

## ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ БАКТЕРИАЛЬНОГО ВАГИНОЗА В ПРОЦЕССЕ ЭВОЛЮЦИИ ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДИК

**С.В. Стулова, В.А. Мельников, Ю.В. Тезиков, И.С. Липатов, О.Б. Калинин, О.Р. Аравина**

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара

Для цитирования: Стулова С.В., Мельников В.А., Тезиков Ю.В., и др. Диагностические критерии бактериального вагиноза в процессе эволюции лабораторных методик // Аспирантский вестник Поволжья. – 2019. – № 5–6. – С. 25–29. <https://doi.org/10.17816/2072-2354.2019.19.3.25-29>

Поступила: 25.05.2019

Одобрена: 21.08.2019

Принята: 09.09.2019

В статье представлен анализ более 150 статей отечественных и иностранных исследователей, в котором отражены основные направления диагностического поиска изменений биоценоза вагинальной сферы. Поднимается проблема эффективности диагностики и лечения патологических изменений микробиоценоза влагалища. Определены понятия нормы и патологии вагинального биотопа, клинические и лабораторные критерии, отражающие патологические изменения в полимикробной ассоциации данной биологической ниши. Сделан акцент на эволюции диагностических методов дисбиоза влагалища, с учетом совершенствования лабораторных методик. Проанализированы альтернативные и перспективные способы диагностики бактериального вагиноза. В результате проведенного анализа определена значимость совершенствования диагностических критериев дисбиотических изменений вагинальной среды с позиций персонализированной медицины.

**Ключевые слова:** бактериальный вагиноз; дисбиоз влагалища; критерии Амсея; критерии Ньюджента; диагностика.

## DIAGNOSTIC CRITERIA OF BACTERIAL VAGINOSIS IN THE PROCESS OF EVOLUTION OF LABORATORY METHODS

**S.V. Stulova, V.A. Melnikov, Yu.V. Tezиков, I.S. Lipatov, O.B. Kalinkina, O.R. Aravina**

Samara State Medical University, Samara, Russia

For citation: Stulova SV, Melnikov VA, Tezиков YuV, et al. Diagnostic criteria of bacterial vaginosis in the process of evolution of laboratory methods. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2019;(5-6):25-29. <https://doi.org/10.17816/2072-2354.2019.19.3.25-29>

Received: 25.05.2019

Revised: 21.08.2019

Accepted: 09.09.2019

The article presents the analysis of more than 150 articles of Russian and foreign researchers, which reflects the main trends in the diagnostic search for changes in the vaginal biocenosis. The problem of the effectiveness of the diagnosis and treatment of pathological changes in the vaginal microbiocenosis is raised. The concepts of the normal and abnormal state of the vaginal biotope, clinical and laboratory criteria of pathological changes in polymicrobial association of this biological niche have been defined. Emphasis is placed on the evolution of diagnostic methods of vaginal dysbiosis, taking into account the improvement of laboratory techniques. Alternative and promising ways to diagnose bacterial vaginosis has been studied. Our findings demonstrate the significance of improvement in the diagnostic criteria of dysbiotic changes of the vaginal environment from the perspective of personalized medicine.

**Keywords:** bacterial vaginosis; vaginal dysbiosis; Amsel criteria; Nugent criteria; diagnosis.

Большинство из обращающихся к врачу-гинекологу пациенток имеют опыт лечения патологических выделений из половых путей и считают его отрицательным вследствие кратковременного эффекта и частого рецидивирования неприятных симптомов.

С приобретением подобного опыта, пройдя 10–15 лет с патологическими симптомами, получив разнообразные схемы терапии без

продолжительного эффекта, пациентки свыкаются с наличием у них патологических выделений из половых путей, считая это «своей нормой». Совершая усиленную гигиену, они таким образом пытаются минимизировать дискомфорт, уменьшить количество выделяемого вагинального секрета, что и удается длительно выполнять при стертых, клинически не ярких состояниях.

Решая проблему патологических выделений из влагалища самостоятельно, наша пациентка подвергает себя в риск крайне тяжелых воспалительных заболеваний органов малого таза, таких как пиосальпинксы, тубовариальные абсцессы, гнойные метроэндометриты, что влечет за собой оперативное лечение, риски ранения мочевого пузыря, кишечника, генерализации инфекции, а также осложненное течение беременности.

Наиболее частой причиной патологических вагинальных белей является бактериальный вагиноз.

Проблема бактериального вагиноза остается нерешенной, несмотря на опыт нескольких последних десятилетий с того времени, когда Гарднер определил вагинальный синдром, называемый сегодня «дисбиоз влагалища» [10]. На сегодняшний день нет окончательного решения трех основных задач: является ли бактериальный вагиноз инфекционным процессом, какова природа возбудителя и как найти эффективное лечение [17].

Несомненно, трудности при выборе терапии бактериального вагиноза определяются отсутствием конкретного возбудителя.

Диагностика дисбиотических изменений влагалища представлена как простыми тестами, которые можно условно разделить на клинические и лабораторные, так и сложными методиками, включающими биохимический анализ вагинальной жидкости, молекулярную диагностику, исследование нуклеиновых кислот [9].

В качестве основного диагностического метода ранее использовали культуральный. Было обнаружено, что немногие микроорганизмы, классически связанные с бактериальным вагинозом, могут быть получены на лабораторных средах. В частности, *Gardnerella vaginalis* выявлялась у 83–94 % женщин с клиническими признаками бактериального вагиноза и у 36–55 % женщин без клинических признаков бактериального вагиноза [13].

Кроме того, было обнаружено, что культуральная идентификация других бактерий из вагинальных образцов, таких как *Bacteroides*, *Peptostreptococcus* и *Mycoplasma Hominis* — нечувствительная и дорогостоящая методика [16].

Другие анаэробные бактерии, ассоциированные с бактериальным вагинозом, например *Mobiluncus*, очень трудно получить при культуральном методе [4], в то же время нормальные вагинальные лактобациллы значительно уменьшены или отсутствуют. Очевидно, что клинический диагноз должен базироваться на методах, которые идентифицируют соотноше-

ние пропорций бактериальных морфотипов в вагинальном образце [8].

Для диагностики бактериального вагиноза наиболее широко применяются клинические «критерии Амсея» [2]. При постановке диагноза требуется, чтобы присутствовали три из следующих четырех критериев: во-первых, вагинальная pH более 4,5; во-вторых, наличие ключевых клеток в вагинальной жидкости; в-третьих, гомогенные выделения из влагалища молочного цвета; и, наконец, выделение амина (рыбный запах) после добавления 10 % гидроксида калия к вагинальной жидкости [6].

Значение pH может быть определено непосредственно с использованием pH полосок, расположенных на стенке влагалища, или с использованием тампона с выделениями, который прокатывается по индикаторной бумаге, в диапазоне pH 4,0–6,5. Тампон затем экстрагируют в 0,2 мл физиологического раствора либо на предметном стекле или в пробирке; каплю экстракта помещают на одно предметное стекло, каплю 10 % гидроксида калия — на другое. Тампон затем помещают в 10 % раствор гидроксида калия и сразу же оценивают на присутствие рыбного запаха. Обе капли покрывают стеклом и исследуют в 400-кратном увеличении с помощью оптического микроскопа. Ключевые клетки идентифицируются как эпителиальные, имеющие такую плотную оболочку из бактерий, что внешние границы затемнены. Если три из четырех критериев выявляются, то клинический диагноз «бактериальный вагиноз» может быть поставлен.

С целью лабораторной диагностики исследуется нативный мазок, окрашенный по Граму с помощью стандартных методов. Окрашенный слайд читается, а число морфотипов оценивается на основе диагностических критериев метода, разработанного Spiegel et al. [25], которые впоследствии были модифицированы в шкалу R.P. Nugent и стандартизированы по Граму [5].

В методологии по R.P. Nugent et al. [5] выделения получают тампоном с боковой стенки влагалища и наносят на предметное стекло.

Нативные мазки фиксируют и окрашивают сафранином с целью контрастирования, затем оценивают по следующим морфотипам (1000-кратное увеличение): крупные грамположительные палочки (морфотипы *Lactobacillus*), мелкие грамотрицательные переменные стержни (морфотипы *G. vaginalis*), небольшие грамотрицательные палочки (виды морфотипов *Bacteroides*), изогнутые грамвариабельные стержни (виды морфоти-

пов *Mobiluncus*) и грамположительные кокки. Хотя грамположительные кокки не являются частью системы скрининга, некоторые лаборатории указывают на них, если они присутствуют в значительных количествах. Увеличение их количества не является частью картины нормальной вагинальной флоры.

Оценка от нуля до трех считается нормальным типом микрофлоры, от четырех до шести — промежуточным, а с семи до десяти определяется как бактериальный вагиноз. При промежуточном типе флоры необходимо выбирать тактику в соответствии с клиническими проявлениями.

У 32 % пациенток промежуточная флора преобразовывается в бактериальный вагиноз, и у 30 % — смещается в сторону нормальной. Многие авторы считают, что промежуточный тип должен быть рассмотрен как патологический, учитывая высокие темпы перехода к бактериальному вагинозу. Решение перепроверить или назначить лечение женщинам с промежуточной флорой влагалища основано на клиническом риске перехода к бактериальному вагинозу [20].

Эта система скрининга хорошо коррелирует с клинической картиной заболевания [23].

Клиническая методология является полезной, поскольку она позволяет получить немедленный ответ в некоторых неотложных клинических ситуациях, но метод окраски мазка по Граму является более точным [3, 14, 22].

Методика Айсона – Хэя [15] также основана на результатах микроскопии мазка, окрашенного по Граму, и на оценке соотношения *Lactobacillus* spp. и другой микрофлоры влагалища. Ответ выдается в виде степени нарушения микрофлоры: уровень 0 — эпителиальные клетки, бактерии отсутствуют; уровень I — нормальная вагинальная микрофлора (морфологические типы *Lactobacillus* spp.); уровень II — уменьшение количества *Lactobacillus* spp., смешанная бактериальная флора; уровень III — смешанная бактериальная флора, малое количество или полное отсутствие *Lactobacillus* spp.; уровень IV — грамположительные кокки.

Критерии ВОЗ [1] определяют два состояния: «норма», если в мазке присутствуют только морфотипы *Lactobacillus* или морфотипы *Lactobacillus* доминируют на фоне небольшого количества других морфотипов; «бактериальный вагиноз», если *Lactobacillus* отсутствуют или присутствуют в небольшом количестве на фоне смешанной микрофлоры и ключевых клеток.

Особый интерес вызывают экспресс-тесты диагностики бактериального вагиноза, основанные на клинических критериях: Fem-Exam — определение триметиламина и измерения pH; индикаторные перчатки самоопределения pH среды влагалища; «электронный нос» — определение триметиламина; BVBlue — измерение сиалидазной активности; Pip Activity TestCard — измерение пролин-аминопептидазной активности.

Альтернативные методики диагностики бактериального вагиноза в настоящее время уступают стандартизированной методологии по Граму [24], но могут оказаться полезными в будущем, поскольку эффективного лечения бактериального вагиноза по сей день так и не найдено.

Использование газо-жидкостной хроматографии для обнаружения вагинальных культур и окраска мазков по Раранисолаоу были предложены в качестве альтернативных методов диагностики, отбора проб и способа транспортировки в лабораторию. Есть данные о разумной специфичности метода [18, 26].

На сегодняшний день определение нуклеиновых кислот не является полезным для клинической диагностики комплексного микробного дисбаланса [21].

Многие исследователи изучают генетическую основу для оценки сложной микробной флоры влагалища, есть некоторые предварительные исследования об использовании шаперонина, в то время как другие используют подход на основе рибонуклеиновой кислоты. Ни один из этих методов в настоящее время не применим в клинических условиях из-за сложности методики и высокой стоимости, но они могут быть очень ценными в будущем [12, 19].

Описан способ быстрого профилирования микрофлоры влагалища в мультиплексном формате с использованием олигонуклеотидных связей с флуоресцентными молекулами с обнаружением на платформе Luminex [23].

Данный способ позволяет профилировать основные микроорганизмы, присутствующие на вагинальном тампоне, который может использоваться для диагностики бактериального вагиноза с высокой специфичностью и чувствительностью по сравнению с методикой по Граму. В сравнении с используемым количественным методом полимеразной цепной реакции для конкретных микроорганизмов, которые в настоящее время ограничиваются 5 или 6 видами различных анализов в одном образце, возможности этой методики — мультифокальные [7].

Представляет интерес оценка клинической точности исследования вагинального мазка, собранного пациентками (самостоятельно) и медицинским персоналом. Первичные и вторичные результаты заключались в том, чтобы сравнить исследовательский тест с эталонными методами для трех наиболее распространенных причин вагинита и сравнить данные, собранные клиницистом, и мазки, собранные самим пациентом [11].

В качестве альтернативы обычному мазку на флору влагалища предлагается метод прямого масс-спектрометрического профилирования метаболома слизистой оболочки влагалища с десорбционной электрораспылительной ионизацией (DESI-MS), что обеспечивает более широкий охват экосистемы слизистой и позволяет выявлять интактные виды бактерий влагалища. Данный способ позволяет характеризовать не только бактериальный состав, но и иммунные реакции и биохимический состав вагинального содержимого [26].

## Заключение

Дисбиоз влагалища является актуальной и мультифокальной проблемой на сегодняшний день, побуждая научно-практическое сообщество продолжать совершенствование лабораторных методик с целью повышения эффективности лечения.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

## Литература

1. Рэдклиф К. Европейские стандарты диагностики и лечения заболеваний, передающихся половым путем / Пер. с англ. под ред. В.П. Адашкевича. – М.: Медицинская литература, 2006. – 272 с. [Redklif K. Evropeiskie standarty diagnostiki i lecheniya zabolovaniy, peredayushchikhsya polovym putem. Transl. from English ed. by V.P. Adaskevich. Moscow: Meditsinskaya literatura; 2006. 272 p. (In Russ.)]
2. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, et al. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am J Med.* 1983;74(1):14-22. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(83\)91112-9](https://doi.org/10.1016/0002-9343(83)91112-9).
3. Aroucheva A, Gariti D, Simon M, et al. Defense factors of vaginal lactobacilli. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;185(2):375-379. <https://doi.org/10.1067/mob.2001.115867>.
4. Boskey ER, Cone RA, Whaley KJ, Moench TR. Origins of vaginal acidity: high D/L lactate ratio is consistent with bacteria being the primary source. *Hum Reprod.* 2001;16(9):1809-1813. <https://doi.org/10.1093/humrep/16.9.1809>.
5. Brookheart RT, Lewis WG, Peipert JF, et al. Association between obesity and bacterial vaginosis as assessed by Nugent. *Am J Obstet Gynecol.* 2019;220(5):476.e1-476.e11. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.01.229>.
6. Dumonceaux TJ, Schellenberg J, Goleski V, et al. Multiplex detection of bacteria associated with normal microbiota and with bacterial vaginosis in vaginal swabs by use of oligonucleotide-coupled fluorescent microspheres. *J Clin Microbiol.* 2009;47(12):4067-4077. <https://doi.org/10.1128/JCM.00112-09>.
7. Dumonceaux TJ, Town JR, Hill JE, et al. Multiplex detection of bacteria in complex clinical and environmental samples using oligonucleotide-coupled fluorescent microspheres. *J Vis Exp.* 2011;(56). pii: 3344. <https://doi.org/10.3791/3344>.
8. Fredricks DN, Fiedler TL, Marrazzo JM. Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis. *N Engl J Med.* 2005;353(18):1899-1911. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa043802>.
9. Fredricks DN, Fiedler TL, Thomas KK, et al. Targeted PCR for detection of vaginal bacteria associated with bacterial vaginosis. *J Clin Microbiol.* 2007;45(10):3270-3276. <https://doi.org/10.1128/JCM.01272-07>.
10. Gardner H, Dukes CD. Hemophilus vaginitis: a new defined specific infection vaginitis – previously classified, non-specific vaginitis. *Am J Obstet Gynecol.* 1955;69(5):962-976. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(55\)90095-8](https://doi.org/10.1016/0002-9378(55)90095-8).
11. Gaydos CA, Beqaj S, Schwebke JR, et al. Clinical validation of a test for the diagnosis of vaginitis. *Obstet Gynecol.* 2017;130(1):181-189. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000002090>.
12. Hill JE, Goh SH, Money DM, et al. Characterization of vaginal microflora of healthy, nonpregnant women by chaperonin-60 sequence-based methods. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;193(3 Pt 1):682-692. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2005.02.094>.
13. Hillier SL. Diagnostic microbiology of bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol.* 1993;169(2 Pt 2):455-459. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(93\)90340-o](https://doi.org/10.1016/0002-9378(93)90340-o).
14. Hillier SL, Krohn MA, Klebanoff SJ, Eschenbach DA. The relationship of hydrogen peroxide-producing lactobacilli to bacterial vaginosis and genital microflora in pregnant women. *Obstet Gynecol.* 1992;79(3):369-373. <https://doi.org/10.1097/00006250-199203000-00008>.
15. Ison CA, Hay PE. Validation of a simplified grading of Gram stained vaginal smears for use in genitourinary medicine clinics. *Sex Transm Infect.* 2002;78(6):413-415. <https://doi.org/10.1136/sti.78.6.413>.
16. Krohn MA, Hillier SL, Eschenbach DA. Comparison of methods for diagnosing bacterial vaginosis among pregnant women. *J Clin Microbiol.* 1989;27(6):1266-1271. <https://doi.org/10.1128/jcm.27.6.1266-1271.1989>.
17. Lamont RF, Sobel JD, Akins RA, et al. The vaginal microbiome: new information about genital tract flora using vollecular based techniques. *BJOG.* 2011;118(5):533-549. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2010.02840.x>.

18. Lamont RF, Hudson EA, Hay PE, et al. A comparison of the use of Papanicolaou-stained cervical cytological smears with Gram-stained vaginal smears for the diagnosis of bacterial vaginosis in early pregnancy. *Int J STD AIDS*. 1999;10(2):93-97. <https://doi.org/10.1258/0956462991913709>.
19. Menard JP, Fenollar F, Henry M, et al. Molecular quantification of *Gardnerella vaginalis* and *Atopobium vaginae* loads to predict bacterial vaginosis. *Clin Infect Dis*. 2008;47(1):33-43. <https://doi.org/10.1086/588661>.
20. Larsson PG, Bergstrom M, Forsum U, et al. Bacterial vaginosis. Transmission, role in genital tract infection and pregnancy outcome: an enigma. *APMIS*. 2005;113(4):233-245. [https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2005.apm\\_01.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2005.apm_01.x).
21. Malaguti N, Bahls LD, Uchimura NS, et al. Sensitive detection of thirteen bacterial vaginosis-associated agents using multiplex polymerase chain reaction. *Biomed Res Int*. 2015;2015:645853. <https://doi.org/10.1155/2015/645853>.
22. Mohanty S, Sood S, Kapil A, Mittal S. Interobserver variation in the interpretation of Nugent scoring method for diagnosis of bacterial vaginosis. *Indian J Med Res*. 2010;131:88-91.
23. Money D. The laboratory diagnosis of bacterial vaginosis. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2005;16(2):77-79. <https://doi.org/10.1155/2005/230319>.
24. Muthusamy S, Varghese J, Raveendran V, et al. Evaluation of interobserver reliability of Nugent score for diagnosis of bacterial vaginosis. *Indian J Sex Transm Dis AIDS*. 2018;39(2):120-123. [https://doi.org/10.4103/ijstd.IJSTD\\_98\\_16](https://doi.org/10.4103/ijstd.IJSTD_98_16).
25. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol*. 1991;29(2):297-301. <https://doi.org/10.1128/jcm.29.2.297-301.1991>.
26. Van der Veer C, van Houdt R, van Dam A, et al. Accuracy of a commercial multiplex PCR for the diagnosis of bacterial vaginosis. *J Med Microbiol*. 2018;67(9):1265-1270. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000792>.

#### ■ Информация об авторах

Светлана Васильевна Стулова — кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии № 1, ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет», Самара. E-mail: stulovasv@mail.ru.

Владимир Александрович Мельников — доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии № 1, ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет», Самара. E-mail: melnikov\_va@bk.ru.

Юрий Владимирович Тезиков — доктор медицинских наук, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии № 1, ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет», Самара. E-mail: yra.75@inbox.ru.

Игорь Станиславович Липатов — доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии № 1, ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет», Самара. E-mail: i.lipatoff2012@yandex.ru.

Ольга Борисовна Калинин — доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии № 1, ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет», Самара. E-mail: maiorof@mail.ru

Оксана Романовна Аравина — ассистент кафедры акушерства и гинекологии № 1, ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет», Самара. E-mail: dr.aravina@gmail.com.

#### ■ Information about the authors

Svetlana V. Stulova — Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Obstetrics and Gynecology Department No. 1, Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: stulovasv@mail.ru.

Vladimir A. Melnikov — Doctor of Medical Sciences, Professor, Obstetrics and Gynecology Department No. 1, Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: melnikov\_va@bk.ru.

Yuri V. Tezikov — Doctor of Medical Sciences, Head of the Obstetrics and Gynecology Department No. 1, Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: yra.75@inbox.ru.

Igor S. Lipatov — Doctor of Medical Sciences, Professor, Obstetrics and Gynecology Department No. 1, Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: i.lipatoff2012@yandex.ru.

Olga B. Kalinkina — Doctor of Medical Sciences, Professor, Obstetrics and Gynecology Department No. 1, Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: maiorof@mail.ru.

Oksana R. Aravina — Assistant, Obstetrics and Gynecology Department No. 1, Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: dr.aravina@gmail.com.