

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Красноярский государственный медицинский  
университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кафедра кардиологии, функциональной и клинико-лабораторной диагностики ИПО

Зав.кафедрой: профессор, д.м.н. Матюшин Г.В.  
Проверил: доцент, к.м.н. Анисимова Е.Н.

## РЕФЕРАТ

**Тема: Бактериальный вагиноз.**

**Характеристика, лабораторная диагностика**

Выполнил: врач-ординатор Николаева А.А.

Специальность: Клинико-лабораторная диагностика

## Содержание:

Введение.....	3
Проблема бактериального вагиноза.....	4
Вопрос о половом пути передачи бактериального вагиноза.....	7
Роль <i>G. Vaginalis</i> и других микроорганизмов в развитии бактериального вагиноза	9
Механизм развития бактериального вагиноза	10
Особенности течения и клиники бактериального вагиноза	11
Лабораторная диагностика бактериального вагиноза. Микроскопический метод	14
Культуральное исследование	15
Заключение.....	22
Список литературы.....	23

## Введение

Содержимое влагалища, являющееся индикатором физиологических и патологических состояний женской половой сферы, при различных заболеваниях, нерациональной терапии (антибиотики и др.), гормональном стрессе, под воздействием неблагоприятных факторов внешней среды может изменять свой качественный и количественный состав.

Развитие бактериального вагиноза связывают с многочисленными факторами, для изучения которых применяется ряд методических подходов, основанных на: анамнестических, клинических, микробиологических, молекулярно-биологических, иммунологических и др. данных, с помощью которых исследователи разрабатывают критерии, позволяющие установить диагноз и назначить адекватную и эффективную терапию.

Несмотря на определенную условность и сходство некоторых критериев, их тщательный анализ позволяет более точно дифференцировать близкие по клиническим проявлениям (выделения из влагалища и др.) патологические процессы: бактериальный вагиноз, урогенитальный кандидоз и трихомониаз и, следовательно, -назначать рациональную терапию.

Вместе с тем, несмотря на то, что существует несколько классификаций бактериального вагиноза - его место среди других инфекционных заболеваний окончательно не установлено и, в связи с этим он не попал в перечень МКБ-Х: под шифром 89.5 указано «бели неуточненные как инфекционные», а под шифром 76 - «другие виды воспаления влагалища и вульвы».

Такая неопределенность, безусловно, негативно сказывается на постановке клинико-лабораторного диагноза, понимании сущности патологического процесса и факторов его вызывающих.

Сложность в объяснении причин, вызывающих бактериальный вагиноз, заключается в том, что не существует единого возбудителя заболевания, а микроорганизмы, вовлеченные в патологический процесс зачастую встречаются и в нормоценозе влагалища; большинство симптомов - субъективно, течение процесса - непатогномонично, и лишь тщательное обследование может позволить в большинстве случаев объективно оценить состояние пациентов и отдифференцировать этот патологический процесс от других.

*Бактериальный вагиноз представляет собой полимикробный невоспалительный синдром неясной этиологии, заключающийся в дисбиозе влагалища - резком уменьшении (вплоть до исчезновения) лактобацилл и возникновении анаэробной экспрессии, в результате чего, как правило, возникает нарушение нормо-микроценоза женской половой сферы, сопровождающееся выделениями, зудом, жжением, дискомфортом и др.: патологический процесс не передается половым путем, но ассоциируется с этими заболеваниями.*

Многие специалисты определяют бактериальный вагиноз как инфекционный синдром, однако инфекция (от греческого «заражать») представляет собой биологическое явление, сущностью которого являются внедрение и размножение микроорганизмов в макроорганизме. В данном же случае, в отличие от заболеваний, вызванных попаданием - внедрением в организм патогенных возбудителей, этиологический агент не определен, а микроорганизмы - строгие анаэробы и факультативные бактерии, запускающие, по мнению исследователей, механизм анаэробной прогрессии, в результате которой происходит перераспределение в составе микрофлоры слизистых влагалища, желудочно-кишечного тракта, путем вытеснения лактобацилл и размножение анаэробной микрофлоры, являются составной частью нормоценоза биотопа влагалища. Так полимикробный синдром - «бактериальный вагиноз» является результатом нарушений сложнейших симбиотических механизмов, контролирующих экологический баланс нормо-микрофлоры.

### Проблема бактериального вагиноза

Бактериальному вагинозу (БВ) отводится, наряду с кандидозом и трихомонозом, ведущая роль при вагинальных выделениях; он также является важным фактором развития воспалительных заболеваний органов малого таза, преждевременных родов, гнойно-септических осложнений у матери и ребенка в послеродовом периоде.

Поскольку патогенез БВ неясен, в процессе установления диагноза трудно, а порой – невозможно, отличить причину и следствие. По всей видимости, это обусловлено тем, что возникновение и развитие патологического процесса является совокупным продуктом множества составляющих, часть из которых до конца не выявлена.

Первые исследования микрофлоры гениталий женщин были начаты Дедерлейном в 1892 году, а анаэробные бактерии были выделены из вагинального содержимого в 1928 году. Получены данные, свидетельствующие, что состав микрофлоры гениталий зависит от видовой принадлежности и места взятия материала.

У здоровых женщин репродуктивного возраста во влагалищной микрофлоре преобладают анаэробные бактерии – 8,2 Ig КОЭг. В полости влагалища преобладают лактобациллы, стафилококки, коринебактерии, бактериоиды, бифидобактерии и анаэробные грам-положительны кокки, а у отдельных женщин в вагинальной флоре также обнаруживаются стрептококки, мико-уреаплазмы, *Candida* и представители рода *Mobilincus*.

Несмотря на индивидуальные различия в микробной экологии еженедельные исследования вагинальной флоры здоровых женщин не продемонстрировали существенных колебаний качественного количественного состава. Установлено, что среднее число видов бактерий в менструальном периоде, как правило, снижается, причем содержание анаэробов в первой половине менструального цикла значительно превосходит таковое во второй половине цикла. У девочек и женщин в постменопаузе микрофлора влагалища приобретает сходство с микрофлорой кожи.

Следует также учитывать, что микроэкологический баланс влагалища зависит от многих факторов: менструальный цикл, интенсивность половой жизни, беременность, роды, использование противозачаточных средств и прочее. Микроэкология влагалища также находится в определенной зависимости от половых гормонов: эндогенные эстрогены способствуют накоплению в клетках влагалищного эпителия гликогена, который подвергается расщеплению бактериальными ферментами и используется в качестве источника энергии.

Получены многочисленные сведения о том, что реакция нормальной флоры на воздействие антибиотиков может быть кратковременной, легко обратимой и не сопровождается изменениями физиологических функций и биохимических реакций организма-хозяина. С другой стороны. Длительное, не всегда рациональное применение значительных доз антибиотиков может привести к микроэкологическому дисбалансу кишечника и других органов, а колонизационная резистентность остается сниженной спустя несколько недель и месяцев после отмены препаратов.

Весьма сложно оценить наличие и степень выраженности специфического микроэкологического дисбаланса у человека, находящегося под воздействием неблагоприятных факторов: повышенный радиационный фон, другие физические и химические воздействия; токсические и лекарственные средства и т.д.

Кроме того, каждому человеку присуще в определенной мере состояние микроэкологического гомеостаза, другими словами, количественные показатели у отдельных индивидуумов в норме выше, чем у других, а степень выраженности функций и реакций колеблется в пределах величин, отмечаемых у здоровых людей.

На долю бактериального вагиноза и кандидозного вульвовагинита приходится более 90% всех случаев вульвовагинитов. Причем из пяти основных состояний, обуславливающих влагалищные выделения: бактериальный вагиноз, кандидозный вульвовагинит, цервицит, повышенная цервикальная секреция и трихомонадный вагинит,

наиболее часто отмечается первый, а среди воспалительных заболеваний женских половых органов 70% относят к инфекциям влагалища.

Заболеваемость бактериальным вагинозом варьирует в широких пределах и составляет по некоторым данным от 20 до 90%. Однако в популяции населения некоторых регионов бактериальный вагиноз отмечается в пределах 15-30%, но, по сравнению со странами Европы и США, среди заболеваний влагалища в России преобладает именно бактериальный вагиноз.

Статистические данные о частоте бактериального вагиноза несколько противоречивы и неоднозначны, что, видимо, не в последнюю очередь связано с недостатками диагностики и сопоставления различных групп обследуемых: наличие других инфекционных заболеваний, беременные, использование контрацепции и т.д. К этому следует добавить, что некоторые специалисты не различают, в силу ряда обстоятельств, понятия нарушения биоценоза влагалища на фоне неспецифического вагинита и истинного дисбактериоза влагалища.

Известно, что бактериальный вагиноз, хотя и не относится к инфекциям, передающимся половым путем, часто ассоциируется с ними, а поскольку в России до настоящего времени сохраняется неблагоприятная эпидемиологическая ситуация с этими инфекционными заболеваниями - уровень бактериального вагиноза остается высоким.

Частота заболеваемости бактериальным вагинозом

<i>Клиника сексуально-трансмиссионных болезней</i>	Бондарев Н.Э (1997)	44,3%
	Hallen A.	36%
	Eschenbach D A.	33%
	Embree	64%
	Hill G. b.	37%
<i>Гинекологическая клиника</i>	Кира Е.Ф. (1995) (в общей популяции)	19,2%
	Кира Е.Ф. (1995) (при патологических белях)	86,8%
	Муравьева В.В.	24%
	Муравьева В.В. (1997) (при патологических белях)	62,4%
	Eschenbach D.A.	15%
	Thomason J.I.	23%
<i>Акушерская клиника</i>	Акопян Т.Э.(1996)	30,7%
	Муравьева В.В. (1997)	28,5%
	Воронова СИ. (1998)	67,7%
	Симчера И.А. (1998)	39,7%
	Thomason J. I.	26%
	Hill L.H. et al. (1983)	23%
	Gravett M.G. et al. (1986), Martius J. et al. (1988)	10-25%
	Puapertpoonsiri S. et al.(1996)	13,6-15,9%
	Govender L et al. (1996)	52%
<i>Клиника планирования семьи</i>	Hill L.H. et al. (1983)	29%
	Riordan	26%
	Hill L.H. et al. (1983)	23%
<i>Студентки колледжа (без вагинальных симптомов)</i>	Eschenbach D.A.	4%
<i>Студентки колледжа (с вагинальными симптомами)</i>	Amsel. Rr	24%
	Eschenbach D. A.	15%
<i>Частная врачебная практика</i>	Hill L.H.	16%
<i>При воздействии радиационных факторов</i>	Кира Е.Ф (1995)	62,1%

В частности, в последние годы возросло количество субманифестных и асимптомных форм многих ИППП. Имеются данные о том, что во многих случаях (до

65%) трихомоноз протекает по типу транзитного или бессимптомного носительства и сопровождается выраженными изменениями микробиоценоза влагалища.

Комплексное клинико-лабораторное обследование женщин позволило, наряду с трихомонозом (32,78%), сифилисом (21,1%), гонореей (1,5%), в значительном проценте случаев выявить урогенитальный кандидоз (30,7%) и бактериальный вагиноз (27,3%). В ассоциации с этими инфекциями у 13% обследованных были выявлены мико-уреаплазмы и у 29,2% остроконечные кондиломы, т.е. отмечается превалирование смешанных инфекций (66,7%), а в 77% случаев урогенитальные инфекции были вызваны условно-патогенными микроорганизмами. В настоящее время отмечается преобладание хронических, асимптомных форм заболеваний, что свидетельствует о патоморфозе инфекций урогенитального тракта.

При обследовании женщин с воспалительными заболеваниями мочеполовых органов хламидийно-гарднереллезная и хламидийно-кандидозная инфекции были установлены в 10% и 9%, соответственно; у 11 % наблюдалось сочетание трех инфекций, а у 6% - четырех-пяти инфекций. Нередки ассоциации *C. trachomatis* с генитальными микоплазмами, вирусом простого герпеса, кишечной палочкой, энтерококками.

Интерес к бактериальному вагинозу возник на современном этапе в середине 50-х годов прошлого столетия, когда Гарднер и Дьюкс впервые выделили при поражении влагалища женщин *Gardnerella vaginalis* и фактически продемонстрировали их клиническую значимость.

Вместе с тем, уже в конце XIX века было разработано направление, которое позднее назвали «микробиология влагалища», а в первой половине XX века исследователям удалось определить значение анаэробов в этиологии воспалительных заболеваний влагалища.

К этому времени была описана бактериологическая картина окрашенных по Граму мазков из влагалища женщин с патологическими выделениями, а этиологию заболевания связали с наличием анаэробных стрептококков. Были получены морфологические данные о крупных, встречающихся в норме грамположительных палочках (позднее - лактобациллы) в мазках и патологических выделениях, а также другие противоречивые сведения о микроорганизмах, являющихся, по мнению авторов, причинами заболеваний влагалища.

Первооткрыватели *G. vaginalis* высказали гипотезу о том, что эти бактерии, выделенные из половых путей большинства женщин, страдающих вагинитами, способны вызывать заболевание. В то время эти микроорганизмы были названы *Haemophilus vaginalis*, т.к. чаще всего выделялись из влагалищной микрофлоры при инфекционных заболеваниях. В это же время появился новый термин - «неспецифический вагинит» в противоположность специфическим инфекциям - герпес, трихомоноз и другим, и установлено, что именно *H. vaginalis* вызывают это заболевание, названное «ге-мофильный вагинит» (*Haemophilus vaginalis vaginitis*). С учетом биохимических и морфологических свойств *H. vaginitis* была переименована в *Corynebacterium vaginale*, а гемофильный вагинит стали именовать «коринебактериальный вагинит» (*Corynebacterium vaginale vaginitis*). В 1980-х годах было установлено, что *C. vaginale* не относится к роду *Corynebacterium*, другими словами - пересмотрена родовая принадлежность бактерии и установлен новый род, обладающий одним видом - *Gardnerella (vaginalis)*; позднее (1980-е гг.) заболевание стало носить название гарднереллезный вагинит (*Gardnerella vaginalis vaginitis*) или гарднереллез. По поводу этих терминологических изменений возникало много недоразумений: неспецифический вагинит, по мнению ряда исследователей, не является собственно вагинитом или речь может идти о самостоятельном синдроме неспецифическом вагинозе и т.д. Благодаря техническим возможностям, при исследовании микробиоценоза женщин с патологическими выделениями удалось выделить значительное количество видов облигатных, факультативно-анаэробных, аэробных и микроаэрофильных бактерий и

показать этиологическую значимость строгих анаэробов, на основании чего был введен термин - «анаэробный вагиноз» (1982 г.).

Первый международный симпозиум по вагиниту (Стокгольм, 1984) обосновывает необходимость выделения вагиноза в отдельный синдром «как состояние, сопровождающееся появлением патологических выделений из влагалища, в которых обнаруживаются различные микроорганизмы», а само заболевание стало называться бактериальным вагинозом.

В настоящее время существует еще два термина: «вагинальный бактериоз» (Mardh P.A., 1994) и «вагинальный лактобациллез» (Horowitz B. и соавт., 1994). В научной литературе также встречаются и другие определения: аминокольпит, гарднереллез и т.д., подразумевающие одно и то же патологическое состояние. Несмотря на многочисленные исследования в специальной литературе нет единого мнения о названии этого патологического процесса и, как справедливо отмечает в своей монографии профессор Е.Ф. Кира (2001), подобное положение негативно сказывается на практической деятельности врачей. Со своей стороны хотелось бы отметить, что термин «бактериальный вагиноз» не учитывает того, что данный патологический процесс присущ, т.е. может возникать не только у женщин, но и у мужчин и детей обоего пола.

Уровень облигатных анаэробов при бактериальном вагинозе может увеличиваться в тысячу раз, при этом удельный вес лактобацилл снижается до 30% от общего числа микроорганизмов. Межмикробные ассоциации поддерживаются специфическими катаболитами, которые вырабатываются как *G. vaginalis*, так и облигатно-анаэробными бактериями. Нарушения функциональной активности лейкоцитов в присутствии *G. vaginalis* объясняют отсутствие лейкоцитарной реакции у пациенток с бактериальным вагинозом. Причиной супрессии лейкоцитов, по-видимому, является присутствие в значительных количествах в вагинальных образцах сукцината - продукта метаболизма бактерии рода *Bacteroides*, который ингибирует хемотаксис лейкоцитов и их способность к фагоцитозу, т.е. функции лейкоцитов подавляются синергическим эффектом одновременно гемолизина гарднерелл и сукцинатом бактероидов. Известно, что увеличение количества анаэробных бактерий сопровождается продукцией протеолитических ферментов, при взаимодействии которых с белками вагинальной жидкости высвобождаются полиамины, преобразующиеся, в свою очередь, в диамины (кадаверин, путресцин), соли которых и придают вагинальному отделяемому «запах рыбы».

До настоящего времени, несмотря на определенные усилия, не удалось однозначно решить вопрос об этиологической роли *G. vaginalis*, тем более, что стало известно о неоднородности выделяемых штаммов и о том, что бактериальный вагиноз ассоциируется лишь с определенными биоварами (Pedraza-Alives A. G. и соавт., 1995). В связи с тем, что гарднереллы в норме присутствуют во влагалищной слизи у большинства здоровых женщин, вопрос об их контагиозности можно объяснить только гипотетически с точки зрения величины инфицирующей дозы бактерий.

#### **Вопрос о половом пути передачи бактериального вагиноза**

Следует иметь в виду, что если у безусловных патогенов (гонококки и др.) инфицирующая доза составляет порядка 100 тыс бактерий, то у *G. vaginalis* и других условно-патогенных бактерий эта величина должна быть на 1-10 порядков выше: 1-10 млн единиц. В этой связи ряд исследователей отрицают возможность заражения женщин от здоровых мужчин - носителей *G. vaginalis*. Редкое обнаружение гарднерелл, мобилункус. бактероидов, пептострептококков у половых партнеров женщин с бактериальным вагинозом свидетельствует в пользу того, что половой путь передачи, если и возможен, не является преимущественным.

Вместе с тем при изучении инфекции, вызванной гарднереллой, показано, что из 10 образцов, полученных от женщин и спермы их мужей, у которых не отмечено симптомов заболевания, *G. vaginalis* была выявлена у половины (50%) мужчин - сексуальных

партнеров инфицированных женщин, а также установлена способность *G. vaginalis* к колонизации нижних половых путей мужчин, что может обуславливать развитие реинфекции у женщин.

Проведены исследования возможного участия анаэробных микроорганизмов в развитии воспалительных заболеваний урогенитальной области мужчин, а также их эпидемической роли в распространении анаэробной микрофлоры (как вариант, бактериального вагиноза) половым путем. Исследователями не установлена роль мужчин в распространении анаэробов и их способности вызывать заражение половых партнеров, т.е. в уретре практически здоровых мужчин обнаружение анаэробной флоры авторы относят к случайным, редким (около 5% обследованных) находкам, а саму микрофлору приписывают к нерезидентной для данного биотопа и ее присутствие не связывают с клиническими проявлениями.

Изучение микрофлоры влагалища, проведенные методом хромато-масс-спектрометрии (ХМС) позволили выявить соотношения различных микробов у здоровых и женщин с бактериальным вагинозом. Установлено, что у последних количество лактобацилл уменьшилось в 10 раз, при одновременном увеличении в 2-5 раз - пептококков, пептострептококков - в 1,5-2,5 раза, бактероидов - в 50 раз, кампилобактер - в 40, клостридий - в 10 раз.

У женщин, страдающих бактериальным вагинозом, появляются бифидобактерии, *Bact. urealyticum*, а соотношение пропионбактерий, флавобактерий, фузобактерий и др. практически не изменяется. Другими словами, бактериальный вагиноз, по всей вероятности, представляет собой результат количественных изменений уже существующего во влагалище здоровой женщины микроценоза, а это заболевание (состояние) не является прямым следствием привнесенной инфекции.

Остается совершенно неизученным влияние микроорганизмов наиболее часто встречаемых при бактериальном вагинозе на состояние урогенитального тракта мужчин, имеющих регулярные половые контакты с женщинами, страдающими бактериальным вагинозом. Показано, что ряд условно-патогенных для влагалища микроорганизмов может играть значительную роль в патогенезе хронических вялотекущих урогенитальных заболеваний.

У мужчин, являющихся постоянными половыми партнерами женщин с бактериальным вагинозом, отмечаются явления рецидивирующего баланопостита, а также уретропростатита. Кроме того, на фоне бактериального вагиноза в силу развивающейся тканевой гипоксии и высоких показателей рН вагинального содержимого значительно увеличивается риск заражения ИППП (ВИЧ и другие), а также происходит активизация латентных вирусных инфекций, что оказывает негативное влияние во время беременности.

Высказывается мнение о необходимости обследования половых партнеров женщин, страдающих бактериальным вагинозом, не только на традиционные возбудители, но и на менее известные в практике - мобилункус и бактероиды, а в зависимости от клинической картины мужчине следует проводить как специфическую терапию, так и рекомендовать использование барьерных контрацептивов.

Вопрос о возможности половой трансмиссии заболевания до настоящего времени является дискуссионным. На протяжении ряда лет бактериальный вагиноз (гарднереллез) входил в перечень инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), - в настоящее время он выведен из этого списка.

Отсутствие единого мнения по вопросу о путях передачи бактериального вагиноза, несомненно, связано еще и с тем, что лишь одной трансмиссии микроба недостаточно для возникновения и развития заболевания. Для этого совершенно необходимо наличие различных предрасполагающих экзо- и эндофакторов, а поиски так называемых моновозбудителей бактериального вагиноза можно считать бесперспективными, за исключением абсолютных патогенов при инфекциях передаваемых половым путем.



### **Роль *G. Vaginalis* и других микроорганизмов в развитии бактериального вагиноза**

Как известно, значительная и даже гипертрофированная роль при бактериальном вагинозе в недавнее время отводилась *G. vaginalis*, а ее присутствие ставили во «главу угла» при постановке диагноза и назначении терапии.

Вместе с тем убедительно доказано, что частота выделения гарднерелл колеблется в широких пределах от 10% до 100%, а ее присутствие часто не сопровождается какими-либо клиническими проявлениями. В частности, A.N. Nasfari и соавторы (1986) выделили *G. vaginalis* в 18% случаев у здоровых женщин, U.B. Novme и D.A. Eschenbach (1985) и другие исследователи - в 40-50%; j S.L. Hillier (1993) - около 50% и т.д.

Более того, имеются сообщения об одинаковой частоте обнаружения (посев) *G. vaginalis* (около 33%) у здоровых и женщин, страдающих анаэробным вагинитом.

С другой стороны, установлено, что при бактериальном вагинозе *G.vaginalis* обнаруживается в подавляющем (около 35%) числе случаев.

Гарднереллы, как показано, довольно часто встречаются в ассоциациях с гонококком, трихомонадами, а у больных с негонорейными мочеполовыми инфекциями - с микоплазмами: у мужчин в 41%, у женщин - в 64,5% с одновременным обнаружением дрожжеподобных грибов и трихомонад. Некоторые авторы полагают, что существенная роль в развитии бактериального вагиноза принадлежит *U. urealyticum*, частота выделения которой составляет 46% (Priestly C.J. и соавт., 1997). Имеются сведения о высокой (более 46%) частоте ассоциации двух и более микроорганизмов, в т.ч. уреоплазм при бактериальном вагинозе. Имеются сведения о том, что бактериальный вагиноз чаще ассоциируется с *M. hominis* и реже с *U. urealyticum*, но не с *M. genitalium* (Gvavett M.G. и соавт., 1986; Taylor-Robinson и соавт., 1999), которые, по-видимому, причастны к развитию хронических и рецидивирующих негонokokковых уретритов, а также простатита и болезни Рейтера.

Предполагается синергизм действия уреоплазм и гарднерелл, а *M. hominis* и *U. urealyticum* выявляются у женщин в 2-3 раза чаще и в более высоком титре, чем у мужчин. Вместе с тем получены неоднозначные данные о колонизации слизистых мочеполовой сферы уреоплазмами: 12-25% - у мужчин и от 0 до 80% - женщин.

Широко обсуждается роль высоких титров *M. hominis* и *U. urealyticum* (более  $10^4$  КОЕ/мл), а также определенных биоваров уреоплазм (Parvo или T960) в развитии урогенитальной патологии и патогенезе бактериального вагиноза.

В частности биовар Parvo *U. urealyticum* коррелировал с воспалительным процессом мочеполовых органов, биовар T 960 - с бактериальным вагинозом, почти у 2/3 обследованных пациенток, а обнаружение массивной диссеминации уреоплазм в сочетании с условно-патогенными микроорганизмами достоверно связывают с асимптомными урогенитальными заболеваниями.

Исследователи в этом вопросе не пришли к единому мнению. Вместе с тем принято считать, что патогенные потенции уреоплазм и микоплазм значительно возрастают при массивной диссеминации, что, в свою очередь, способствует индукции воспалительного процесса.

В последние годы появляются сообщения о выделении анаэробной грамположительной кокковой бактерии *Atopobium vaginae* рода *Atopobium* семейства *Corynebacteriaceae*. Проводятся исследования связи с *A. vaginae* с бактериальным вагинозом и даже высказываются предположения о более высокой специфичности *A. vaginae* при бактериальном вагинозе, чем *G. vaginalis*. Оба эти микроорганизма колонизируют слизистые влагалища здоровых женщин репродуктивного возраста. Поскольку *A. vaginae* относится к трудно культивируемым микроорганизмам, основные исследования, связанные с его детекцией, наряду с микроскопией, критерием Amsel и маркером Nugent выполнены методами молекулярной биологии: ДНК-ПЦР и секвенирования 16S РНК гена.

*A. vaginae* была недавно идентифицирована коммерческими диагностическими китами. Устанавливается связь *A. vaginae* и недавно описанными резистентными к метронидазолу анаэробами при бактериальном вагинозе.

### Механизм развития бактериального вагиноза

Механизм возникновения и развития бактериального вагиноза лежит, как убедительно доказано, в плоскости перераспределения микроорганизмов, составляющих нормальную микрофлору слизистой влагалища. Причем ключевым моментом является их количественное соотношение: под влиянием эндо- и экзофакторов происходит «вытеснение» одних микроорганизмов другими, в результате чего нарушается «хрупкий симбиоз» огромного количества микробов, составляющих разнообразную микрофлору слизистой влагалища.

При бактериальном вагинозе, как известно, а также ряде других влагалищных инфекций отмечается нарушение микроэкосистемы, проявляющееся в увеличение видов микроорганизмов с преобладанием строгих анаэробных бактерий, что, в свою очередь приводит к значительному уменьшению частоты выделения молочнокислых бактерий (лактобацилл и др.)

Лактобациллы главным образом обеспечивают антагонистическую функцию, направленную против чужеродных бактерий, т.н. резистентность микрофлоры влагалища. Одновременно в состав биоценоза входят бифидобактерии, фузобактерии, стафилококки, представители колиформной группы и др.

Важным фактором стабильности микроэкосистемы влагалища является присутствие во влагалищной жидкости лактобацилл, продуцирующих  $H_2O_2$ , а их метаболическая активность определяет некоторые параметры микроценоза: функциональность эпителия и состав влагалищной жидкости.

Сдвиг pH влагалищного содержимого в щелочную сторону ( $> 4,5$ ), происходящий вследствие различных причин, является неблагоприятным фактором для жизнедеятельности нормальной ацидофильной микрофлоры и приводит к росту (размножению) анаэробных бактерий. В результате метаболизма анаэробов под воздействием микробных декарбоксилаз образуются биогенные диамины (кадаверин, путресцин и др.), что обуславливает появление неприятного запаха («гнилой рыбы»).

Летучие амины присутствуют и в норме, однако, в весьма низких концентрациях. При бактериальном вагинозе и трихомонозе они определяются у подавляющего большинства больных женщин; при кандидозе эти метаболиты также присутствуют, но в меньшем проценте случаев (около 20%), что можно объяснить антагонизмом грибов и анаэробов.

Основным субстратом, используемым в процессах брожения является глюкоза, а, как известно, в клетках поверхностного слоя эпителия влагалища содержится много гликогена, который под действием амилазы вагинальной жидкости гидролизует до декстринов, и мальтозы, которые поглощаются микроорганизмами и расщепляются фосфорилазами до гексозы, в свою очередь, используемой в процессах брожения

В самом общем виде гипотетическая схема развития бактериального вагиноза может быть представлена следующим образом.



Следует отметить большое значение гуморального и клеточного иммунитета в возникновении и развитии бактериального вагиноза.

Показано, что антитела служат препятствием прикреплению бактерий или вирусов к клеточным мембранам и могут активизировать каскад комплемента, уничтожая чувствительные микроорганизмы или способствовать их поглощению фагоцитами.

Но отсутствие возбудителя и воспалительного процесса, особенности клинической картины не дает достаточных оснований считать «бактериальный вагиноз» инфекционным заболеванием в общепринятом смысле этого понятия

#### **Особенности течения и клиника бактериального вагиноза**

Бактериальный вагиноз характеризуется клиническими проявлениями, среди которых наиболее распространены выделения, зуд, жжение в области вульвы, дизурические расстройства, диспареуния, болезненность в области влагалища и промежности. Постановка диагноза заболевания основывается на результатах комплексного клинико-лабораторного обследования пациентов с учетом состояния микро- и макроорганизма.

Инкубационный период при бактериальном вагинозе составляет в среднем 10 дней. Основным симптомом заболевания, встречающийся у подавляющего числа больных (около 80%), - длительные и обильные выделения с неприятным («рыбьим») запахом белей, тогда как жалобы на зуд, жжение в области вульвы, болезненность во влагалище и промежности предъявляют 20-30% женщин с бактериальным вагинозом. Другие проявления: дизурия, диспареуния - варьируют в широких пределах. Симптомы, присутствующие при бактериальном вагинозе, имеют различную степень выраженности, могут сочетаться друг с другом и длиться на протяжении многих лет

Выделения из половых путей, как правило, умеренные, обильные, серовато-белого цвета, гомогенные, специфический «рыбий» запах может быть постоянным, однако у некоторых пациенток - появляться во время менструации и полового акта, а затем исчезать.

Вместе с тем объективные симптомы у женщин с бактериальным вагинозом могут отсутствовать даже при положительных лабораторных тестах.

При длительно текущем патологическом процессе бели приобретают желтовато-зеленую окраску, становятся густыми, пенистыми, слегка тягучими и липкими, равномерно распределяясь по стенкам влагалища.

Женщины с бактериальным вагинозом могут предъявлять жалобы на обильное менструальное кровотечение, боли в области низа живота, однако у части больных не отмечено никаких объективных и субъективных симптомов.

Бактериальный вагиноз непосредственно не представляет угрозы для жизни больного, однако наличие длительных и обильных выделений из влагалища часто сопровождается психосоматическими нарушениями, снижением работоспособности, качества жизни, а также может негативно отражаться на половой и детородной функции женщин.

Для бактериального вагиноза характерно отсутствие воспаления со стороны слизистой оболочки. Кольпоскопические исследования бактериального вагиноза продемонстрировали, в отличие от неспецифического вагинита, отсутствие диффузной или очаговой гиперемии, точечных кровоизлияний и инфильтрации слизистой влагалища, однако, присутствовали гипо- или дистрофические изменения, расценивающиеся как признак вагиноза.

В настоящее время установлено, что у большинства женщин с бактериальным вагинозом в анамнезе существовали перенесенные ранее гинекологические заболевания (более 66%), в том числе воспалительного характера (более 50%). Кроме этого наиболее частой причиной возникновения и развития бактериального вагиноза являются изменения гормонального статуса организма и антибактериальная терапия. Весьма вероятно, что изучение уровня гонадотропных и половых гормонов крови, функции гипофиза позволит достичь большего понимания механизмов регуляции биоценоза влагалища и развития бактериального вагиноза.

В 80-х гг. прошлого столетия был предложен комплекс клинико-лабораторных критериев оценки бактериального вагиноза (Amsel R. и соавт., 1983), который получил международное признание и назван впоследствии «диагностическим стандартом». Клинико-лабораторные признаки бактериального вагиноза включают:

- характер вагинальных выделений (гомогенные, равномерно распределенные по стенкам влагалища);
- pH вагинального секрета (повышенный:  $> 4,5$ );
- положительный аминный тест (с 10% раствором КОН) - присутствие запаха гнилой рыбы;
- выявление «ключевых» клеток при микроскопии вагинальных мазков, окрашенных по Граму и метиленовым синим.

Сочетание любых 3 признаков из 4 свидетельствует о наличии бактериального вагиноза, поэтому его называют «триадой». Однако р<sup>3</sup>Д исследователей считает, что сочетание даже 2 признаков: наличие «ключевых» клеток и положительный аминотест и другие варианты - достаточно для экспресс-диагностики бактериального вагиноза (Thomason J.L. и соавт., 1990).

Первый из вышеуказанных признаков - характер влагалищных выделений трудно поддается объективной оценке, а их количество, распределение во влагалище и физико-химические свойства варьируют. В основном отмечают серовато-белые (желтовато-зеленые - при длительном процессе), гомогенные, скудные или обильные, иногда пенистые выделения с неприятным запахом на стенках влагалища. Этот признак не следует переоценивать, поскольку у 30% пациенток заболевание протекает без него, сходный характер выделений наблюдается и при трихомониазе, они также могут быть «спровоцированы» гинекологическим исследованием или недавним половым контактом.

Указанный признак обладает низкой специфичностью, что, по мнению ряда исследователей, служит основанием к исключению его из диагностического стандарта (Cristiano L. и соавт., 1996). Тем не менее этим критерием пользуются для оценки бактериального вагиноза.

Повышение pH содержимого влагалища ( $>4,5$ ) в щелочную сторону рассматривается как важный диагностический признак бактериального вагиноза. Многие исследователи оценивают этот показатель как высокочувствительный: он отмечается у подавляющего большинства больных (более 80%), однако специфичность его составляет не более 70%. Интерпретация этого теста неоднозначна, поскольку менструация, наличие во влагалище семенной жидкости при обследовании пациенток вскоре после полового акта - могут привести к изменению pH. По всей видимости, указанный критерий может отражать состояние метаболизма лактофлоры, зависящее от содержания в эпителии влагалища гликогена, которое, как известно, гормонозависимо, что при диагностике бактериального вагиноза может привести к ложноположительным результатам. Имеются данные о том, что при бактериальном вагинозе величина pH влагалищного содержимого колебалась от 5,0-7,5, тогда как у здоровых женщин она в среднем составляла 4,2-4,3, т.е. различия статистически достоверны. При дифференциальной диагностике бактериального вагиноза и неспецифического уретрита следует учитывать, что в обоих случаях реакция влагалищного секрета смещалась в щелочную сторону (4,5-5,5) однако в последнем случае она была менее выраженной.

Третий критерий - положительный аминный тест, заключающийся в появлении или усилении запаха гнилой рыбы при смешивании патологических выделений влагалища с 10% раствором КОН (NaOH). Реакция заключается в выделении летучих диаминов (путресцин, кадаверин, триметиламин), находящихся в секрете влагалища. Тест весьма чувствителен, однако его специфичность рассматривается по-разному: от высокой (до 90%) до низкой (менее 50%). Модификация этой реакции - диаминовый тест (O'Dowd T. и соавт., 1996) более удобна и, по мнению многих, более специфична. Интерпретация этого

теста затруднена из-за возможного присутствия в составе микрофлоры влагалищного секрета анаэробных бактерий и трихомонад.

С помощью тонкослойной хроматографии более точно можно установить наличие продуктов бактериального метаболизма строгих анаэробов, определяющих присутствие неприятного («рыбного») запаха - некоторых летучих диаминов.

Некоторые исследователи считают тест на пролинаминопептидазную активность влагалищных микроорганизмов весьма специфичным и чувствительным при бактериальном вагинозе (Liven-good С. Н. и соавт., 1990), однако в России он, насколько нам известно, не применяется.

Различия в оценке аминного теста становятся очевидными, если учесть, что сама *G. vaginalis* не продуцирует амины, а основными продуктами ее метаболизма являются пировиноградная кислота и аминокислоты, которые утилизируются анаэробами, способствуя их размножению (росту).

Один из важнейших критериев диагностики бактериального вагиноза - обнаружение «ключевых» клеток в мазках из влагалища, окрашенных по Граму, «синькой» и другими красителями. По мнению многих авторов, этот метод является наиболее высокочувствительным и специфичным. Однако использование этого диагностического маркера бактериального вагиноза ограничено опытом и квалификацией врача-лаборанта, приготавливающего и оценивающего препарат.

С учетом особенностей течения бактериального вагиноза клиническое обследование представляет определенные, а зачастую серьезные трудности. Часть жалоб, предъявляемых пациентками, - субъективны, а клинические симптомы связаны с наличием других заболеваний: многочисленными перенесенными или сопутствующими воспалительными процессами женской половой сферы, инфекционными заболеваниями, в т.ч. ИППП (гонореей, трихомонозом, хламидиозом, кандидозом и др.), патологией эндокринной, иммунной, мочевыделительной систем, пороками развития мочеполовых органов.

В общем виде для установления диагноза «бактериальный вагиноз» необходимо:

- установить наличие 3 из 4 признаков заболевания (критерии Amsel);
- тщательно изучить анамнестические данные (использование антибиотиков, цитостатиков, противовирусных, противогрибковых, протистоцидных препаратов в анамнезе и при обследовании)
- установить наличие гинекологических, эндокринных патологий, заболеваний желудочно-кишечного тракта, мочеполовом сферы и др.;
- получить информацию о применении контрацептивов, а также о сексуальных партнерах и практике половых контактов.

Измерение водородного показателя (рН) влагалищного содержимого, характеризующего его кислотность, может выполняться с помощью индикаторных бумажных полосок для рН-метрии с эталонной десятичной шкалой деления от 3,8 до 6,1 (Merck, Германия).

Аминный тест используется для клинической экспресс-диагностики бактериального вагиноза. При его выполнении на предметное стекло наносится капля влагалищного отделяемого и добавляется равное количество 10% раствора гидроксида калия. Появление или усиление резкого неприятного запаха (запаха гнилой рыбы) свидетельствует о положительных результатах теста, что обусловлено выделением летучих аминов - продуктов метаболизма облигатных анаэробных микроорганизмов.

#### **Лабораторная диагностика**

##### **Микроскопический (бактериоскопический метод)**

Лабораторная диагностика бактериального вагиноза в России до сих пор основывается, главным образом, на методах светооптической микроскопии, с помощью которых

проводятся исследования биоматериала влагалища, а также цервикального и уретрального отделяемого.

Влагалищное отделяемое забирают с передней стенки заднебоковых сводов влагалища при осмотре в зеркалах. Материал из цервикального канала, содержащий эпителиальные клетки, получают с помощью специальных урогенитальных зондов с щеточками после предварительного удаления слизи с шейки матки стерильным марлевым тампоном. Уретральное содержимое получают с помощью желобоватого зонда. Полученный биоматериал наносят на обезжиренное маркированное (U, V, C) стекло, подсушивают на воздухе и подвергают соответствующей окраске. В России принято окрашивать препараты, полученные из урогенитального тракта пациентов, различными красителями и по различным методикам. Обычно для исследования используются два стекла: одно окрашивается метиленовым синим («синькой»), второе - по методу Грама. При изучении материала при подозрении на бактериальный вагиноз (БВ), кроме вышеуказанных методик применяется также окраска по Романовскому-Гимза.

При микроскопическом исследовании состояния вагинального микроценоза после исключения абсолютных патогенов (возбудителей ИППП) акцентируют внимание на следующих показателях:

- лейкоцитарная реакция: отсутствие или весьма незначительное количество лейкоцитов;
- общее количество микробных клеток, их морфология;
- количество лактобацилл: отсутствие или весьма незначительное их количество;
- наличие «ключевых клеток» (clue cells) - клеток плоского влагалищного эпителия с адсорбированным на них множеством мелких полиморфных палочек.

Исследование мазков окрашенных метиленовым синим и по Граму (в России принято одновременно проводить 2 исследования), а также по Романовскому-Гимза позволяет оценить состояние вагинального эпителия, лейкоцитарную реакцию, состав микрофлоры и сравнить его с нормоценозом, а также промежуточным типом и другими вагинитами.

Сравнительно недавно одним из основных критериев диагностики бактериального вагиноза считалось установление в окрашенном по Граму мазке «ключевых» клеток: «clue» - ключ к решению проблемы. Однако обнаружение на поверхности эпителиальных клеток влагалища гарднерелл является всего лишь одной из составляющих при постановке диагноза. Необходимо не только установить наличие «ключевых» клеток, но и дать оценку состоянию микроценоза влагалища: количественно оценить общую микробную обсемененность вагинального биотопа, отметить преобладавшие или отсутствие тех или иных бактериальных морфотипов, наличие (отсутствие) воспалительной реакции. В частности, лейкоцитарная реакция (присутствие в мазке большого количества лейкоцитов) дает основание дифференциации бактериального вагиноза от кандидозного вагинита.

В процессе исследования окрашенных мазков специалисты нередко сталкиваются с проблемой «ложно-ключевых» клеток. Дело в том, что *G. vaginalis* не является типичной грам+ или грам- бактерией и под влиянием тех или иных факторов проявляет различное отношение к окраске по Граму. Кроме того, другие микроорганизмы могут имитировать наличие «ключевых» клеток, оседая на поверхности клеток влагалищного эпителия. По Nugent в модификации А.С. Анкирской и В.В. Муравьевой (2003), оценка общей микробной обсемененности проводится по 4-балльной системе - по числу микробных клеток, обнаруживаемых в одном поле зрения при микроскопии с иммерсией:

- + - до 10 микробных клеток в поле зрения - минимальное количество;
- ++ - от 11 до 100 микробных клеток в поле зрения - умеренное количество;
- +++ - от 100 до 1000 микробных клеток в поле зрения - большое количество;
- ++++ - более 1000 микробных клеток в поле зрения - массивное количество.

Качественная оценка микрофлоры включает дифференциацию всех морфотипов по

их тинкториальным и морфологическим признакам: лактобацилл, фузобактерий, бактероидов, мобилункус, лептотрихий, гарднерелл и др., а также грамположительных кокков, колиформных палочек, дрожжеподобных грибов.

Микроскопия окрашенных мазков влагалищных выделений является в настоящее время одним из основных методов подтверждения диагноза «бактериальный вагиноз». С его помощью устанавливается наличие «ключевых клеток», ориентировочно качественный и количественный состав клеточных: эпителиальных клеток, лейкоцитов (нейтрофилов, эозинофилов, базофилов), оценивается характер фагоцитоза и микробных элементов: морфотипов (кокки грам+ и грам-), палочки (грам+ и грам-), устанавливается их сходство и различия, наличие грибковой флоры (бластоспоры, мицелий и др.).

Наряду с этим, как известно, в окрашенном мазке определяются патогенные возбудители ИППП: гонококки (окраска по Граму) трихомонады («синька» и др. красители), а также признаки воспалительного процесса, что весьма важно при постановке диагноза и дальнейшего ведения больного.

С этой точки зрения, альтернативы микроскопическому исследованию биоматериала из урогенитального тракта (влагалища, цервикса, уретры и др.) в мире в настоящее время не существует.

К достоинству метода следует также отнести доступность, дешевизну, относительно высокую пропускную способность. В последние годы созданы определенные условия для качественного выполнения анализа: зонды, щеточки, маркированные и шлифованные стекла, производственным способом приготовленные красители («БиоМерье» - Франция, «Бектон Дикинсон» - США), удобные в работе микроскопы и т.д.

Вместе с тем, осуществлять видовую и количественную оценку факультативных анаэробов, микроаэрофилов, которые по морфологии могут быть сходными с другими видами облигатно-анаэробных бактерий, идентификацию различных морфотипов, с помощью микроскопического исследования весьма затруднительно, а его результаты в ряде случаев должны быть подтверждены более чувствительным бактериологическим методом.

### **Культуральное(бактериологическое) исследование**

Строго говоря, культуральные исследования не входят в перечень рутинных диагностических процедур при бактериальном вагинозе. Более того, по мнению многих специалистов, выделение чистой культуры *G. vaginalis* не рекомендуется в силу того, что эта бактерия не имеет самостоятельного этиологического значения при этом заболевании и обнаруживается в значительном проценте случаев у практически здоровых женщин.

Вместе с тем этот метод эффективен для видовой идентификации и количественной оценки микроорганизмов при нормо-микробиоценозе и дисбактериозе влагалища: он позволяет провести структурно-функциональный анализ микроорганизмов-ассоциантов дисбиотических проявлений в урогенитальном тракте и кишечнике, с его помощью осуществляется изучение видового, антигенного состава (серотипирование) анаэробов, микоплазм, грибов, а также патогенных возбудителей ИППП (гонококк, хламидии, вирусы, трихомонады).

В ряде случаев лишь выделение и идентификация культуральных штаммов микроорганизмов является достоверной, с точки зрения постановки диагноза и назначения терапии. Результаты культурального исследования дают возможность оценить родовой, видовой и типовой состав и количество факультативных анаэробов, лактобацилл и подтвердить принадлежность к роду лактобактерий лактоморфотипов, выявленных при микроскопии окрашенных по Граму мазков. В настоящее время разработаны подходы к бактериологическому исследованию и видовой идентификации различных микроорганизмов, включая бактериологические, физические, химические способы их культивирования, а также создана р<sub>е</sub>, цептура питательных сред и ферментации углеводов для анаэробных, факультативно-анаэробных, облигатно-анаэробных бактерий и рецепты индикаторов.

Комплексное применение микроскопического и бактериологического методов (как подтверждающего и дополняющего первый) весьма целесообразно и эффективно при изучении дисбиотических явлений, особенно в случаях (довольно частых) атипичного, длительного, бессимптомного или хронического течения заболеваний и их ассоциаций с возбудителями ИППП.

С помощью культурального исследования осуществляется идентификация новых микроорганизмов (*Atopobium vaginae* и других) и устанавливается их этиологическая роль в тех или иных патологических процессах, а также разрабатываются *in vitro* методы воздействия на патогенные и условно-патогенные бактерии, грибы, вирусы, с учетом чувствительности микроорганизмов к лекарственным препаратам.

Для оценки качественного и количественного состава микрофлоры влагалища в соответствии с Приказом МЗ СССР №535 проводится культуральное исследование содержимого заднего и боковых сводов влагалища и цервикального канала на факультативно-анаэробные бактерии, грибы и лактобациллы.

Степень микробной обсемененности определяют методом секторального посева влагалищного секрета на 5% кровяном агаре, среде Эндо, Сабуро, МРС. Посевы инкубируют в условиях анаэробноза при температуре 37°C в течение 18-24 часов. При появлении роста учитывают общее количество колоний микроорганизмов каждого вида в отдельности; степень колонизации выражается в колониеобразующих единицах в мл выделений (КОЕ/мл). Видовую идентификацию проводят по общепринятым методикам: окраской «синькой» и по Граму, биохимическими тестами, методами амплификации нуклеиновых кислот (МАНК), ДНК-гибридизацией, в т.ч. флюоресцентной гибридизацией *in situ* (FISH) и др.

Существуют различные методы выращивания и идентификации ряда условно-патогенных микроорганизмов, ассоциированных с бактериальным вагинозом. Фенотипические признаки вида *G. vaginalis* могут быть установлены лишь с определенной степенью вероятности, т.к. этот вид содержит 33 биовара, и, таким образом, данные о частоте выявления гарднерелл и обсемененности ими влагалища относительны.

При генотипической дифференцировке *G. vaginalis* было описано несколько генотипов, не связанных с этим заболеванием, т.е. присутствующих также в нормомикроценозе влагалища.

Для окончательной идентификации гарднерелл используются биохимические критерии: гидролиз крахмала (100%), наличие и-гликозидазы (100%), глюкозы, мальтозы (100%) и другие факторы.

Сложность применения культуральных исследований при дисбактериозе заключается в том, что необходимо разработать серию селективных питательных сред, создать условия выращивания микроорганизмов, являющихся представителями различных семейств, родов, видов и относящихся к строгим и факультативным анаэробам, микроаэрофилам, облигатным бактериям, а также комменсалам, грибам, микoureapлазмам.

Следует также учитывать, что чистые культуры должны подвергаться фено- и генотипированию, т.е. после получения роста быть идентифицированы по ряду параметров, в т.ч. и количественной оценке, что выполнить в условиях стандартной, даже хорошо оснащенной лаборатории практически невозможно. Такие исследования длительны, должны проводиться высококвалифицированными специалистами, т.е. для их выполнения требуются значительные время и трудозатраты и высокий уровень организации и финансирования.

Вместе с тем, культуральные исследования до сих пор остаются важной составляющей в комплексе клинико-лабораторного обследования и ведения пациентов с подозрением на бактериальный вагиноз и другие дисбиотические процессы.

Поскольку постановка диагноза заболевания представляет собой «задачу со многими неизвестными», существует необходимость изучения весьма широкого спектра



микроорганизмов: патогенных возбудителей инфекций урогенитального тракта, условно-патогенных бактерий, грибов, мико-уреаплазм, а также «инициаторов» другой гинекологической патологии. Кроме того бактериология является весьма ценной и широко используемой методологией выявления и идентификации патогенных возбудителей ИППП.

В связи с длительностью и трудоемкостью микроскопических и бактериологических исследований при дисбактериотических процессах в последние годы начали создаваться альтернативные методы диагностики бактериального вагиноза: гибридизации и амплификации нуклеиновых кислот, а также другие методы, позволяющие с большой достоверностью в короткие сроки выявлять наличие тех или иных микроорганизмов непосредственно в биоматериале из различных локализаций.

Молекулярно-биологические подходы к детекции микроорганизмов

Молекулярно-биологические или генно-инженерные тест-системы, широко применяемые для детекции различных возбудителей инфекционных патологий, в последние годы начали применяться для диагностики бактериального вагиноза и урогенитального кандидоза. Принципы этих методологий, условия выполнения исследований, интерпретация результатов хорошо известны и описаны в многочисленных публикациях, монографиях, методических рекомендациях, научных пособиях.

Методы определения нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) эу-и прокариотических клеток относятся к прямым методам детекции и могут быть условно разделены на две группы:

- гибридационный анализ или ДНК-зондирование
- методы амплификации нуклеиновых кислот (МАНК).

Методы ДНК-гибридации - весьма эффективны при диагностике ИППП и ассоциированных заболеваний, в частности, при детекции условно-патогенных микроорганизмов. Дело в том, что строгие и факультативные анаэробы, микроаэрофилы и другие условно-патогенные микробы и грибы проявляют свои патогенные потенции, как правило, при довольно большом количестве (в отличие от патогенных) и, соответственно, для их детекции в клиническом материале не нуждаются в амплификации (увеличении, размножении).

Относительно недавно на основе метода ДНК-гибридаций был создан микробиологический анализатор «Affirm™ VP III» (Becton Dickinson - США), предназначенный для детекции и идентификации нуклеиновых кислот *Candida* spp., *Gardnerella vaginalis* и *Trichomonas vaginalis* в биообразцах вагинального секрета от пациентов с симптомами вагинитов/вагинозов. Поскольку влагалищные выделения связаны, главным образом, с тремя микроорганизмами: *Candida*, *G. vaginalis* и *T. vaginalis*, использование этого метода позволяет не только выявить их наличие (отсутствие), но и, что весьма важно, дифференцировать три близких по проявлениям патологических процесса: бактериальный вагиноз, вагинальный кандидоз и вагинальный трихомониаз.

Зарубежные исследователи (Ferris D.G. и соавт., 1995) на значительном фактическом материале, проведя сравнительную оценку метода ДНК-гибридации и традиционного метода диагностики (микроскопия влажного мазка) вышеуказанных вагинальных процессов, установили высокую эффективность новой методологии. Авторы пришли к заключению, что ДНК-гибридация является наиболее точным инструментом диагностики бактериального вагиноза по сравнению с изучением мазков, измерением pH и определением аминотеста (критерии Amsel). Апробация тест-системы «Affirm™ VP III» продемонстрировала высокую чувствительность, специфичность и 100% воспроизводимость метода ДНК-гибридации, а также диагностическую значимость при бактериальном вагинозе, позволяя одновременно идентифицировать 3 этиологических агента (Бочарова Е.Н. и соавт., 2001). Продемонстрировано, что из 51 обследованного пациента «ключевые клетки» были выявлены у 50,9%, тогда как бактериоскопически лишь у 29,4%. К преимуществам метода следует отнести простоту исполнения и автоматизацию процедуры, скорость (40-45 мин) получения результата. Метод может

применяться в качестве отборочного при массовых обследованиях, а также в комплексе с микроскопическими и другими методами диагностики. В 2002 году Всемирным Центром по контролю за заболеваемостью этот метод был рекомендован для лабораторной диагностики бактериального вагиноза (CDC, США). В силу финансовых и организационных проблем этот метод, к сожалению, в России до настоящего времени не применяется.

В России на основе методологии ПЦР-анализа были созданы и зарегистрированы высокоэффективные тест-системы, позволяющие идентифицировать *G. vaginalis* в вагинальных образцах в количественном (полуколичественном) варианте. Следует отметить высокую эффективность наборов «Диаген-Gardnerella» («ЛАГИС») и «АмплиСенс Gardnerella vaginalis - 355» (лаборатория ЦНИИ эпидемиологии МЗ РФ). Эти наборы обладают высокой чувствительностью, воспроизводимостью и были рекомендованы для диагностики бактериального вагиноза (Макарова Л.Н., 2000; Дмитриев Г.А., 2003). При применении тест-системы для ПЦР-анализа Лаборатории ЦНИИ эпидемиологии *G. vaginalis* была выявлена в 43,3% в группе беременных женщин больных бактериальным вагинозом, по сравнению с 25% в референс-группе.

Вместе с тем, установление наличия гарднерелл, как известно, не является единственным критерием патологического процесса и при постановке диагноза необходимо обладать информацией о видовом и количественном составе многих микроорганизмов - ассоциантов бактериального вагиноза. Другими словами, диагностика бактериального вагиноза должна быть направлена не столько на обнаружение *G. vaginalis*, сколько на определение численности ее популяции, характеристики других ассоциантов микроценоза влагалища и выявлении «патологического ядра» заболевания.

С этой целью в России и за рубежом создаются и апробируются разнообразные тест-системы, основанные, главным образом, на гибридизационных и ПЦР-технологиях анализа ассоциантов бактериального вагиноза: анаэробов, микроаэрофилов, облигатных бактерий, а также микоплазм и грибов. Вектор научно-прикладных разработок в настоящее время направлен на создание молекулярно-генетических систем (гибридизационный анализ, мультипраймерный ПЦР, ДНК-чипы) для одновременной диагностики нескольких микроорганизмов: бактерий, вирусов, грибов. В России создано несколько вариантов наборов реагентов для ПЦР-анализа, с помощью которых осуществляется анализ микроорганизмов-ассоциантов бактериального вагиноза. В частности, ООО НПФ «Гентех», применив мультипраймерную ПЦР («ЛактАм») с двумя парами олигонуклеотидных праймеров: одна размером 558 пар нуклеотидов (п.н.) - специфична для фрагмента генома лактобацилл (*L. fermentum*, *L. acidophilus*, *P. plantarum*, *L. casei* и др.), вторая - для генома *S. vaginalis* (820 п.н.), оценили соотношение *G. vaginalis* и *Lactobacillus* spp. в одном образце исследуемого биоматериала. Для определения ДНК *Fusobacterium* spp., *Mobiluncus curtisii*, *Prevotella bivia* применялась мультипраймерная ПЦР («АнаэрАм») с тремя парами олигонуклеотидных праймеров специфичных для фрагмента генома *Fusobacterium* spp. (230 п.н.), *Mobiluncus curtisii* (325 п.н.), *Prevotella bivia* (454 п.н.).

Специалисты ООО НПФ «Гентех» также создали наборы реагентов для ПЦР-анализа *U. urealyticum* и *M. hominis*: «УреАм» и «МикгАм», соответственно. В первом наборе применяется моно-Праймерная ПЦР с одной парой олигонуклеотидных праймеров специфичной для фрагмента генома *U. urealyticum* (446 п.н.), во втором - монопраймерная ПЦР с одной парой олигонуклеотидных праймеров специфичной для фрагментов генома *M. hominis* (374 п.н.). Эти мультипраймерные тест-системы были официально зарегистрированы (2005 г.) и довольно широко используются для количественной оценки микроорганизмов при бактериальном вагинозе.

В этой связи, перспективной является разработка диагностических наборов для ПЦР-анализа, с помощью которых возможно проводить идентификацию видов рода

*Candida* что, как известно, представляет определенный интерес при исследовании дисбиотических процессов.

Высокая чувствительность, специфичность и воспроизводимость, простота выполнения анализа и относительная дешевизна позволяют осуществить детекцию многих ассоциантов бактериального вагиноза в виде как скрининговых, так и подтверждающих исследований, превосходящих, по мнению авторов, бактериологические исследования.

Одной из активно развивающихся генно-инженерных технологий являются т.н. «чипы» - ДНК-чипы, микрочипы, биочипы. ДНК-чипы, как известно, основаны на гибридизации неизвестной нуклеотидной последовательности, в которой в определенном порядке расположены ДНК-последовательности, иммобилизированные на поверхности стекла или других подложках.

В последние годы в России наряду с другими странами ДНК-чипы начали использоваться для изучения эу- и прокариот и, в том числе, анализа микробного состава вагинального содержимого при дисбиотических процессах.

В результате использования микрочипа и ПЦР-анализа (вспомогательный метод) удалось идентифицировать 27 различных условно-патогенных микроорганизмов у пациенток с жалобами на выделения из влагалища. Чаще всего была обнаружена *G. vaginalis*, а также *Lactobacillus (fermentus и brevis)*, представители рода *Bacteroides*, генитальные микоплазмы (*M. urealyticum* и *M. hominis*, *Mobiluncus curtisii* и *mulieris*). Интересным является факт обнаружения *A. vaginae* у всех обследуемых пациенток (16) в п/группе с длительным периодом рецидивирования бактериального вагиноза, тогда как в контрольной группе этот анаэроб выявлен не был. Другими словами, по мнению авторов, речь может идти об этиологическом значении *A. vaginae* при рецидивирующем и длительно текущем бактериальном вагинозе.

Учитывая широкий спектр труднокультивируемой микрофлоры при бактериальном вагинозе и присутствие многих микроорганизмов в норме и на разных стадиях нарушения нормоценоза, применение этой методологии, по-видимому, позволит выявить и охарактеризовать наиболее значимые «маркерные» микроорганизмы-ассоцианты этого патологического процесса.

На сегодняшний день в России создаются лишь «пилотные» наборы и предстоит серьезный сопоставительный широкомасштабный анализ этой несомненно высокоэффективной методологии в сравнении с используемыми в настоящее время.

Подводя итоги, хочется отметить, что наряду с широко используемыми критериями Amsel и Nugent при диагностике бактериального вагиноза разрабатываются альтернативные методологии, основанные, главным образом, на гибридизационном анализе и молекулярно-биологических технологиях, обладающих значительными преимуществами: чувствительность, скорость получения результата, воспроизводимость, возможность в одной пробе из вагинальной жидкости произвести идентификацию практически неограниченного количества микроорганизмов, что особенно принципиально при изучении полимикробных синдромов, к которым относится бактериальный вагиноз.

Сложность клинико-лабораторного обследования пациентов с подозрением на бактериальный вагиноз заключается в следующем:

✓ заболевание обусловлено перераспределением микроорганизмов на слизистых оболочках и вытеснением (полным или частичным) резидентной микрофлоры (морфотипы лактобацилл и др.), т.е. в патологическом процессе участвует множество родов и видов условно-патогенных микробов, патологические потенции которых проявляются лишь при значительном увеличении их количества;

✓ условно-патогенные микроорганизмы: анаэробы (строгие и факультативные), микроаэрофилы, аэробы, комменсалы, микоплазмы, грибы - присутствуют, как в нормомикроценозе слизистых, так и при дисбиотическом процессе - бактериальном

вагинозе, т.е. речь должна идти о видовой и количественной идентификации микроорганизмов;

✓ необходимо проведение дифференциальной диагностики между бактериальным вагинозом, урогенитальным кандидозом и мочеполовым трихомониазом;

✓ поскольку бактериальный вагиноз - полимикробный синдром, обусловленный экзогенными факторами, существует необходимость исключения при постановке диагноза ИППП, а также изучения географических, экологических и других внешних неблагоприятных факторов (радиация и др.);

✓ это же касается установления особенностей функционирования иммунной, кроветворной, выделительной и др. систем и органов организма хозяина, гормонального статуса - роли эндогенных факторов в возникновении и развитии заболевания.

Клинико-лабораторное обследование представляет собой комплекс разноплановых методологий, применяемых для оценки состояния макро- и микроорганизмов при патологических процессах, характеризующихся нарушением нормомикроценоза слизистых.

Алгоритм обследования пациентов с подозрением на бактериальный вагиноз в общем виде может быть представлен следующим образом:

✓ клинико-инструментальное обследование пациентов с учетом возрастных и функциональных особенностей; сбор анамнеза (жалобы, акушерско-гинекологическая патология, количество половых партнеров, применяемые контрацептивы, наличие в прошлом ИППП, системные заболевания, состояние внутренних органов и т.д.)

✓ лабораторные исследования влагалищных выделений с целью:

- установления наличия возбудителей ИППП и
- воспалительных явлений (количество лейкоцитов и их фагоцитарная активность), а также уровня иммуноглобулинов в вагинальной жидкости;
- дифференциации от заболеваний сходной этиологии: урогенитального кандидоза и трихомониаза;
- видовой и количественной идентификации микрофлоры слизистых больных в сравнении с нормомикроценозом с целью установления этиологии бактериального вагиноза.

Эксперты Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) после анализа результатов клинико-лабораторного обследования пациентов сделали вывод о том, что наиболее эффективными методами диагностики бактериального вагиноза являются: критерии Amsel и Nugent, ПЦР-анализ и/или ДНК-гибридизация; культуральная диагностика - весьма эффективна для видовой идентификации и обнаружения новых микробов-ассоциантов заболевания в комплексе с молекулярно-биологическими методиками.

Серологические исследования (РИФ, реакция агглютинации и др.) не входят в перечень диагностических методик при бактериальном вагинозе.

Лабораторные исследования в России основаны, главным образом, на 2 разноплановых методологиях:

- микроскопия окрашенных мазков («синька», Грам, Романовский-Гимза) с количественным учетом клеточных и микробных элементов влагалищного содержимого;
- ПЦР-анализ и его модификации (мультиплексные методы) с целью одновременной количественной оценки микроорганизмов, составляющих микроценоз слизистых, а также методы ДНК-гибридизации.

Постановка диагноза «бактериальный вагиноз» осуществляется лишь на основании тщательного анализа результатов комплексного клинико-лабораторного обследования пациентов. Вместе с тем остается реальной проблема постановки достоверного диагноза, особенно в случаях атипичного, скрытого и рецидивирующего течения заболевания

## Заключение

Бактериальный вагиноз, наряду с урогенитальным кандидозом и трихомонозом, встречается наиболее часто среди заболеваний женской половой сферы. Эти недуги известны человечеству еще с античных времен, они виновны в очень многих личных трагедиях. В повседневной практике акушеров-гинекологов часто встречаются больные с рецидивирующими патологическими белями, так называемой лейкореей, которая практически не поддается традиционной противовоспалительной и антибактериальной терапии. При этом, отсутствие характерных симптомов и выраженных признаков воспалительной реакции со стороны слизистой оболочки влагалища нередко приводит к отрицанию врачами самой болезни. Этим пациенткам приходится на протяжении длительного периода применять многочисленные методы терапии и лекарственные средства. В результате отсутствия эффекта от проводимой терапии у таких больных возникают различные психосоматические нарушения. Усугубляют проблему и нарушения менструальной, половой и репродуктивной функции, а также проблемы климактерического периода.

Всё это обуславливает важность темы бактериального вагиноза. Требуется самое пристальное внимание, раннее распознавание и своевременное лечение.

## Список литературы

1. Дмитриева Г.А. Бактериальный вагиноз. – м.: Издательство ЮИНОМ, 2016
2. Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз.- СПб. :ООО «Нева-Люкс», 2015
3. Анастасьева В.Г. Современные методы лечения, диагностики и профилактики бактериального вагиноза.- Новосибирск 2013

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
«Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-  
Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации

КАФЕДРА

Кафедра кардиологии, функциональной и клинико-лабораторной диагностики ИПО

Рецензия <доц. КМН Кафедры кардиологии, функциональной и клинико-лабораторной  
диагностики ИПО Анисимова Елена Николаевна > на реферат ординатора первого года  
обучения специальности Клиническая лабораторная диагностика <Николаевой Аси Андреевны  
> по теме: <Бактериальный вагиноз. Лабораторная диагностика >.

Рецензия на реферат – это критический отзыв о проведенной самостоятельной работе ординатора с литературой по выбранной специальности обучения, включающий анализ степени раскрытия выбранной тематики, перечисление возможных недочетов и рекомендации по оценке. Ознакомившись с рефератом, преподаватель убеждается в том, что ординатор владеет описанным материалом, умеет его анализировать и способен аргументированно защищать свою точку зрения. Написание реферата производится в произвольной форме, однако, автор должен придерживаться определенных негласных требований по содержанию. Для большего удобства, экономии времени и повышения наглядности качества работ, нами были введены стандартизированные критерии оценки рефератов.

Основные оценочные критерии рецензии на реферат ординатора первого года обучения специальности Клиническая лабораторная диагностика :

Оценочный критерий	Положительный/ отрицательный
1. Структурированность	+
2. Наличие орфографических ошибок	-
3. Соответствие текста реферата его теме	+
4. Владение терминологией	+
5. Полнота и глубина раскрытия основных понятий темы	+
6. Логичность доказательной базы	+
7. Умение аргументировать основные положения и выводы	+
8. Круг использования известных научных источников	+
9. Умение сделать общий вывод	+

Итоговая оценка: положительная/отрицательная

Комментарии рецензента:

Дата: 17.12.2017

Подпись рецензента:

Подпись ординатора:

