

ПРЕОБЛАДАНИЕ *LACTOBACILLUS INERS* В МИКРОБИОЦЕНОЗЕ ВЛАГАЛИЩА ЖЕНЩИН С УМЕРЕННЫМ ДИСБИОЗОМ АССОЦИИРОВАНО С НАЛИЧИЕМ КЛИНИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ ВЛАГАЛИЩА

Е. С. Ворошилина^{1,2} ✉, Е. Э. Плотко^{2,3}, Л. В. Хаютин², Н. А. Тищенко¹, Д. Л. Зорников¹

¹ Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии, медико-профилактический факультет, Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург

² Медико-фармацевтический центр «Гармония», Екатеринбург

³ Кафедра акушерства и гинекологии, лечебно-профилактический факультет, Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург

Умеренный дисбиоз влагалища является переходным типом вагинального микробиоценоза, для которого характерно увеличение количества и доли условно-патогенных микроорганизмов при сохранении высокой доли лактофлоры — на уровне 20–80 % от общей микробной биомассы. У части женщин данное состояние микробиоценоза не сопровождается клиническими признаками инфекционно-воспалительной патологии влагалища (ИВП), и возникает вопрос о целесообразности коррекции умеренного дисбиоза в этом случае. В исследовании оценивали взаимосвязь между отдельными микробиологическими показателями и наличием клинических проявлений ИВП у пациенток с умеренным дисбиозом вагинальной микробиоты. Были сформированы две группы участниц: группа 1 — пациентки с клиническими признаками ИВП ($n = 91$), группа 2 — клинически здоровые женщины ($n = 44$). Средний возраст женщин составил $26,9 \pm 6,9$ лет. Микробиоценоз исследовали методом полимеразной цепной реакции в режиме «реального времени». Провели количественную оценку 6 видов лактобацилл в вагинальном отделяемом: *Lactobacillus crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. vaginalis*. Было установлено, что *L. iners* преобладает в микробиоценозе 45 (49,5 %) пациенток с признаками ИВП, тогда как у клинически здоровых женщин преобладание данного вида лактобацилл зафиксировали в 9 (20,5 %) случаях ($p = 0,002$). *L. gasseri*, наоборот, достоверно чаще преобладал в образцах, полученных от клинически здоровых пациенток: 23 (52,3 %) случая против 21 (23,1 %) в группе пациенток с клиническими признаками ИВП ($p = 0,001$).

Ключевые слова: микробиоценоз влагалища, вагинальные лактобациллы, *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus gasseri*, умеренный дисбиоз влагалища

Благодарности: авторы благодарят Валерия Хаютина, директора Медико-фармацевтического центра «Гармония», за возможность выполнения исследования на базе центра.

✉ **Для корреспонденции:** Ворошилина Екатерина Сергеевна
ул. Фурманова, д. 30, г. Екатеринбург, 620142; voroshilina@gmail.com

Статья получена: 09.04.2017 **Статья принята к печати:** 20.04.2017

PREVALENCE OF *LACTOBACILLUS INERS* IN THE VAGINAL MICROBIOTA OF WOMEN WITH MODERATE DYSBIOSIS IS ASSOCIATED WITH CLINICAL SYMPTOMS OF INFECTIOUS INFLAMMATORY CONDITION OF THE VAGINA

Voroshilina ES^{1,2} ✉, Plotko EE^{2,3}, Khayutin LV², Tischenko NA¹, Zornikov DL¹

¹ Department of Microbiology, Virology and Immunology, Faculty of Preventive Medicine, Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia

² Harmony Medical and Pharmaceutical Center, Yekaterinburg, Russia

³ Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine and Healthcare, Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia

Moderate vaginal dysbiosis is a shift in normal vaginal microbiota composition characterized by increased levels of opportunistic microbes and an ordinary high proportion of lactobacilli that make up 20 to 80 % of the total microbial population of the vagina. Some women with vaginal dysbiosis do not show any symptoms of the infectious inflammatory condition (IIC), which raises the question of whether their dysbiosis should be corrected. We studied the association between some parameters of the microbiota and clinical symptoms of IIC in female patients with moderate vaginal dysbiosis. Participants were distributed into two groups: group 1 included patients with clinical symptoms of IIC ($n = 91$), group 2 was comprised of asymptomatic patients ($n = 44$). Mean age was 26.9 ± 6.9 years. Vaginal microbial communities were studied using real-time polymerase chain reaction assays. Levels of six *Lactobacillus* species were measured in the vaginal discharge: *Lactobacillus crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, and *L. vaginalis*. We found that *L. iners* dominated the microbiota of 45 (49.5 %) symptomatic patients and only 9 (20.5 %) asymptomatic individuals ($p = 0.002$), unlike *L. gasseri* that significantly prevailed in the samples of asymptomatic patients: 23 (52.3 %) women vs 21 (23.1 %) in the group of patients with clinical signs of IIC ($p = 0.001$).

Keywords: vaginal microbiota, vaginal lactobacilli, *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus gasseri*, moderate vaginal dysbiosis

Acknowledgements: the authors wish to thank Director of *Harmony* Medical and Pharmaceutical Center, Yekaterinburg, for the opportunity to conduct the study at the facilities of the Center.

✉ **Correspondence should be addressed:** Ekaterina Voroshilina
ul. Furmanova, d. 30, Yekaterinburg, Russia, 620142; voroshilina@gmail.com

Received: 09.04.2017 **Accepted:** 20.04.2017

Многочисленные исследования показывают, что влагалище здоровых женщин колонизируют преимущественно представители рода *Lactobacillus* [1–4]. Принято считать, что вагинальная лактофлора способствует поддержанию колонизационной резистентности биотопа. Кроме лактобацилл эпителий влагалища могут населять другие группы микроорганизмов, однако у здоровых женщин они присутствуют в меньших количествах.

Многие населяющие влагалище микроорганизмы требовательны к условиям культивирования или вовсе не способны к росту на питательных средах [5–8], в том числе отдельные виды лактобацилл не культивируются на традиционных питательных средах. Так, было продемонстрировано, что один из наиболее распространенных видов — *Lactobacillus iners* — не способен к росту на MRS-агаре и агаре Рогоза, применяемых для выделения лактобацилл [9]. Поэтому культуральное исследование дает ограниченное представление о видовом составе вагинального микробиоценоза. На сегодняшний день наиболее информативным подходом для комплексной оценки вагинальной микробиоты является применение молекулярно-генетических методик исследования.

Критерием нормоценоза при исследовании микробиоценоза влагалища методом полимеразной цепной реакции в режиме «реального времени» (ПЦР-РВ) является содержание лактобацилл в количестве не менее 80 % от всех выявляемых микроорганизмов [10]. Состояние микробиоценоза влагалища, при котором доля лактофлоры находится в диапазоне 20–80 % от суммы всех выявленных микроорганизмов, расценивают как умеренный дисбиоз. Этот микробиоценоз представляет интерес для исследователей и врачей: у части пациенток умеренный дисбиоз не сопровождается клиническими проявлениями, поэтому остается открытым вопрос о целесообразности коррекции умеренного дисбиоза при отсутствии у пациенток клинических признаков инфекционно-воспалительной патологии влагалища.

Актуальным представляется поиск микробиологических маркеров, ассоциированных с наличием клинических признаков инфекционно-воспалительной патологии влагалища у пациенток с умеренным дисбиозом. Исследование видового состава лактофлоры у женщин репродуктивного возраста показало, что частота преобладания отдельных видов лактобацилл различается среди пациенток с различными вариантами микробиоценоза [11]. Возможно, существует связь между составом лактофлоры при умеренном дисбиозе и наличием у пациенток объективных и субъективных признаков инфекционно-воспалительной патологии влагалища. Не исключено также, что развитие клинических признаков патологии при умеренном дисбиозе определяется особенностями состава условно-патогенной микрофлоры, представленной разными группами микроорганизмов.

Цель исследования — оценить взаимосвязь между отдельными микробиологическими показателями и наличием клинических проявлений инфекционной патологии влагалища у пациенток с умеренным дисбиозом вагинальной микробиоты.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование включили 135 женщин с умеренным дисбиозом влагалища в возрасте от 18–53 лет (средний возраст — 26,9 ± 6,9 лет), наблюдавшихся в медицинском

центре «Гармония» (г. Екатеринбург) в 2011–2016 гг. Критериями включения являлось отсутствие у пациенток ВИЧ-инфекции, парентеральных гепатитов, возбудителей инфекций, передающихся половым путем: *Treponema pallidum*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium* и *Trichomonas vaginalis*, — а также отсутствие системного или местного приема антимикробных препаратов в течение 4 недель перед исследованием.

Материал для исследования (соскоб заднебоковой стенки влагалища) собирали в пробирку типа Eppendorf, содержащую 1 мл физиологического раствора. ДНК выделяли с помощью набора реагентов «ПРОБА ГС» («НПО ДНК-технология», Россия). Качественный и количественный состав микробиоты влагалища оценивали методом ПЦР-РВ с помощью тест-системы «Фемофлор» («НПО ДНК-технология»). Определение наличия и количества 6 видов вагинальных лактобацилл (*Lactobacillus crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. vaginalis*) проводили методом ПЦР-РВ с использованием тест-систем для научного применения («НПО ДНК-технология»). Постановку ПЦР-РВ осуществляли в детектирующих амплификаторах «ДТ-96» («НПО ДНК-технология»).

Признаки инфекционно-воспалительного заболевания оценивали по наличию жалоб пациенток и объективных клинических проявлений, характерных для инфекционно-воспалительной патологии нижних отделов гениталий.

Для обработки и анализа данных использовали программу Microsoft Office Excel 2007. Для оценки достоверности различий рассчитывали двусторонний критерий Фишера в программе WinPeri.

Исследование было одобрено этическим комитетом при Уральском ГМУ (протокол № 4 от 05.05.2015). Все пациентки дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Все пациентки были разделены на две группы в зависимости от наличия клинических признаков инфекционно-воспалительной патологии нижних отделов гениталий (ИВП). Группу 1 составили 91 человек с клиническими признаками ИВП, группу 2 — 44 клинически здоровых женщины. Была предпринята попытка установить связь между долей лактобацилл в микробиоценозе, преобладающим видом лактобацилл, преобладающим видом условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) и наличием ИВП.

По доле лактофлоры в микробиоценозе всех пациенток разбили на три подгруппы: с долей лактофлоры в 20–40 %, 40–60 % и 60–80 %. Далее оценивали удельный вес каждой подгруппы в группах 1 и 2 (рис. 1). Выявленные различия между группами были статистически недостоверными.

Частота выявления отдельных видов лактобацилл в качестве преобладающих была разной в группах 1 и 2 (рис. 2). *L. iners* достоверно чаще определяли как преобладающий вид в группе 1 (пациентки с ИВП) по сравнению с группой 2: 45 (49,5 %) случаев против 9 (20,5 %) соответственно ($p = 0,002$). *L. gasseri*, наоборот, достоверно чаще преобладал в группе 2 (клинически здоровые женщины) по сравнению с группой 1: 23 (52,3 %) случая против 21 (23,1 %) соответственно ($p = 0,001$). Виды *L. crispatus*, *L. jensenii* и *L. vaginalis* преобладали в обеих группах с сопоставимой частотой.

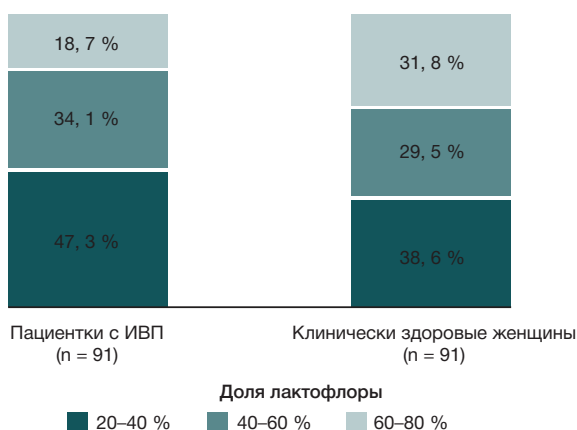


Рис. 1. Доля лактофлоры в микробиоценозе влагалища женщин с умеренным дисбиозом при наличии и отсутствии клинических признаков инфекционно-воспалительной патологии влагалища (n = 135)

Среди условно-патогенной микрофлоры влагалища у каждой второй женщины независимо от наличия признаков ИВП преобладали бактерии группы *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.* (группа GPP). Остальные группы УПМ преобладали значительно реже, достоверных различий между частотой преобладания различных групп УПМ у пациенток в группах 1 и 2 выявлено не было (таблица).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты исследования показывают, что во влагалище женщин репродуктивного возраста лактофлора представлена преимущественно такими видами, как *L. crispatus*, *L. iners*, *L. gasseri*, *L. jensenii*, что согласуется с результатами других исследований [1, 2, 12, 13]. Примечательно, что у пациенток с умеренным дисбиозом среди лактофлоры чаще преобладают виды *L. iners* и *L. gasseri*. Зарубежными исследователями уже было продемонстрировано, что обнаружение этих видов лактобацилл коррелирует с повышенным риском развития бактериального вагиноза и неблагоприятным исходом беременности [14–16]. Ранее нами было показано, что *L. gasseri* может преобладать именно при умеренном дисбиозе [11]. Частое выявление *L. gasseri* в качестве преобладающего вида среди пациенток без признаков ИВП, состояние микробиоценоза которых соответствует критериям умеренного дисбиоза, позволяет предположить, что данный тип микробиоценоза

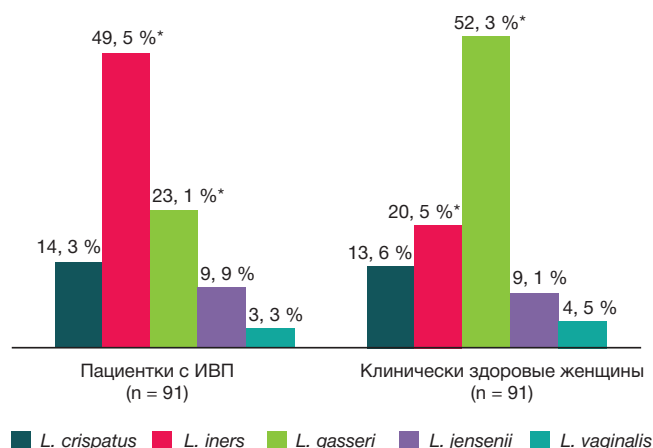


Рис. 2. Частота преобладания отдельных видов лактобацилл в микробиоценозе женщин с умеренным дисбиозом при наличии и отсутствии клинических признаков инфекционно-воспалительной патологии влагалища (n = 135). Звездочками отмечены достоверно различающиеся показатели при $p < 0,01$

может являться вариантом нормы и не требует коррекции. В то же время умеренный дисбиоз с представленной преимущественно *L. iners* лактофлорой часто сопровождается клиническими признаками ИВП. Более того, преобладание *L. iners* ассоциировано с повышенным риском развития выраженных дисбиотических нарушений во влагалище [11]. В недавних исследованиях было установлено, что данный вид лактобацилл быстро адаптируется к меняющимся условиям в биотопе и может выживать в присутствии повышенных количеств УПМ [17, 18]. Поэтому выявление у пациенток с умеренным дисбиозом лактофлоры, представленной исключительно *L. iners*, является крайне неблагоприятным признаком, а такие варианты микробиоценоза однозначно требуют коррекции.

В ходе настоящего исследования не было выявлено зависимости между долей лактофлоры в микробиоценозе и наличием признаков ИВП у пациенток с умеренным дисбиозом влагалища. Однако не исключено, что полученный результат обусловлен малым количеством пациенток в исследуемых группах, тогда как в других исследованиях данная зависимость может быть установлена.

Среди условно-патогенной микрофлоры независимо от наличия ИВП у женщин с умеренным дисбиозом преобладали чаще других микроорганизмы группы GPP. Более чем в половине случаев условно-патогенная микрофлора у обследуемых пациенток была преимущественно представлена бактериями данной группы. В исследованиях *in vitro*

Частота преобладания отдельных групп условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) среди условно-патогенной микрофлоры женщин с умеренным дисбиозом влагалища при наличии и отсутствии клинических признаков инфекционно-воспалительной патологии (ИВП) влагалища (n = 135)

Преобладающая группа УПМ	Пациентки с ИВП (n = 91)	Клинически здоровые женщины (n = 44)
Семейство <i>Enterobacteriaceae</i>	3 (3,3 %)	0
<i>Streptococcus spp.</i>	6 (6,6 %)	6 (13,6 %)
<i>Enterococcus spp.</i>	0	2 (4,5 %)
<i>Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.</i>	50 (54,9 %)	24 (54,5 %)
<i>Eubacterium spp.</i>	8 (8,8 %)	5 (11,4 %)
<i>Sneathia spp./Leptotrichia spp./Fusobacterium spp.</i>	2 (2,2 %)	0
<i>Megasphaera spp./Veilonella spp./Dialister spp.</i>	4 (4,4 %)	3 (6,8 %)
<i>Clostridium spp./Lachnobacterium spp.</i>	3 (3,3 %)	0
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	0	1 (2,3 %)
<i>Atopobium vaginae</i>	15 (16,5 %)	3 (6,8 %)

было продемонстрировано, что *Gardnerella vaginalis*, вид, входящий в состав группы GPP, обладает крайне высоким адгезивным потенциалом [19, 20] и стимулирует рост других УГПМ, в том числе и *Prevotella bivia*, также входящей в состав группы GPP [19]. Было выдвинуто предположение, что именно *G.vaginalis* может являться первичным микроорганизмом, колонизирующим биологическую поверхность и обеспечивающим условия для колонизации другими микроорганизмами [21, 22]. Данные факты и гипотезы объясняют столь частое выявление группы GPP как доминантной среди условно-патогенной микрофлоры у пациенток с умеренным дисбиозом. Возможно, что при усугублении дисбиотических нарушений будет увеличиваться вклад других УГПМ, например, *Atopobium vaginae* — микроорганизма, также высокоассоциированного с дисбиозом влагалища [23–26]. В настоящем исследовании *A. vaginae* в 2 раза чаще преобладал среди услов-

но-патогенной микрофлоры пациенток с признаками ИВП, чем среди клинически здоровых женщин. Однако различия не были статистически достоверными. Можно предположить, что отсутствие достоверности было обусловлено малым объемом группы клинически здоровых пациенток.

ВЫВОДЫ

Преобладание *Lactobacillus iners* в составе лактофлоры влагалища женщин с умеренным дисбиозом ассоциировано с наличием клинических признаков инфекционно-воспалительной патологии нижних отделов гениталий, тогда как преобладание *L. gasseri* характерно для женщин с умеренным дисбиозом, но клинически здоровых. Таким образом, названные микроорганизмы могут быть микробиологическими маркерами в случаях, когда нет однозначных признаков необходимости коррекции микробиоценоза.

Литература

- Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SS, McCulle SL, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011 Mar 15; 108 Suppl 1: 4680–7. DOI: 10.1073/pnas.1002611107.
- Zhou X, Bent SJ, Schneider MG, Davis CC, Islam MR, Forney LJ. Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods. Microbiology. 2004 Aug; 150 (Pt 8): 2565–73. DOI: 10.1099/mic.0.26905-0.
- Zhou X, Brown CJ, Abdo Z, Davis CC, Hansmann MA, Joyce P, et al. Differences in the composition of vaginal microbial communities found in healthy Caucasian and black women. ISME J. 2007 Jun; 1 (2): 121–3. DOI: 10.1038/ismej.2007.12.
- Zhou X, Hansmann MA, Davis CC, Suzuki H, Brown CJ, Schütte U, et al. The vaginal bacterial communities of Japanese women resemble those of women in other racial groups. FEMS Immunol Med Microbiol. 2010 Mar; 58 (2): 169–81. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2009.00618.x.
- Fredricks DN, Fiedler TL, Marrazzo JM. Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis. N Engl J Med. 2005 Nov 3; 353 (18): 1899–911. DOI: 10.1056/NEJMoa043802.
- Handelsman J. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. Microbiol Mol Biol Rev. 2004 Dec; 68 (4): 669–85. DOI: 10.1128/MMBR.68.4.669-685.2004.
- Oakley BB, Fiedler TL, Marrazzo JM, Fredricks DN. Diversity of human vaginal bacterial communities and associations with clinically defined bacterial vaginosis. Appl Environ Microbiol. 2008 Aug; 74 (15): 4898–909. DOI: 10.1128/AEM.02884-07.
- Zozaya-Hinchliffe M, Martin DH, Ferris MJ. Prevalence and abundance of uncultivated Megasphaera-like bacteria in the human vaginal environment. Appl Environ Microbiol. 2008 Mar; 74 (5): 1656–9. DOI: 10.1128/AEM.02127-07.
- Falsen E, Pascual C, Sjoden B, Ohlen M, Collins MD. Phenotypic and phylogenetic characterization of a novel Lactobacillus species from human sources: description of Lactobacillus iners sp. nov. Int J Syst Bacteriol. 1999 Jan; 49 Pt 1: 217–21. DOI: 10.1099/00207713-49-1-217.
- Ворошилина Е. С., Донников А. Е., Плотко Е. Э., Тумбинская Л. В., Хаютин Л. В. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной полимеразной цепной реакции: что есть норма? Акушерство и гинекология. 2011; (1): 57–65.
- Зорников Д. Л., Тумбинская Л. В., Ворошилина Е. С. Взаимосвязь отдельных видов лактобацилл с суммарной долей лактофлоры в вагинальном микробиоценозе и группами условно-патогенных микроорганизмов, ассоциированными с дисбиозом влагалища. Вестник уральской медицинской академической науки. 2015; 4 (55): 99–105.
- Biagi E, Vitali B, Pugliese C, Candela M, Donders GG, Brighi P. Quantitative variations in the vaginal bacterial population associated with asymptomatic infections: a real-time polymerase chain reaction study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2009 Mar; 28 (3): 281–5. DOI: 10.1007/s10096-008-0617-0.
- Shi Y, Chen L, Tong J, Xu C. Preliminary characterization of vaginal microbiota in healthy Chinese women using cultivation-independent methods. J Obstet Gynaecol Res. 2009 Jun; 35 (3): 525–32. DOI: 10.1111/j.1447-0756.2008.00971.x.
- Antonio MA, Hawes SE, Hillier SL. The identification of vaginal Lactobacillus species and the demographic and microbiologic characteristics of women colonized by these species. J Infect Dis. 1999 Dec; 180 (6): 1950–6. DOI: 10.1086/315109.
- Petricevic L, Domig KJ, Nierscher FJ, Sandhofer MJ, Fidesser M, Krondorfer I, et al. Characterisation of the vaginal Lactobacillus microbiota associated with preterm delivery. Sci Rep. 2014 May 30; 4: 5136. DOI: 10.1038/srep05136.
- Verstraelen H, Verhelst R, Claeys G, De Backer E, Temmerman M, Vaneechoutte M. Longitudinal analysis of the vaginal microflora in pregnancy suggests that L. crispatus promotes the stability of the normal vaginal microflora and that L. gasseri and/or L. iners are more conducive to the occurrence of abnormal vaginal microflora. BMC Microbiol. 2009 Jun 2; 9: 116. DOI: 10.1186/1471-2180-9-116.
- Macklaim JM, Fernandes AD, Di Bella JM, Hammond JA, Reid G, Gloor GB. Comparative meta-RNA-seq of the vaginal microbiota and differential expression by Lactobacillus iners in health and dysbiosis. Microbiome. 2013 Apr 12; 1 (1): 12. DOI: 10.1186/2049-2618-1-12.
- Macklaim JM, Gloor GB, Anukam KC, Cribby S, Reid G. At the crossroads of vaginal health and disease, the genome sequence of Lactobacillus iners AB-1. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011 Mar 15; 108 Suppl 1: 4688–95. DOI: 10.1073/pnas.1000086107.
- 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/ijms1406120004.
- Patterson JL, Stull-Lane A, Girerd PH, Jefferson KK. Analysis of adherence, biofilm formation and cytotoxicity suggests a greater virulence potential of Gardnerella vaginalis relative to other bacterial-vaginosis-associated anaerobes. Microbiology. 2010 Feb; 156 (Pt 2): 392–9. DOI: 10.1099/mic.0.034280-0.
- Swidsinski A, Dörffel Y, Loening-Baucke V, Schilling J, Mendling W. Response of Gardnerella vaginalis biofilm to 5 days of moxifloxacin treatment. FEMS Immunol Med Microbiol. 2011 Feb; 61 (1): 41–6. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2010.00743.x.
- Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V, Ladhoff A, Swidsinski S, Hale LP, et al. Adherent biofilms in bacterial vaginosis. Obstet Gynecol. 2005 Nov; 106 (5 Pt 1): 1013–23.

- DOI: 10.1097/01.AOG.0000183594.45524.d2.
23. Bradshaw CS, Tabrizi SN, Fairley CK, Morton AN, Rudland E, Garland SM. The association of *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* with bacterial vaginosis and recurrence after oral metronidazole therapy. *J Infect Dis.* 2006 Sep 15; 194 (6): 828–36. DOI: 10.1086/506621.
 24. Ferris MJ, Maszta A, Aldridge KE, Fortenberry JD, Fidel PL Jr, Martin DH. Association of *Atopobium vaginae*, a recently described metronidazole resistant anaerobe, with bacterial vaginosis. *BMC Infect Dis.* 2004 Feb 13; 4: 5. DOI: 10.1186/1471-2334-4-5.
 25. Menard JP, Fenollar F, Henry M, Bretelle F, Raoult D. Molecular quantification of *Gardnerella vaginalis* and *Atopobium vaginae* loads to predict bacterial vaginosis. *Clin Infect Dis.* 2008 Jul 1; 47 (1): 33–43. DOI: 10.1086/588661.
 26. Trama JP, Pascal KE, Zimmerman J, Self MJ, Mordechai E, Adelson ME. Rapid detection of *Atopobium vaginae* and association with organisms implicated in bacterial vaginosis. *Mol Cell Probes.* 2008 Apr; 22 (2): 96–102. DOI: 10.1016/j.mcp.2007.08.002.

References

1. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SS, McCulle SL, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011 Mar 15; 108 Suppl 1: 4680–7. DOI: 10.1073/pnas.1002611107.
2. Zhou X, Bent SJ, Schneider MG, Davis CC, Islam MR, Forney LJ. Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods. *Microbiology.* 2004 Aug; 150 (Pt 8): 2565–73. DOI: 10.1099/mic.0.26905-0.
3. Zhou X, Brown CJ, Abdo Z, Davis CC, Hansmann MA, Joyce P, et al. Differences in the composition of vaginal microbial communities found in healthy Caucasian and black women. *ISME J.* 2007 Jun; 1 (2): 121–3. DOI: 10.1038/ismej.2007.12.
4. Zhou X, Hansmann MA, Davis CC, Suzuki H, Brown CJ, Schütte U, et al. The vaginal bacterial communities of Japanese women resemble those of women in other racial groups. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2010 Mar; 58 (2): 169–81. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2009.00618.x.
5. Fredricks DN, Fiedler TL, Marrazzo JM. Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis. *N Engl J Med.* 2005 Nov 3; 353 (18): 1899–911. DOI: 10.1056/NEJMoa043802.
6. Handelsman J. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2004 Dec; 68 (4): 669–85. DOI: 10.1128/MMBR.68.4.669-685.2004.
7. Oakley BB, Fiedler TL, Marrazzo JM, Fredricks DN. Diversity of human vaginal bacterial communities and associations with clinically defined bacterial vaginosis. *Appl Environ Microbiol.* 2008 Aug; 74 (15): 4898–909. DOI: 10.1128/AEM.02884-07.
8. Zozaya-Hinchliffe M, Martin DH, Ferris MJ. Prevalence and abundance of uncultivated *Megasphaera*-like bacteria in the human vaginal environment. *Appl Environ Microbiol.* 2008 Mar; 74 (5): 1656–9. DOI: 10.1128/AEM.02127-07.
9. Falsen E, Pascual C, Sjoden B, Ohlen M, Collins MD. Phenotypic and phylogenetic characterization of a novel *Lactobacillus* species from human sources: description of *Lactobacillus iners* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol.* 1999 Jan; 49 Pt 1: 217–21. DOI: 10.1099/00207713-49-1-217.
10. Voroshilina ES, Tumbinskaya LV, Donnikov AE, Plotko EA, Khayutin LV. [Vaginal biocenosis with a view to quantitative polymerase chain reaction: what is its norm?] *Obstetrics and Gynecology.* 2011; (1): 57–65. Russian.
11. Zornikov DL, Tumbinskaya LV, Voroshilina ES. [Relationship vaginal lactobacilli species with common proportion of *Lactobacillus* spp. in vaginal microbiocenosis and amounts of microorganisms, associated with dysbiosis]. *Journal of Ural Medical Academic Science.* 2015; 4 (55): 99–105. Russian.
12. Biagi E, Vitali B, Pugliese C, Candela M, Donders GG, Brigidi P. Quantitative variations in the vaginal bacterial population associated with asymptomatic infections: a real-time polymerase chain reaction study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2009 Mar; 28 (3): 281–5. DOI: 10.1007/s10096-008-0617-0.
13. Shi Y, Chen L, Tong J, Xu C. Preliminary characterization of vaginal microbiota in healthy Chinese women using cultivation-independent methods. *J Obstet Gynaecol Res.* 2009 Jun; 35 (3): 525–32. DOI: 10.1111/j.1447-0756.2008.00971.x.
14. Antonio MA, Hawes SE, Hillier SL. The identification of vaginal *Lactobacillus* species and the demographic and microbiologic characteristics of women colonized by these species. *J Infect Dis.* 1999 Dec; 180 (6): 1950–6. DOI: 10.1086/315109.
15. Petricevic L, Domig KJ, Nierscher FJ, Sandhofer MJ, Fidesser M, Krondorfer I, et al. Characterisation of the vaginal *Lactobacillus* microbiota associated with preterm delivery. *Sci Rep.* 2014 May 30; 4: 5136. DOI: 10.1038/srep05136.
16. Verstraelen H, Verhelst R, Claeys G, De Backer E, Temmerman M, Vaneechoutte M. Longitudinal analysis of the vaginal microflora in pregnancy suggests that *L. crispatus* promotes the stability of the normal vaginal microflora and that *L. gasseri* and/or *L. iners* are more conducive to the occurrence of abnormal vaginal microflora. *BMC Microbiol.* 2009 Jun 2; 9: 116. DOI: 10.1186/1471-2180-9-116.
17. Macklaim JM, Fernandes AD, Di Bella JM, Hammond JA, Reid G, Gloor GB. Comparative meta-RNA-seq of the vaginal microbiota and differential expression by *Lactobacillus iners* in health and dysbiosis. *Microbiome.* 2013 Apr 12; 1 (1): 12. DOI: 10.1186/2049-2618-1-12.
18. Macklaim JM, Gloor GB, Anukam KC, Cribby S, Reid G. At the crossroads of vaginal health and disease, the genome sequence of *Lactobacillus iners* AB-1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011 Mar 15; 108 Suppl 1: 4688–95. DOI: 10.1073/pnas.1000086107.
19. 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/ijms1406120004.
20. Patterson JL, Stull-Lane A, Girerd PH, Jefferson KK. Analysis of adherence, biofilm formation and cytotoxicity suggests a greater virulence potential of *Gardnerella vaginalis* relative to other bacterial-vaginosis-associated anaerobes. *Microbiology.* 2010 Feb; 156 (Pt 2): 392–9. DOI: 10.1099/mic.0.034280-0.
21. Swidsinski A, Dörffel Y, Loening-Baucke V, Schilling J, Mendling W. Response of *Gardnerella vaginalis* biofilm to 5 days of moxifloxacin treatment. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2011 Feb; 61 (1): 41–6. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2010.00743.x.
22. Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V, Ladhoff A, Swidsinski S, Hale LP, et al. Adherent biofilms in bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol.* 2005 Nov; 106 (5 Pt 1): 1013–23. DOI: 10.1097/01.AOG.0000183594.45524.d2.
23. Bradshaw CS, Tabrizi SN, Fairley CK, Morton AN, Rudland E, Garland SM. The association of *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* with bacterial vaginosis and recurrence after oral metronidazole therapy. *J Infect Dis.* 2006 Sep 15; 194 (6): 828–36. DOI: 10.1086/506621.
24. Ferris MJ, Maszta A, Aldridge KE, Fortenberry JD, Fidel PL Jr, Martin DH. Association of *Atopobium vaginae*, a recently described metronidazole resistant anaerobe, with bacterial vaginosis. *BMC Infect Dis.* 2004 Feb 13; 4: 5. DOI: 10.1186/1471-2334-4-5.
25. Menard JP, Fenollar F, Henry M, Bretelle F, Raoult D. Molecular quantification of *Gardnerella vaginalis* and *Atopobium vaginae* loads to predict bacterial vaginosis. *Clin Infect Dis.* 2008 Jul 1; 47 (1): 33–43. DOI: 10.1086/588661.
26. Trama JP, Pascal KE, Zimmerman J, Self MJ, Mordechai E, Adelson ME. Rapid detection of *Atopobium vaginae* and association with organisms implicated in bacterial vaginosis. *Mol Cell Probes.* 2008 Apr; 22 (2): 96–102. DOI: 10.1016/j.mcp.2007.08.002.