопленки), *Sneathiasanguinegens*, *Porphyromonas assaccharolytica*, *Megasphaera spp.*, *A. vaginae* (от 1 до 40% массы биопленки), а также вагиноз-ассоциированные бактерии, родственные *Clostridium phylum*, *Megasphaera* и/или *Leptotrichia* и др. Биопленка повышает степень адгезии бактерий к поверхности эпителия, что позволяет им достигать более высоких концентраций и препятствовать проникновению лекарственных препаратов к бактериям, находящимся в пленке в неактивном состоянии. Подтверждено наличие постоянной и адгезивной бактериальной биопленки *A. vaginae* совместно с *G. vaginalis*, что может являться причиной отсутствия эффекта от лечения БВ при использовании метронидазола [3,6].

В среднем рецидив БВ развивается примерно у 30% женщин в течение первых трех месяцев после завершения лечения и у 80% пациенток в течение 9 месяцев после лечения. Нерациональная антибактериальная терапия приводит к образованию биопленок, содержащих патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, резистентные к ряду антибиотиков. Биопленки на слизистых оболочках могут блокировать воспалительный ответ, снижая активность иммунных клеток, они сохраняют жизнеспособность микроорганизмов при концентрациях перекиси водорода и молочной кислоты в 4-8 раз более высоких, чем требуется для подавления отдельных бактерий вне пленок. Предполагается, что при воздействии антибиотика в пределах биопленки число резистентных микроорганизмов может быть изначально незначительным, но при повторном применении препаратов той же группы благодаря кворумной сигнализации число резистентных бактерий увеличивается, что в результате приводит к быстрому заселению биопленки резистентными формами [7].

Установлено, что в основе повышенной выживаемости лежат свойства клеток и внеклеточного матрикса. Матрикс биопленки может связывать и не пропускать и/или инактивировать антибиотики [9,11,12]. Устойчивость, обусловленную свойствами биопленки, объясняют уменьшением свободной поверхности за счет контактов друг с другом и формированием особых бактерий, получивших название персистеров. Персистеры в силу дифференцировки временно становятся устойчивыми практически ко всем антибактериальным препаратам [14,15,16]. Основными же механизмами повышения устойчивости бактерий к антибиотикам в биопленках являются:

1. Ограничение проникновения антибиотиков через биопленки.

2. Ограничение питания и измененная микросреда в биопленке приводят к уменьшению скорости деления бактерий, вследствие чего остается меньше мишеней для действия антибиотиков.

3. Адаптивные реакции.

4. Генная изменчивость у персистирующих в биопленке бактерий.

Терапия биопленочных инфекций должна сочетать антимикробные и антибиопленочные препараты. Нельзя нарушить биопленку без применения эффективных антимикробных препаратов, т.е. нельзя использовать антибиопленочные препараты без антимикробных препаратов либо с антимикробными препаратами, в эффективности которых нет уверенности [10].

В связи с тем, что по данным последних исследований, *G. vaginalis* имеет сниженную адаптивную способность по отношению к кислотности среды, т.е. генетически не приспособлена к выживанию в кислой среде, необходимым компонентом терапии БВ должно быть восстановление и поддержание кислой среды влагалища – без этого этапа терапии не устраняются патологические факторы, приводящие к рецидиву [7].

Таким образом, усовершенствование лабораторных методов диагностики, внедрение в клиническую практику новых высокоэффективных средств с целью коррекции дисбиотических состояний влагалища, учет сопутствующей патологии и предрасполагающих факторов позволят снизить число заболеваемости БВ и предотвратить развитие рецидивов заболевания.

Литература:

1. Лаврова Л.В., Левочкина Л.Н., Копейкина Е.А., Шеманаева Т.В. Бактериальный вагиноз: сравнительная оценка эффективности локальной антибактериальной терапии. Гинекология. 2011; 3: 41-43.
2. Лобанов В.В. Роль липополисахарида при воздействии комплемента на гра-отрицательные бактерии. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2004; 5: 114-118.
3. Мавзютов А.Р. Бактериальный вагиноз: этиопатогенетические аспекты. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2007; 6: 93-100.
4. Микробная экология влагалища. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2002; 6: 91-99.
5. Плахова К.И. Особенности терапии бактериального вагиноза, ассоциированного с *Atopobiumvaginae*, и характеристика выделений из влагалища с использованием ДНК-чипов (клинико-лабораторное исследование). Автореф. дис. канд. мед. наук. М. 2007; 19 с.
6. Тихомиров А.Л., Сарсания С.И. Современные особенности бактериального вагиноза так ли все просто? Школа клинициста. 2010; 31: С. 536
7. Титов В.Н. Липополисахариды грамотрицательных бактерий как экзогенные патогены. Транслокация бактерий *in vivo*, воспаление и патология сердечно-сосудистой системы. Клиническая лабораторная диагностика. 2005; 8: 23-38.
8. Тец В.В. Бактериальные сообщества. В кн.: Клеточные сообщества. СПб. 1998; 15-73.
9. Costerton J.W., Stewart P.S., Greenberg E.P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Science 1999; 284: 1318-22.
10. Costerton W., Veoh R., Shirtliff M. et al. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. Clin. Invest 2003; 112: 1466-77.
11. Chambless J.D., Hunt S.M., Philip S.S. A three-dimensional computer model of four hypothetical mechanisms protecting biofilms from antimicrobials Appl. and Environmental Microbiology. 2006; 72: 2005-13.
12. Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. Nat. Rev. Drug. Discov. 2003; 2: 114-22.
13. O'Toole G.A., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development. Ann. Rev. Microbiol. 2000; 54: 49-79.
14. Sandoe J. et al. Measurement of ampicillin, vancomycin, linezolid and gentamicin activity against enterococcal biofilms. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2006; 57: 767-70.
15. Shah K.D., Spoering A.N., Lewis K.K. Specialized persister cells and the mechanism of multidrug tolerance in *Escherichia coli*. J. Bacteriol. 2004; 186: 8172-80.
16. Tetz V.V. The effect of antimicrobial agents and mutagen on bacterial cells in colonies. Med Microbiol. Lett. 1996; 5: 426-36.
17. Watnick P., Kolter R., Biofilm, city of microbes. J. Bacteriol. 2000;182: 2675-9.

BIOFILM FORMATION AT THE BACTERIAL VAGINOSIS

Berezovskaya E.S.¹, Makarov I.O.¹, Gomberg M.A.², Borovkova E.I.¹, Chulkova E.A.¹, Arakelyan L.A.¹

¹ State Federal-Funded Educational Institution of Higher Vocational Training I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

² Moscow State University of Medicine and Dentistry

Abstract: a review of the literature dedicated to the state of knowledge of the problem of recurrent bacterial vaginosis, presents the modern theory of pathogenesis in terms of formation of microbial biofilms and Association of microorganisms.

Key words: bacterial vaginosis, key cells, dysbiosis of vagina, lactobacteria, diofilm.