

## RESEARCH ARTICLE

## Starea microbiocenozei căilor reproductive la femeile cu iminență de avort în primul trimestru de sarcină: studiu descriptiv, pe serie de cazuri

Iryna Romanenko<sup>1\*</sup>, Oleg Golianovsky<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centrul Ucrainian Științifico-Practic de Chirurgie Endocrină, Transplant de Organe și Țesuturi Endocrine al Ministerului Sănătății al Ucrainei, Kiev, Ucraina;

<sup>2</sup>Departamentul de obstetrică și ginecologie nr. 1, Academia Medicală Națională de Educație Postuniversitară, Shuryk, Kiev, Ucraina.

Data primirii manuscrisului: 25.01.2019

Data acceptării spre publicare: 28.05.2019

### Autor corespondent:

Iryna Yuriivna Romanenko, dr. șt. med., conferențiar universitar  
Cercetător principal

Departamentul de Medicină și Chirurgie Reproductivă  
Centrul Ucrainian Științifico-Practic de Chirurgie Endocrină, Transplant de Organe și Țesuturi Endocrine al Ministerului Sănătății al Ucrainei  
Panta Klovskiy, 13a, Kiev, Ucraina, 02175  
e-mail: iryna.roman2017@gmail.com

### Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Cauzele iminenței de avort în primul trimestru de sarcină nu întotdeauna pot fi explicate. O posibilă influență ar avea-o starea microbiomei vaginale, însă acest aspect este insuficient studiat.

### Ipoteza de cercetare

Iminența de avort în primul trimestru de sarcină ar putea fi asociată cu disbioza căilor genitale inferioare.

### Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Prevalența tulburărilor de microbiocenoză la femeile gravide cu iminență de avort în primul trimestru este de 41,67%. Corectarea disbiozei ar putea reduce riscul avortului spontan.

### Rezumat

**Introducere.** Iminența de avort este cea mai frecventă complicație a sarcinii, care apare în 15-20% din cazurile de sarcină și este asociată cu nașterea prematură, greutatea scăzută la naștere, preeclampsia, ruperea prematură a membra-

## RESEARCH ARTICLE

## Reproductive tract microbiocenosis status in women with imminent abortion in the first trimester of pregnancy: a descriptive, case-series study

Iryna Romanenko<sup>1\*</sup>, Oleg Golianovsky<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ukrainian Scientific and Practical Center for Endocrine Surgery, Transplantation of Endocrine Organs and Tissues of the Ministry of Health of Ukraine, Kiev, Ukraine;

<sup>2</sup>Department of Obstetrics and Gynecology no. 1, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine.

Manuscript received on: 25.01.2019

Accepted for publication on: 28.05.2019

### Corresponding author:

Iryna Yuriivna Romanenko, PhD, associate professor  
Leading researcher

Department of Reproductive Medicine and Surgery  
Ukrainian Scientific and Practical Center for Endocrine Surgery, Transplantation of Endocrine Organs and Tissues of the Ministry of Health of Ukraine  
13a, Klovskiy descent, Kiev, Ukraine, 02175  
e-mail: iryna.roman2017@gmail.com

### What is not known yet, about the topic

The causes of miscarriage in the first trimester of pregnancy cannot always be explained. A possible influence would be the condition of the vaginal microbiome, but this aspect is insufficiently studied.

### Research hypothesis

The imminence of abortion in the first trimester of pregnancy could be associated with dysbiosis of the lower genital tract.

### Article's added novelty on this scientific topic

The prevalence of microbiocenosis disorders in pregnant women with imminent abortion in the first trimester is 41.67%. Correcting dysbiosis could reduce the risk of miscarriage.

### Abstract

**Introduction.** The threatened abortion is the most common complication of pregnancy, which occurs in 15-20% of pregnancies and is associated with premature birth and low birth weight, pre-eclampsia, premature rupture of the mem-

nelor și decolarea placentei. Potrivit cercetătorilor, dereglările microbiocenozei la gravide conduc spre o evoluție complicată a sarcinii, nașterii și perioadei postpartum, precum și la dezvoltarea proceselor infecțioase și inflamatorii la mamă și făt. Scopul cercetării a fost studiul stării microbiocenozei tractului genital la femeile însărcinate cu iminență de avort în primul trimestru, pentru a îmbunătăți tratamentul și profilaxia și pentru a preveni complicațiile obstetricale și perinatale la astfel de femei.

**Material și metode.** Au fost examinate 24 de femei în primul trimestru de sarcină, care au fost spitalizate pentru iminență de avort în spitalele din regiunea Luhansk, Ucraina. A fost efectuat un examen clinic și de laborator cuprinzător. Biocenoza vaginală a fost evaluată, folosind metoda bacterioscopică și reacția de polimerizare în lanț (sistemul de testare Femoflor-Screen) în timp real.

**Rezultate.** Cinci femei (20,83%) au acuzat eliminări patologice din tractului genital, 1 (4,17%) femeie a acuzat senzații de mâncărime și arsură, iar 4 (16,67%) paciente nu prezentau acuze, dar au observat că numărul secrețiilor din tractul genital a crescut ușor în timpul sarcinii. Au fost observate manifestări clinice ale unei dereglări a microbiocenozei vaginale (eliminări, hiperemie) la 8 (33,33%) paciente. Utilizând metoda microscopică și sistemul de testare Femoflor-Screen, normocenoza a fost detectată în 14 (58,33%) cazuri, vaginita nespecifică – în 6 (25,00%) cazuri, candidoza vaginală – în 2 (8,33%) cazuri, vaginoza bacteriană – în 1 (4,17%) caz, tricomonioza – în 1 (4,17%) caz. La compararea rezultatelor obținute folosind metoda microscopică și testul Femoflor-Screen, s-au obținut rezultate concordante pentru 20 de probe (83,33%), iar în 4 (16,67%) cazuri au fost obținute rezultate discordante.

**Concluzii.** Prevalența tulburărilor de microbiocenoză la femeile gravide cu iminență de avort în primul trimestru este de 41,67%. Utilizarea integrată a metodei microscopice și a sistemului de testare Femoflor-Screen permite, în cele mai multe cazuri, identificarea diverselor forme de infecții vulvo-vaginale și cervicale cu verificarea factorului etiologic, precum și stabilirea portajului asimptomatic de bacterii și candida, care este de o importanță fundamentală pentru alegerea tacticii terapeutice.

**Cuvinte cheie:** sarcină, iminență de avort, microfloră vaginală, microbiocenoză, diagnostic de laborator, reacție de polimerizare în lanț.

## Introducere

Iminența de avort (IA) este cea mai frecventă complicație a sarcinii, care apare în 15-20% dintre cazurile de sarcină în evoluție și este asociată cu nașterea prematură, greutatea scăzută la naștere, preeclampsia, ruperea prematură a membranelor, decolarea placentei [1]. În lume, anual, 13 milioane de copii (10% din nașteri) se nasc prematur [2]. Nașterea prematură este cauza pentru aproape jumătate din mortalitatea infantilă din Statele Unite [3].

În pofida succeselor în studiul etiologiei, patogenzei și

branes, placental abruption. According to researchers, microbiocenosis disorders in pregnant women lead to a complicated course of pregnancy, childbirth and the postpartum period, as well as the development of infectious and inflammatory processes in the mother and fetus. The purpose of this research was to study the state of the microbiocenosis of the genital tract in pregnant women with threatened abortions in the first trimester in order to improve therapeutic and preventive measures and to avoid obstetric and perinatal complications in such women.

**Material and methods.** The study included 24 pregnant women in the first trimester of pregnancy, who were hospitalized because of the threatened abortion in the hospitals, located in the Luhansk region. A comprehensive clinical and laboratory examination, assessment of the vaginal biocenosis by the bacterioscopic method and using the polymerase chain reaction with the help of the Femoflor-Screen test system in real time mode were carried out.

**Results.** Five (20.83%) women complained about the presence of pathological discharge from the genital tract, 1 (4.17%) woman was concerned with itching and burning, 4 (16.67%) patients did not complain, but noticed that the amount of discharge from the genital tract increased slightly during the pregnancy. Clinical manifestations of vaginal microbiocenosis disorders (discharge, hyperemia) were observed in 8 (33.33%) patients. When using the microscopic method and the Femoflor-Screen test system, normocenosis was found in 14 (58.33%), nonspecific vaginitis – in 6 (25.00%), vaginal candidiasis – in 2 (8.33%), bacterial vaginosis – in 1 (4.17%) and trichomoniasis – in 1 (4.17%) woman. When comparing the results obtained using the microscopic method and the Femoflor-Screen test, concordant results were obtained for 20 (83.33%) samples, while in 4 (16.67%) cases – discordant results were obtained.

**Conclusions.** The prevalence of microbiocenosis disorders among pregnant women with threatened abortions in the first trimester was 41.67%. The combined use of the microscopic method and the Femoflor-Screen test system makes it possible, in most cases, to identify various forms of vulvovaginal and cervical infections with verification of the etiological factor, as well as to establish asymptomatic bacterial and candida carriage, which is crucial for the choice of treatment tactics.

**Key words:** pregnancy, threatened abortion, vaginal microflora, microbiocenosis, laboratory diagnostics, polymerase chain reaction.

## Introduction

The threatened abortion (TA) is the most common pregnancy complication, which occurs in 15-20% of the cases of ongoing pregnancy and is associated with premature birth, low birth weight, preeclampsia, premature rupture of the membranes and placental abruption [1]. Annually, 13 million children (10% of births) from the whole world are born prematurely [2]. Preterm birth is responsible for nearly half of all infant mortality in the United States [3].

dezvoltării diverselor metode pentru diagnosticarea și tratarea iminenței de avort, frecvența avortului rămâne constantă [4].

În timpul sarcinii, nivelurile de estrogen și progesteron se modifică, ceea ce duce la modificări fiziologice ale tractului genital inferior al femeilor însărcinate, cum ar fi modificarea pH-ului, modificarea imunității locale, care pot duce, uneori, la creșterea concentrației de bacterii anaerobe și a altor microorganisme patogene din vagin [5, 6, 7].

Proiectul „Microbiomul uman”, finalizat în 2012, a caracterizat compoziția microbiomului din diferite părți ale corpului persoanelor sănătoase de diferite naționalități, inclusiv, microbiomul vaginal în timpul sarcinii [8]. S-a stabilit că susceptibilitatea la efectele adverse ale sarcinii depinde de compoziția și structura microbiomului vaginal în timpul sarcinii. Conform datelor recente, infecțiile și modificările sistemului imunitar al mucoaselor tractului genital sunt considerate unul dintre principalii declanșatori ai majorității nașterilor premature [9, 10, 11].

O serie de publicații științifice au arătat că modificările disbiotice ale microflorei vaginale duc la o decurgere complicată a sarcinii, nașterii și perioadei postpartum, precum și la dezvoltarea proceselor infecțioase și inflamatorii la mamă și făt [12-15].

Potrivit multor autori, clarificarea relației microbiocenozei vaginale, imunității locale și înnăscute, aspectelor biologice moleculare și studierea stării de microcenoză vaginală va permite prezicerea dezvoltării proceselor patologice, iar identificarea în timp util a femeilor însărcinate cu risc ridicat de complicații infecțioase și corecția precoce a disbiozei vaginale va reduce frecvența complicațiilor la mamă, făt și nou-născut [16, 17, 18].

În această ordine de idei, scopul studiului a fost studierea stării microbiocenozei tractului genital la femeile însărcinate cu iminență de întrerupere a sarcinii în primul trimestru, pentru a îmbunătăți tratamentul și măsurile profilactice și a preveni complicațiile obstetricale și perinatale la acestea.

## Material și metode

Au fost examinate 24 de femei în primul trimestru de sarcină, care au fost spitalizate pentru iminență de avort în spitalele din orașul Rubezhnoye, Lisichansk, regiunea Luhansk (Ucraina) în 2015-2016. Înainte de începerea examinării, fiecare femeie a semnat un Acord Informat al pacientului pentru efectuarea diagnosticului, tratamentului și prelucrării datelor cu caracter personal.

Criteriile de includere în grupul principal au fost: consimțământul informat al femeii, prezența simptomelor de iminență de avort, vârsta gestațională, corespunzătoare primului trimestru de sarcină.

Observarea și examinarea clinică a femeilor au fost realizate în conformitate cu recomandările prevăzute în Ordinul Ministerului Sănătății din Ucraina din 15 iulie 2011 nr. 417 „Cu privire la organizarea asistenței obstetrice și ginecologice ambulatorii în Ucraina” și celui din 3 noiembrie 2008 nr. 624 – Protocolul clinic „Avortul spontan”. Toate femeile însărcinate

Despite accomplishments in the study of etiology, pathogenesis, and the development of various methods of diagnosis and treatment of the threatened abortion, the frequency of miscarriage remains stable [4].

During pregnancy, estrogen and progesterone levels change, leading to physiological changes in the lower genital tract of pregnant women, such as a change in the pH, change in local immunity, which can sometimes lead to an increase in the concentration of anaerobic bacteria and other pathogenic microorganisms in the vagina [5, 6, 7].

The Human Microbiome Project, completed in 2012, characterized the microbiome composition of various parts of the body of healthy people of different nationalities, including the vaginal microbiomes during the pregnancy [8]. It was established that the susceptibility to the adverse effects of pregnancy depends on the composition and structure of the vaginal microbiome during pregnancy. According to recent data, infection and changes in the immune system of the mucous membranes of the genital tract are considered as some of the main primary triggers of most preterm births [9, 10, 11].

A number of scientific publications have shown that dysbiotic changes in the vaginal microflora lead to a complicated course of pregnancy, childbirth and postpartum period, as well as to the development of infectious and inflammatory processes in the mother and fetus [12-15].

According to many authors, elucidating the relationship of the vaginal microbiocenosis with local and innate immunity, molecular and biological aspects, and the state of vaginal microcenoza will allow to predict the development of pathological processes, timely identifying pregnant women with a high risk of infectious and inflammatory complications, while early correction of vaginal dysbiosis will reduce the frequency of complications in the mother, fetus, and the newborn later on [16, 17, 18].

The purpose of the study was to examine the state of the microbiocenosis of the genital tract in pregnant women with threatened miscarriage in the first trimester in order to improve the therapeutic and prophylactic measures and to prevent the obstetric and perinatal complications in such women.

## Material and methods

We examined 24 women in the first trimester of pregnancy, who were hospitalized for threatened abortion in hospitals in the city of Rubezhnoye, Lisichansk, Luhansk region (Ukraine) in 2015-2016. Before the start of the examination, each subject signed an Informed Consent of the patient for conducting diagnostics, treatment and processing of personal data.

The criteria for inclusion in the main group were the woman's informed consent, the presence of symptoms of threatened abortion and the gestational age, corresponding to the first trimester of pregnancy.

Observation and clinical examination of the women was carried out in accordance with the recommendations set forth in the Orders of the Ministry of Health of Ukraine on July 15, 2011 no. 417 “On the organization of ambulatory obstetric and gynecological care in Ukraine” and on November 3, 2008 no.

au fost supuse unei examinări clinice și de laborator cuprinzătoare: istoric medical, examen clinico-obstetrical, analize clinice și biochimice ale sângelui, coagulograma, teste generale de urină, examene bacterioscopice, examinarea conținutului vaginal și a canalului cervical prin reacția de polimerizare în lanț în timp real, folosind sistemul de testare „Femoflor-Screen”.

Starea microbiocenozei vaginale a fost evaluată după următoarele criterii: contaminarea microbială medie, morfotipurile dominante, prezența celulelor de drojdie, filamentele de pseudomicelii, celule epiteliale, „celule-cheie” și leucocite. Afectarea microbiocenozei vaginale a fost înregistrată dacă: (1) prevalența altor microorganisme asupra lactobacililor a fost detectată și au fost identificate „celule-cheie” (vaginoză bacteriană); (2) celule de drojdie și/sau pseudomicelii de ciuperci de drojdie au fost identificate, în timp ce leucocitele predominau asupra celulelor epiteliale (vulvovaginită candidozică); (3) s-a observat predominarea leucocitelor asupra celulelor epiteliale (vaginită nespecifică) [19].

Evaluarea cantitativă a biocenozei vaginale utilizând reacția de polimerizare în lanț în timp real (RT-PCR), folosind metoda „Femoflor-Screen”, a inclus o evaluare a masei bacteriene totale a *Lactobacillus spp.* și grupurilor majore de microorganisme. A fost înregistrată flora condiționat-patogenă, incluzând anaerobi facultativi și obligatorii, micelii și agenți patogeni absoluți (*Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis* și virusurile herpetice). Ulterior, au fost interpretate rezultatele studiului biocenozei vaginale obținute prin RT-PCR. Concluzia „normocenoză” a fost prezentată cu o proporție de lactobacili de peste 90% din masa bacteriană totală (MBT), a microorganismelor aerobe și anaerobe condiționat-patogene de mai puțin de 10% din MBT. Cazurile conținutului de lactobacili de peste 90% din MBT, micoplasme și/sau ciuperci din genul *Candida* în cantitate care nu depășește 10% din MBT, au fost considerate drept „normocenoză relativă”. Pentru cazurile de „disbioză aerobă moderată” sau „disbioză anaerobă moderată”, s-a luat în considerație o scădere a proporției de lactobacili de la 20% la 90% din MBT și o creștere a ponderii de aerobi sau anaerobi. Când s-a constatat că fracția de lactobacterii este mai mică de 20% din MBT și există o creștere accentuată a proporției de anaerobi, probele au fost evaluate drept „disbioză anaerobă pronunțată”, în timp ce o creștere a proporției de aerobi s-a etichetat drept „disbioză aerobă pronunțată” [20].

Prelucrarea statistică a datelor a fost efectuată folosind SPSS 17.0 și Microsoft Excel pentru Windows (2013). Datele sunt prezentate drept medie (Me) și distanță dintre quartilele 1 și 3 (Q1-Q3, IQR).

## Rezultate

Vârsta medie a femeilor a fost de 26,0 (23,0-30,0) de ani. Cel mai mare număr de pacienți aveau vârsta de 20-30 de ani (16 – 66,67% femei), reprezentând partea activă și aptă de muncă a populației. Studiul medii aveau 8 (33,33%) persoane, studii medii specializate – 10 (41,67%) persoane, iar studii superioare – 6 (25,00%) persoane. Marea majoritate a femeii

624 Clinical protocol “Miscarriage”. All pregnant women underwent a comprehensive clinical and laboratory examination – medical history, obstetric examination, clinical and biochemical blood tests, blood clotting tests, general urine test, bacterioscopic examination, vaginal and cervical canal examination by means of the real-time polymerase chain reaction using the “Femoflor Screen” test system.

The state of the vaginal microbiocenosis was evaluated according to the following criteria: total microbial contamination, dominant morphotypes, the presence of yeast cells, pseudomycelia filaments, epithelial and „key” cells, leukocytes. Disruption of the vaginal microbiocenosis was recorded if: (1) the prevalence of other microorganisms than lactobacilli was discovered and „key cells” were detected (bacterial vaginosis); (2) yeast cells and/or pseudomycelia of yeast-like fungi were detected while leukocytes prevailed over epithelial cells (vulvovaginal candidiasis); (3) the predominance of leukocytes over epithelial cells was observed (nonspecific vaginitis) [19].

A quantitative assessment of the vaginal biocenosis using a real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) via the „Femoflor Screen” method included an assessment of the total bacterial mass of *Lactobacillus spp.* and major groups of microorganisms. Conditionally pathogenic flora was recorded, including facultative and obligate anaerobes, fungi, and absolute pathogens (*Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis* and *Herpes viruses*). Subsequently, the results of the study of vaginal biocenosis obtained by RT-PCR were interpreted.

Conclusion „normocenoza” was exhibited with a share of lactobacilli of more than 90% of the total bacterial mass (TBM), conditionally pathogenic aerobic and anaerobic microorganisms representing less than 10% of the TBM. Cases where the content of lactobacilli was over 90% of the TBM, mycoplasmas and/or fungi of the genus *Candida* were in an amount not exceeding 10% of the TBM, were taken as „relative normocenoza”. For the cases of “moderate aerobic dysbiosis” or “moderate anaerobic dysbiosis”, a decrease in the proportion of lactobacilli between 20% and 90% of TBM and an increase in the share of aerobes or anaerobes were taken. When the lactobacillus fraction was found to be lower than 20% of TBM and a sharp increase in the proportion of anaerobes was noted, the samples were evaluated as “pronounced anaerobic dysbiosis”, while an increase in the proportion of aerobes was considered as “pronounced aerobic dysbiosis” [20].

Statistical data processing was performed using SPSS 17.0 and Microsoft Excel for Windows (2013). Data are presented as mean and interquartile range (Q1-Q3, IQR).

## Results

The average age of the women was 26.0 (23.0-30.0) years. The largest number of patients was observed at the age of 20-30 years (16 women – 66.67%), that is, among the active and working part of the population. Secondary education was completed by 8 (33.33%) women, secondary special education – 10 (41.67%) women and higher education – 6 (25.00%) women, respectively. The vast majority of women were in a

lor se aflau într-o căsătorie înregistrată – 21 (87,50%), durata medie a căsătoriei fiind de 2,0 (1,0-5,0) ani.

Indicele masei corporale a fost de 21,8 (20,5-25,0) kg/m<sup>2</sup>. Vârsta medie a menarhei în grup a fost de 13,0 (12,0-14,0) ani. Durata ciclului menstrual a fost de 28,0 (27,0-29,5) zile, durata sângerării menstruale a fost de 5,0 (4,0-5,0) zile; 1 (4,17%) persoană a raportat sângerări ușoare, 16 (66,67%) – sângerări moderate, 7 (29,17%) – sângerări profuze, iar 9 femei (37,50%) au raportat dismenoree.

Bolile tractului gastro-intestinal au fost identificate la 2 femei (8,33%), bolile ficatului și tractului biliar – la 2 (8,33%) femei, afecțiunile tractului respirator – la 4 (16,67%) femei, bolile tractului urinar – la 3 (12,50%) femei, hiperplazia tiroidiană de gradul I-II cu eutiroidism – la 2 (8,33%) femei, polinoză – la 3 (12,50%) femei.

Vârsta de debut a activității sexuale a fost de 16 (16-18) ani, majoritatea femeilor au raportat debutul activității sexuale înainte de căsătorie – 21 (87,50%) de persoane. Sarcina a fost prima la 11 (45,83%) femei. Nașteri în anamneză au fost prezente la 11 (45,83%) femei, avorturi induse – la 9 (37,50%) femei, avorturi spontane – la 2 (8,33%) femei, sarcina oprită în evoluție – la 3 (12,50%) femei examinate.

Dintre afecțiunile ginecologice suportate, cele mai frecvente au fost: pseudo-eroziunea colului uterin (7 persoane – 29,17%), salpingooforita (3 – 12,50%); 5 (20,83%) paciente au raportat un tratament pentru chisturile ovariene funcționale, infertilitate secundară – 1 (4,17%) pacientă, dereglări ale ciclului menstrual – 1 (4,17%) pacientă, vaginită nespecifică – 1 (4,17%) pacientă, candidoză urogenitală – 2 (8,33%) paciente.

Cinci paciente (20,83%) au acuzat eliminări patologice din tractul genital, 1 (4,17%) femeie a acuzat senzații de mâncărime și arsură, iar 4 (16,67%) paciente nu au prezentat acuze, dar au observat o cantitate sporită a secrețiilor din tractul genital în timpul sarcinii.

Au fost observate manifestări clinice ale unei dereglări a microbiocenozei vaginale (eliminări, hiperemie) la 8 (33,33%) paciente. La examenul clinic obstetrical-ginecologic, s-au observat eliminări vaginale de culoare alb-cenușie, consistență uniformă și miros neplăcut la 1 (4,17%) femeie, eliminări de consistență brânzoasă la 1 (4,17%) femeie și eliminări moderate, gălbui, omogene, la 7 (33,33%) femei.

La utilizarea metodei microscopice, normocenoza a fost detectată la 14 (58,33%) femei gravide, la 6 (25,00%) – a existat vaginită nespecifică, la 2 (8,33%) – candidoză vaginală, la 1 (4,17%) – vaginoză bacteriană, iar tricomonioza a fost detectată la 1 (4,17%) femeie (Figura 1).

La examenul microscopic al pacientelor cu microcenoză vaginală normală, lactoflora a prevalat față de alte microorganisme, în timp ce toți markerii disbiozei au fost absenți. În cazul vaginitei nespecifice, microscopia frotiurilor a indicat o reacție inflamatorie locală cu o severitate variabilă (numărul de leucocite a variat cantitativ de la 50 până la jumătate din câmpul vizual). În candidoza vaginală, s-a remarcat prezența blastosporelor și a filamentelor de miceliu, în vaginoza bacteriană – microflora mixtă, absența numărului crescut de leucocite, prezența „celulelor-cheie“, număr redus de lactobacili. În 1 caz, a fost remarcată inconsistența datelor clinice și mi-

registered marriage – 21 (87.50%), the median duration of which was 2.0 (1.0-5.0) years.

The body mass index was 21.8 (20.5-25.0) kg/m<sup>2</sup>. The average age of the menarche in the group was 13.0 (12.0-14.0) years. The duration of the menstrual cycle was 28.0 (27.0-29.5) days, the duration of the menstrual bleeding was 5.0 (4.0-5.0) days, 1 (4.17%) woman characterized the blood loss quantity as little, 16 (66.67%) – as moderate, 7 (29.17%) – as profuse and 9 (37.50%) women reported dysmenorrhea.

Diseases of the gastrointestinal tract were noted in 2 (8.33%) patients, diseases of the liver and biliary tract – 2 (8.33%) patients, diseases of the respiratory tract – 4 (16.67%) patients, diseases of the urinary tract – 3 (12.50%) patients, thyroid hyperplasia of the 1<sup>st</sup>-2<sup>nd</sup> degree with euthyroidism in 2 (8.33%) patients and hay fever in 3 (12.50%) patients.

The median age of onset of sexual activity was 16 (16-18) years; most women reported the onset of sexual activity before marriage – 21 (87.50%) people. For 11 (45.83%) women, it was the first pregnancy. A history of childbirth was present in 11 (45.83%) patients, induced abortions – in 9 (37.50%) patients, spontaneous abortions – in 2 (8.33%) patients and miscarriages – in 3 (12.50%) examined patients.

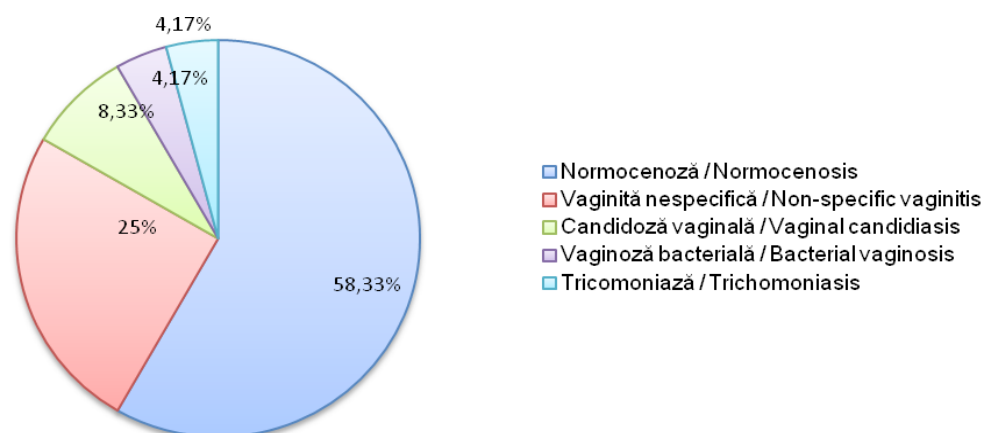
From the suffered gynecological diseases, the most common were the pseudo-erosion of the cervix (7 people – 29.17%), salpingoophoritis (3 – 12.50%); functional ovarian cysts (5 – 20.83%), secondary infertility (1 – 4.17%), menstrual irregularities (1 – 4.17%), nonspecific vaginitis (1 – 4.17%) and urogenital candidiasis (2 – 8.33%).

Five (20.83%) patients complained of pathological discharge from the genital tract, 1 (4.17%) woman reported itching and burning, while 4 (16.67%) patients did not complain, but noticed that the quantity of secretions from the genital tract increased slightly during the pregnancy.

Clinical manifestations of disturbances of the vaginal microbiocenosis (discharge, hyperemia) were observed in 8 (33.33%) patients. During the clinical obstetric-gynecological examination, vaginal discharge of a grayish-white color, uniform consistency and unpleasant odor was noted in 1 (4.17%) case, curdled discharge was noticed in 1 (4.17%) case, and moderate, yellowish, homogeneous discharge was found in 7 (33.33%) cases.

When using the microscopic method, normocenosis was detected in 14 (58.33%) pregnant women, nonspecific vaginitis – 6 (25.00%) pregnant women, vaginal candidiasis – 2 (8.33%) pregnant women, bacterial vaginosis – 1 (4.17%) pregnant woman and trichomoniasis – 1 (4.17%) pregnant woman (Figure 1).

In the microscopic examination of patients with normal vaginal microcenosis, lactoflora prevailed over other microorganisms, while all the markers of dysbiosis were absent. In the case of nonspecific vaginitis, smear microscopy indicated a local inflammatory reaction of varying severity (the number of leukocytes was in the range from 50 to half of the visual field). In the case of vaginal candidiasis, the presence of blastospores and filaments of mycelium was noted, while in bacterial vaginosis – mixed microflora, a low number of leukocytes, the



**Fig. 1** Microcenoza tractului genital inferior la gravide.

**Fig. 1** Microcenoosis of the lower genital tract of pregnant women.

croscopice (prezența unei cantități ne semnificative de blastospore și filamente micelare fără manifestări clinice), ceea ce sugerează un portaj asimptomatic de candidă.

Rezultatele testului Femoflor-Screen indică la o masă bacteriană totală (MBT) din eșantioanele studiate cuprinsă în intervalul de la  $10^7$  până la  $10^8$  logaritmi zecimali ai concentrației, numărul de lactobacili varia de la  $10^4$  la  $10^8$  lg. Respectiv, proporția de lactobacili a fost în intervalul de la 40% la 90% din MBT. Testul Femoflor-Screen a evidențiat cantități clinic semnificative de reprezentanți ai microflorei oportuniste. Frecvența de detectare a agenților patogeni ai leziunilor tractului urogenital este prezentată în Tabelul 1.

La compararea rezultatelor obținute folosind metoda microscopică și testul Femoflor-Screen, s-au obținut rezultate concordante pentru 20 (83,33%) de probe, iar în 4 (16,67%) cazuri au fost obținute rezultate discordante.

Conform rezultatelor microscopiei directe, „celulele-cheie” au fost găsite într-un eșantion, în timp ce testul Femoflor-Screen a oferit un raport normal de masă bacteriană și lactobacili. Un alt eșantion a dat un rezultat invers: la utilizarea testului Femoflor-Screen, a fost detectată prezența *Ureaplasma spp.* În același timp, folosind metoda microscopică, s-a remarcat microbiocenoză fiziologică. În plus, este de remarcat faptul că în 2 probe, testul Femoflor-Screen a constatat creșterea pragului de *Candida spp.* Deci, datele sunt sugestive pentru un portaj asimptomatic bacterian și de candidă.

presence of “clue cells” and a low number of lactobacilli were detected. In one case, inconsistency of clinical and microscopic data was noted (the presence of an insignificant amount of blastospores and mycelial filaments without clinical manifestations), which suggests asymptomatic candida carriage.

Analyzing the results of the study using the Femoflor-Screen test, it should be noted that the total bacterial mass in the studied samples was determined in the range from  $10^7$  to  $10^8$  decimal logarithms of the concentration, the number of lactobacilli varied from  $10^4$  to  $10^8$  lg, respectively, the proportion of lactobacilli was in the range from 40% to 90% of TBM. The Femoflor-Screen test revealed clinically significant amounts of representatives of opportunistic microflora. The frequency of detection of pathogens of lesions of the urogenital tract is presented in Table 1.

When comparing the results obtained using the microscopic method and the Femoflor-Screen test, concordant results were obtained for 20 (83.33%) samples, and in 4 (16.67%) cases, discordant results were obtained.

According to the results of direct microscopy, “key cells” were found in 1 sample, while the Femoflor-Screen test testified to the normal ratio of bacterial mass and lactobacilli. One sample gave the opposite result: when using the Femoflor-Screen test, the presence of *Ureaplasma spp.* was detected, while at the same time, using the microscopic method, physiological microbiocenosis was noted. In addition, it is worth

**Tabelul 1.** Frecvența de detectare a agenților patogeni ai leziunilor tractului urogenital la femeile examinate (n=24).

**Table 1.** The frequency of detection of pathogens of the urogenital tract among the examined women (n=24).

Microorganisme anaerobe obligatorii / <i>Obligate anaerobic microorganisms</i>	
▪ <i>Gardnerella vaginalis</i> + <i>Prevotella bivia</i> + <i>Porphyromonas spp.</i>	2 (8,33%)
Ciuperci de drojdie / <i>Yeast-like fungi</i>	
▪ <i>Candida spp.</i>	4 (16,67%)
Micoplasme / <i>Mycoplasmas</i>	
▪ <i>Mycoplasma hominis</i>	0 (0%)
▪ <i>Ureaplasma spp.</i>	1 (4,17%)
Microorganisme patogene / <i>Pathogens</i>	
▪ <i>Trichomonas vaginalis</i>	0 (0%)

## Discuții

Studiile noastre privind microcenoza tractului genital inferior la femeile însărcinate cu IA au confirmat datele lui Pestrikova T. și colab. [21], precum că microbiota nu este identică, ci depinde de prezența formelor nosologice (vaginită nespecifică, candidoză vaginală, vaginoză bacteriană, trichomoniază), care sunt de o importanță fundamentală pentru alegerea tacticii terapeutice.

Folosind metoda microscopică și sistemul de testare Femoflor-Screen, normocenoza a fost detectată la 14 (58,33%) gravide, vaginita nespecifică a fost prezentă la 6 (25,00%), candidoza vaginală – la 2 (8,33%), vaginoza bacteriană – la 1 (4,17%) și trichomonioza – la 1 (4,17%) gravidă. Rezultatele noastre privind prevalența vaginozei bacteriene în primul trimestru au fost în concordanță cu datele lui Donders G. și colab. – 8,4% [22]. Totuși, acestea diferă de rezultatele lui Karapetyan T. și colab. [23], care a găsit normocenoza la 36,4%, vaginoză bacteriană – la 40,3%, candidoză vaginală – la 12,9% și vaginită nespecifică – la 10,4% dintre femeile gravide în primul trimestru. Datele noastre confirmă opinia Nenadić D. și colab. [24] privind necesitatea unei abordări integrate pentru identificarea pacientelor cu inflamație a tractului genital inferior.

Rezultatele studiului nostru au arătat necesitatea evaluării biocenozei vaginale la începutul sarcinii, indiferent de simptomele clinice și de apartenența femeilor cu o stare disbiotice unui grup de risc pentru rezultatele adverse ale sarcinii și nașterii. Această abordare va permite să se ia măsuri corective prin influențarea indicatorilor modificabili și va contribui la îmbunătățirea sistemului de monitorizare antenatală a femeilor cu iminență de avort.

## Concluzii

Prevalența disfuncțiilor microbiocenozei la gravidele cu IA în primul trimestru este de 41,67%. Utilizând metoda microscopică și sistemul de testare Femoflor-Screen, normocenoza a fost găsită la 58,33% dintre femeile însărcinate, vaginita nespecifică – la 25,00%, candidoza vaginală – la 8,33%, vaginoza bacteriană – la 4,17% și trichomonioza – la 4,17% dintre femeile însărcinate. În 16,67% din cazuri, s-a constatat portajul asimptomatic de bacterii și candidide.

Utilizarea metodelor complexe de examinare clinică și de laborator permite, în cele mai multe cazuri, identificarea diferitelor forme de infecții vulvovaginale și cervicale cu verificarea factorului etiologic, precum și stabilirea portajului asimptomatic de bacterii și candidide, care este de o importanță fundamentală pentru alegerea tacticii terapeutice.

Un studiu prenatal al microflorei sistemului reproductiv, monitorizarea leziunilor infecțioase și non-infecțioase ale sistemului reproductiv inferior va permite individualizarea managementului și dezvoltarea în timp util, dacă este necesar, a unor măsuri corective care vor contribui la încheierea cu succes a sarcinii, influențând pozitiv sănătatea mamei și a descendenților ei.

noting that in 2 samples, the Femoflor-Screen test found an exceeded threshold of *Candida spp.*, and neither the clinical picture nor the microscopic examination data confirmed the presence of urogenital candidiasis in women. Therefore, we can consider the asymptomatic bacterial and candida carriage.

## Discussion

Our studies of the microcenoza of the lower genital tract in pregnant women with TA confirmed the data of Pestrikova T. *et al.* [21] that the microbiota is not identical and is depending on the presence of nosological forms (nonspecific vaginitis, vaginal candidiasis, bacterial vaginosis, trichomoniasis), which is of fundamental importance for the choice of therapeutic strategies.

Using the microscopic method and the Femoflor-Screen test system, normocenoza was detected in 14 (58.33%) pregnant women, nonspecific vaginitis was present in 6 (25.00%) women, vaginal candidiasis was present in 2 (8.33%) women, bacterial vaginosis was present in 1 (4.17%) woman and trichomoniasis was found in 1 (4.17%) woman. Our results regarding the prevalence of bacterial vaginosis in the first trimester were consistent with data from Donders G. *et al.* – 8.4% [22], however, they differ from the results of Karapetyan T. *et al.* [23], who found normocenoza in 36.4%, bacterial vaginosis – in 40.3%, vaginal candidiasis – in 12.9%, and nonspecific vaginitis – in 10.4% of pregnant women in the first trimester. Our data confirm the opinion of Nenadić D. *et al.* [24] on the need for an integrated approach to the identification of patients with inflammation of the lower genital tract.

The results of our study showed the need to assess vaginal biocenoza at the beginning of the pregnancy, regardless of clinical symptoms and classifying women with a dysbiotic state as a risk group for adverse pregnancy and childbirth outcomes. This approach will allow to take corrective measures by influencing the identified changed indicators, and will contribute to improving the antenatal monitoring system for women with threatened abortion.

## Conclusions

The prevalence of microbiocenoza disruptions among pregnant women with TA in the first trimester is 41.67%. Using the microscopic method and the Femoflor-Screen test system, normocenoza was found in 58.33% of the pregnant women, nonspecific vaginitis – in 25.00%, vaginal candidiasis – in 8.33%, bacterial vaginosis – in 4.17%, trichomoniasis – in 4.17% of women. Asymptomatic bacterial and candida carriage was found in 16.67% of cases.

The use of complex clinical and laboratory examination methods allows, in most cases, to identify various forms of vulvovaginal and cervical infections with verification of the etiological factor, as well as to establish asymptomatic bacterial and candida carriage, which is of fundamental importance for the choice of the therapeutic strategy.

An antenatal study of the microflora of the reproductive system and surveillance of infectious and non-infectious lesions of the lower reproductive tract will allow to individual-

## Declarația conflictului de interes

Nimic de declarat.

## Contribuția autorilor

Ambii autori au participat în mod egal la efectuarea studiului și la elaborarea manuscrisului. Versiunea finală a articolului a fost citită și aprobată de ambii autori.

## Referințe / references

- Ahmed S., El-Sammani M., Al-Sheeha M., Aitallah A., Jabin Khan F., Ahmed S. Pregnancy outcome in women with threatened miscarriage: a year study. *Mater. Sociomed.*, 2012; 24 (1): 26-8. doi:10.5455/msm.2012.24.26-28.
- Goldenberg R., Hauth J., Andrews W. Intrauterine infection and preterm delivery. *New Engl. J. Med.*, 2000; 342: 1500-1507.
- Behrman R., Butler A. Institute of Medicine (US) Committee on understanding premature birth and assuring healthy outcomes. Washington (DC): National Academies Press (US); 2007. Preterm birth: causes, consequences, and prevention.
- Mathews T., MacDorman M. Infant mortality statistics from the 2005 period linked birth/infant death data set. *Natl. Vital. Stat. Rep.*, 2008; 57: 1-32.
- Anderson B., Mendez-Figueroa H., Dahlke J., Raker C., Hillier S., Cucuvin S. Pregnancy-induced changes in immune protection of the genital tract: defining normal. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2013; 208 (4): 321-329. doi:10.1016/j.ajog.2013.01.014.
- Galiñanes S., Coppolillo E., Cifarelli M., Cora Eliseht M., Pellisa E., Losada M. *et al.* Vaginal inflammatory status in pregnant women with normal and pathogenic microbiota in lower genital tract. *ISRN Obstet. Gynecol.*, 2011; 835-926. doi:10.5402/2011/835926.
- Wen A., Srinivasan U., Goldberg D., Owen J., Marrs C., Misra D. *et al.* Selected vaginal bacteria and risk of preterm birth: an ecological perspective. *J. Infect. Dis.*, 2014; 209 (7): 1087-1094. doi:10.1093/infdis/jit632.
- Prince A., Chu D., Seferovic M., Antony K., Ma J., Aagaard K. The perinatal microbiome and pregnancy: moving beyond the vaginal microbiome. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, 2015; 5 (6): a023051. doi:10.1101/cshperspect.a023051.
- Macintyre D., Chandiramani M., Lee Y., Kindinger L., Smith A., Angelopoulos N., Lehne B., Arulkumaran S., Brown R., Teoh T., Holmes E., Nicholson J., Marchesi J., Bennett P. The vaginal microbiome during pregnancy and the postpartum period in a European population. *Sci. Rep.*, 2015; 5: 8988. doi:10.1038/srep08988.
- Wei S., Fraser W., Luo Z. Inflammatory cytokines and spontaneous preterm birth in asymptomatic women – a systematic review. *Obstet. Gynecol.*, 2010; 116: 393-401.
- Xu F., Du X., Xie L. Vaginitis in pregnancy is related to adverse perinatal outcome. *Pak. J. Med. Sci.*, 2015; 31 (3): 582-586. doi:10.12669/pjms.313.6752.
- Larsson P., Bergstrom M., Forsum U., Jacobsson B., Strand A., Wolner-Hanssen P. Bacterial vaginosis. Transmission, role in genital tract infection and pregnancy outcome: an enigma. *APMIS*, 2005, 113 (4): 233-245.
- Donders G. Definition and classification of abnormal vaginal flora. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, 2007; 21: 355-73.
- Lamont R., Sobel J., Akins R., Hassan S., Chaiworapongsa T., Kusanovic J., Romero R. The vaginal microbiome: new information about genital tract flora using molecular based techniques. *BJOG*, 2011; 118 (5): 533-49. doi:10.1111/j.1471-0528.2010.02840.x.
- Svare J., Schmidt H., Hansen B., Lose G. Bacterial vaginosis in a cohort of Danish pregnant women: prevalence and relationship with preterm delivery, low birthweight and perinatal infections. *BJOG*, 2006; 113 (12): 1419-1425. doi:10.1111/j.1471-0528.2006.01087.x.
- Simhan H., Caritis S. Prevention of preterm delivery. *N. Engl. J. Med.*, 2007; 357: 477-87.
- Thorsen P., Vogel I., Olsen J., Jeune B., Westergaard J., Jacobsson B. *et al.* Bacterial vaginosis in early pregnancy is associated with low birth weight and small for gestational age, but not with spontaneous preterm birth: a population-based study on Danish women. *J. Matern. Fetal Med.*, 2006; 19: 1-7.
- Mijović G., Lukić G., Jokmanović N., Crnogorac S., Kuljić-Kapulica N., Gajić M. *et al.* Impact of vaginal and cervical colonization / infection on preterm delivery. *Vojnosanit. Pregl.*, 2008; 65 (4): 273-280.
- Savicheva A., Vorobeveva N., Vagoras A., Sokolovskiy E., Gallen A., Domeyka M. Ispol'zovanie metoda pryamoy mikroskopii urogenital'nyih mazkov na ambulatornom priyome s tsel'yu optimizatsii diagnostiki urogenital'nyih infektsiy [Using direct microscopy of urogenital smears at an outpatient clinic to optimize the diagnosis of urogenital infections]. *Trudnyiy patsient [Difficult patient]*, 2008; 6 (1): 9-12 (in Russian).
- Boldyireva M., Donnikov A., Tumbinskaya L. Femoflor. Issledovanie biotsenoza urogenital'nogo trakta u zhenschin metodom PCR s detektsiy rezul'tatov v rezhime real'nogo vremeni. Metodicheskoe posobie dlya laborantov [The study of the biocenosis of the urogenital tract in women by the polymerase chain reaction with the detection of results in real time. Methodical manual for laboratory assistants]. M.; 2009, 77 p. (in Russian).
- Pestrikova T., Yurasova E., Kotelnikova A. Harakteristika mikrobioty i vlagalischa pri sochetanii bakterial'nogo vaginoza s patologiyey vlagalischa i sheyki matki vospalitel'nogo geneza. [Characteristics of the vaginal microbiota with a combination of bacterial vaginosis with the pathology of the vagina and cervix inflammatory genesis]. *Ginekologiya [Gynecology]*. 2017; 19 (4): 15-19. DOI:10.26442/2079-5696\_19.4.15-19. (in Russian).
- Donders G., Van Calsteren K., Bellen G., Reybrouck R., Van den Bosch T., Riphagen I., Van Lierde S. Predictive value for preterm birth of abnormal vaginal flora, bacterial vaginosis and aerobic vaginitis during the first trimester of pregnancy. *BJOG*, 2009; 116 (10): 1315-24. doi:10.1111/j.1471-0528.2009.02237.x.
- Karapetyan T., Ankirskaya A., Muravyova V. Bakterial'nyiy vaginoz v pervom trimestre beremennosti [Bacterial vaginosis in the first trimester of pregnancy]. *Meditsinskiy sovet [Medical Council]*, 2015 (XX): 68-71. https://doi.org/10.21518/2079-701X-2015-XX-68-71. (in Russian).
- Nenadić D., Pavlović M. Cervical fluid cytokines in pregnant women: relation to vaginal wet mount findings and polymorphonuclear leukocyte counts. *European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology*, 2008; 140 (2): 165-170.