

## СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ НИЖНИХ ОТДЕЛОВ ЖЕНСКОГО РЕПРОДУКТИВНОГО ТРАКТА

© О.В. Будиловская<sup>1</sup>, Е.В. Шипицына<sup>1</sup>, Н.А. Переверзева<sup>2</sup>, Н.Е. Воробьева<sup>1</sup>, Е.В. Спасибова<sup>1</sup>,  
А.Н. Григорьев<sup>1</sup>, А.М. Савичева<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург;

<sup>2</sup> ООО «Микробиомед», Санкт-Петербург

Для цитирования: Будиловская О.В., Шипицына Е.В., Переверзева Н.А., и др. Сравнение методов оценки воспалительной реакции нижних отделов женского репродуктивного тракта // Журнал акушерства и женских болезней. — 2018. — Т. 67. — № 5. — С. 13–20. doi: 10.17816/JOWD67513-20

Поступила в редакцию: 03.09.2018

Принята к печати: 18.10.2018

■ **Актуальность.** Несвоевременная диагностика и лечение воспалительных заболеваний нижних отделов генитального тракта женщины способны привести к возникновению серьезных нарушений репродуктивной сферы. Выявление воспалительного процесса представляет собой важный элемент диагностики этих заболеваний.

**Цель** — сравнить методы оценки локального воспаления у женщин, предъявляющих жалобы на выделения из половых путей.

**Материалы и методы.** В исследовании приняли участие 87 женщин с жалобами на выделения из половых путей. Для оценки воспаления изучали отделяемое влагалища микроскопическим методом и методом обратной транскриптазной полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени (тест «ИммуноКвантэкс», ООО «НПО ДНК-Технология», Москва, Россия).

**Результаты.** Вагинальные инфекции, вызванные условно-патогенными микроорганизмами, были выявлены у 27 женщин (31 %): кандидозный вульвовагинит (КВВ) — у десяти женщин (11,5 %), аэробный вагинит (АВ) — у 14 (16,1 %) и бактериальный вагиноз (БВ) — у 14 (16,1 %), при этом у восьми (9,2 %) из них БВ сочетался с КВВ, АВ или с обеими инфекциями. Результаты обоих методов полностью совпали при анализе проб от женщин с КВВ и АВ — вагинальными инфекциями, для которых характерна локальная воспалительная реакция. При тестировании проб от женщин с БВ, который является невоспалительным синдромом, и женщин без вагинальных инфекций наблюдались существенные расхождения в методах оценки воспалительной реакции влагалища. При анализе суммарных данных по результатам двух методов чувствительность и специфичность нового теста «ИммуноКвантэкс®» относительно микроскопического метода составили 85,7 и 48,9 % соответственно.

**Выводы.** Тест на основе ОТ-ПЦР, предназначенный для оценки профиля экспрессии генов иммунного ответа, дает возможность объективно оценить локальный воспалительный статус во влагалище. Определение наличия или отсутствия воспалительной реакции влагалища может служить диагностическим критерием при расхождении данных лабораторных исследований и клинических проявлений, а также для подбора эффективной терапии.

■ **Ключевые слова:** бактериальный вагиноз; аэробный вагинит; кандидозный вульвовагинит; экспрессия генов локального иммунного ответа; обратная транскриптазная полимеразная цепная реакция.

## COMPARISON OF METHODS FOR ASSESSING THE INFLAMMATORY RESPONSE OF THE LOWER PARTS OF THE FEMALE REPRODUCTIVE TRACT

© O.V. Budilovskaya<sup>1</sup>, E.V. Shipitsyna<sup>1</sup>, N.A. Pereverzeva<sup>2</sup>, N.E. Vorobyova<sup>1</sup>, E.V. Spasibova<sup>1</sup>,  
A.N. Grigoryev<sup>1</sup>, A.M. Savicheva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia;

<sup>2</sup> Microbiomed Ltd., Saint Petersburg, Russia

For citation: Budilovskaya OV, Shipitsyna EV, Pereverzeva NA, et al. Comparison of methods for assessing the inflammatory response of the lower parts of the female reproductive tract. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2018;67(5):13-20. doi: 10.17816/JOWD67513-20

Received: 03.09.2018

Accepted: 18.10.2018

■ **Hypothesis/aims of study.** A lack of timely diagnosis and treatment of inflammatory diseases of the lower genital tract in a woman can lead to serious reproductive disorders. The detection of inflammation is an important component of the diagnosis of these diseases. This study was undertaken to compare methods for detection of local inflammation in women with complaints of vaginal discharge.

**Study design, materials, and methods.** A total of 87 women having vaginal discharge were enrolled in the study. For the detection of inflammation, vaginal discharge was examined using microscopy and reverse transcriptase polymerase chain reaction (the ImmunoQuantex® test, DNA-Technology Ltd., Moscow, Russia).

**Results.** Vaginal infections caused by opportunistic microorganisms were detected in 27 women (31%), as follows: candidal vulvovaginitis (CVV) in 10 patients (11.5%), aerobic vaginitis (AV) in 14 patients (16.1%), and bacterial vaginosis (BV) in 14 patients (16.1%), with 8 (9.2%) of them having BV combined with CVV, AV or both infections. The results of the two methods fully agreed in the analysis of samples from women with CVV and AV as vaginal infections characterized by local inflammation. Testing samples from women with BV, which is a non-inflammatory syndrome, as well as women without vaginal infections resulted in significant discrepancies between the two methods. The sensitivity and specificity of the ImmunoQuantex® test compared to the microscopic method were 85.7% and 48.9%, respectively.

**Conclusion.** The new reverse transcriptase polymerase chain reaction based test for the evaluation of expression profiles of selected genes of immune response enables to assess the local immune status in the vagina. Determination of the presence or absence of inflammatory reaction in the vagina can be used as a diagnostic criterion for resolving discrepancies between laboratory data and clinical manifestations, as well as for choosing effective therapy.

■ **Keywords:** bacterial vaginosis; aerobic vaginitis; candidal vulvovaginitis; local immune response gene expression; reverse transcriptase polymerase chain reaction.

## Введение

Воспалительные заболевания нижних отделов генитального тракта женщин занимают лидирующее место в структуре гинекологической патологии [1] и могут протекать как с выраженными клиническими проявлениями, так и бессимптомно. Несвоевременная диагностика и лечение способны привести к возникновению серьезных нарушений репродуктивной сферы.

Нормальная микрофлора женских половых путей чрезвычайно разнообразна и представлена аэробными и анаэробными бактериями. У большинства здоровых женщин детородного возраста вагинальный биотоп на 95–98 % представлен лактобациллами. Именно они выполняют основную барьерную функцию и обеспечивают высокий уровень противомикробной защиты [2]. При нарушении баланса между физиологической и условно-патогенной микрофлорой влагалища возникают дисбиотические состояния, такие как бактериальный вагиноз (БВ), а также развиваются воспалительные процессы во влагалище, такие как аэробный вагинит (АВ). Эти заболевания характеризуются значительным уменьшением количества лактобацилл, что приводит к снижению концентрации молочной кислоты и перекиси водорода и, как следствие, повышению рН среды влагалища, что способствует размножению условно-патогенных микроорганизмов. Принципиальным различием между этими состояниями является наличие выраженной воспалительной реакции при АВ и ее отсутствие при БВ. БВ и АВ, наряду с кандидозным вульвовагинитом (КВВ), относятся к инфекционным заболеваниям влагалища, при которых женщины предъявляют различные жалобы. Самой ча-

стой причиной обращения к врачу становятся жалобы на наличие патологических выделений из половых путей.

Микроскопическое исследование отделяемого влагалища служит основным методом лабораторной диагностики этих заболеваний. До недавнего времени микроскопия вагинального мазка была единственным методом, позволяющим по числу лейкоцитов оценить выраженность воспалительной реакции влагалища, хотя до сих пор не существует четких норм вагинальных лейкоцитов и критериев их подсчета. В связи с этим наиболее информативным следует считать количество лейкоцитов относительно количества эпителиальных клеток влагалища [3].

Альтернативным исследованием с целью обнаружения воспалительного процесса является способ определения иммунологических показателей в отделяемом влагалища методом количественной ОТ-ПЦР, дающий возможность идентифицировать локальную воспалительную реакцию по интегральной оценке транскрипционных профилей генов иммунного ответа [4].

Инфекции, вызванные условно-патогенными микроорганизмами, служат своеобразным маркером дефекта иммунной системы. Препятствуя проникновению патогена, клетки слизистой оболочки влагалища не только создают механический барьер, но и запускают целый ряд системных и локальных механизмов защиты, представленных компонентами врожденного и приобретенного иммунитета [5]. При проникновении патогена в организм включается первая линия иммунологической защиты. Первичный воспалительный ответ на инфекционный агент опосредован специфическими толл-подобными рецепторами (toll-like

receptors, TLRs), которые активируются при контакте с клеточной стенкой микроорганизмов и распознают патоген. В результате этого начинается синтез провоспалительных цитокинов, способствующих дальнейшей активации клеток врожденного иммунитета. При этом цитокины выполняют две основные функции: вовлекают в защитную реакцию другие клетки (например, эпителиальные, эндотелиальные, дендритные) и способствуют миграции лейкоцитов из кровотока в очаг воспаления [6]. Изменение экспрессионного профиля генов иммунного ответа может быть объективным признаком локального воспаления. Недавно разработанная отечественная тест-система «ИммуноКвантэкс» (ООО «НПО ДНК-Технология», Москва) позволяет провести объективную диагностику воспалительного процесса молекулярно-биологическим методом на основе интегральной оценки экспрессии мРНК генов врожденного иммунитета (IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-18, TNF- $\alpha$ , TLR4, GATA3, CD68).

Целью исследования было сравнение теста на основе ОТ-ПЦР, предназначенного для оценки локального воспаления нижних отделов репродуктивного тракта, с микроскопическим методом у женщин, предъявляющих жалобы на выделения из половых путей.

## Материалы и методы

### Обследованная популяция

В исследовании участвовали женщины репродуктивного возраста, обратившиеся к гинекологу с жалобами на выделения из половых путей, зуд/жжение, неприятный запах, дисурию, диспареунию. Критериями исключения были беременность, выявление возбудителей инфекций, передаваемых половым путем (ИППП) (*Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium*), клинические признаки цервицита (слизисто-гнойные выделения из цервикального канала и/или кровоточивость шейки матки), прием интравагинальных и/или системных антибиотиков и интравагинальных пробиотиков в течение последних 4 недель, использование гормональных внутриматочных или вагинальных контрацептивов.

### Клинические материалы

Клиническим материалом для исследования служило отделяемое влагалища, полученное двумя стерильными одноразовыми

тампонами с заднебоковых стенок влагалища. Часть биоматериала с одного тампона наносили на два предметных стекла, которые окрашивали по Граму и метиленовым синим для проведения микроскопического исследования, после чего тампон помещали в транспортную среду с муколитиком ТСМ (ООО «Интерлабсервис», Москва) для анализа на ДНК возбудителей ИППП. Содержимое второго тампона использовали для оценки профиля экспрессии мРНК генов иммунного ответа с применением теста «ИммуноКвантэкс». Во избежание деградации РНК биоматериал переносили в пластиковые пробирки объемом 1,5 мл, содержащие 500 мкл среды для стабилизации РНК в биопробах (ООО «НПО ДНК-Технология»).

### Методы

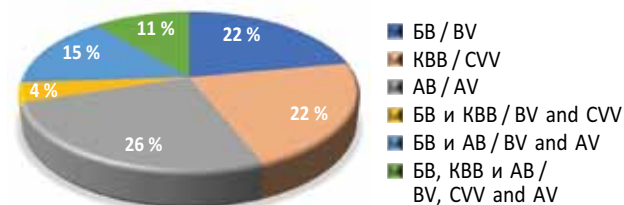
При микроскопической оценке воспалительной реакции влагалища воспаление констатировали при соотношении количества полиморфноядерных лейкоцитов и эпителиальных клеток  $>1$  [3]. Диагностику БВ проводили с применением метода Нуджента. Он основан на микроскопической оценке в препарате трех морфотипов микроорганизмов: 1) морфотип лактобациллы — крупные грамположительные палочки; 2) морфотип *Gardnerella* и *Bacteroides* — мелкие грамотрицательные или грамвариабельные палочки, кокки и коккобациллы; 3) морфотип *Mobiluncus* — изогнутые грамотрицательные или грамвариабельные палочки. При обнаружении данных морфотипов по каждой позиции присваивали баллы, которые затем суммировали. Число баллов от 0 до 3 расценивали как нормоценоз, от 4 до 6 — промежуточный вариант, а от 7 до 10 — БВ [7].

Диагностику АВ осуществляли при помощи микроскопического исследования по методу G. Donders [8]. Метод учитывает соотношение лактобациллярной и нелактобациллярной микрофлоры, количество лейкоцитов и их соотношение с количеством эпителиальных клеток, лизосомальную активность лейкоцитов (токсичные лейкоциты выглядят округлыми и раздутыми с лизосомами внутри), отношение количества парабазальных эпителиоцитов к количеству эпителиоцитов поверхностных и средних слоев. Суммирование баллов по каждой позиции дает общий счет от 0 до 10. Данные критерии также оценивают баллами и суммируют. При числе баллов  $<3$  констатировали отсутствие АВ, 3 или 4 — легкую

форму АВ, 5 или 6 — умеренную форму АВ, >6 — тяжелую форму АВ (соответствует десквамативному вагиниту).

Для выявления ДНК *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium* использовали тест «Фемофлор СКРИН» (ООО «НПО ДНК-Технология», Москва), основанный на количественной ПЦР в реальном времени. ДНК для ПЦР выделяли с применением набора реагентов ДНК-сорб-АМ (ООО «НекстБио», Москва).

Для определения локальной воспалительной реакции методом ОТ-ПЦР использовали тест «ИммуноКвантэкс» (ООО «НПО ДНК-Технология»). РНК выделяли при помощи набора реагентов Проба-МЧ-НК-200S (ООО «НПО ДНК-Технология»). При постановке теста «ИммуноКвантэкс» после выделения суммарного пула ДНК/РНК проводили реакцию обратной транскрипции для получения матрицы мРНК, комплементарной ДНК, которую в дальнейшем амплифицировали методом ПЦР. После этапа амплификации по показателю индикаторного цикла рассчитывали уровень экспрессии мРНК генов врожденного иммунитета: интерлейкинов IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-18, фактора некроза опухоли –  $\alpha$ , толл-подобных рецепторов TLR4, транскрипционного фактора GATA3, гена, кодирующего трансмембранный белок CD68. В качестве референтного гена использовали ген  $\beta_2$ -микроглобулина. На основе интегральной оценки уровней экспрессии генов получали автоматическое заключение о наличии или отсутствии локальной воспалительной реакции по величине индекса воспаления (ИВ). Значение ИВ менее 50 % оценивали как отсутствие воспалительной реакции, ИВ более 60 % — как наличие воспаления, а диапазон значения 50–60 % — как «нельзя исключить воспаление» (серая зона).



**Рис. 1.** Структура вагинальных инфекций в обследованной популяции: BV — бактериальный вагиноз; KBB — кандидозный вульвовагинит; AB — аэробный вагинит

**Fig. 1.** Vaginal infection structure in the study patient population: BV — bacterial vaginosis; CVV — candidal vulvovaginitis; AV — aerobic vaginitis

## Результаты

В исследование было включено 87 женщин в возрасте от 19 до 46 лет (средний возраст — 32 года). Жалобы на выделения из половых путей предъявляли 98,3 % женщин, зуд/жжение — 38,3 %, неприятный запах выделений — 23,3 %, дизурию — 6,7 %, диспареунию — 8,3 %. При гинекологическом осмотре у 91,7 % женщин регистрировали патологические выделения из влагалища, у 3,3 % — гиперемия вульвы и/или влагалища.

У всех пациенток были исключены возбудители ИППП. Вагинальные инфекции, вызванные условно-патогенными микроорганизмами, были выявлены у 27 женщин (31 %): KBB — у 10 (11,5 %), АВ — у 14 (16,1 %) и БВ — у 14 (16,1 %), при этом у 8 (9,2%) из них БВ сочетался с KBB, АВ или с обеими инфекциями. Структура вагинальных инфекций в обследованной популяции представлена на рис. 1.

Результаты исследования вагинальных образцов на наличие воспаления с использованием микроскопического метода и теста «ИммуноКвантэкс», стратифицированные по различным вагинальным инфекциям и их сочетаниям, представлены в табл. 1. Результаты, полученные при помощи обоих методов, полностью совпали при анализе проб от женщин с KBB и АВ — вагинальных инфекций, для которых характерно воспаление. В то же время при тестировании проб от женщин с БВ — невоспалительным синдромом, а также женщин, у которых вагинальные инфекции не выявлялись, наблюдались существенные расхождения. Так, все 6 проб от пациенток, у которых обнаружили только БВ, были отрицательны на наличие воспаления микроскопическим методом и положительны — методом ОТ-ПЦР. Далее, 6 из 22 проб (27,3 %) от пациенток без вагинальных инфекций, положительных при микроскопическом исследовании, были отрицательны при тестировании методом ОТ-ПЦР, а 16 из 38 проб (42 %), отрицательных при микроскопическом исследовании, были положительны при тестировании методом ОТ-ПЦР. Анализ суммарных результатов тестирования вагинальных проб с применением двух методов продемонстрировал, что из 42 проб, положительных на наличие воспаления при исследовании микроскопическим методом, 36 были положительны при использовании метода ОТ-ПЦР (чувствительность — 85,7 %), а из 45 проб, отрицательных при исследовании микроскопическим методом, 22 были отрицательны при использовании метода ОТ-ПЦР (специфичность — 48,9 %).



Таблица 1 / Table 1

Результаты исследования вагинальных образцов на наличие воспаления с использованием микроскопического метода и метода обратнo-транскриптазной полимеразной цепной реакции (тест «ИммуноКвантэкс®»)  
Results of testing vaginal samples for the presence of inflammation using microscopy and reverse transcriptase polymerase chain reaction (the ImmunoQuantex® test)

Вагинальная инфекция	ПМЯЛ/ЭК > 1 (есть воспаление)		ПМЯЛ/ЭК ≤ 1 (нет воспаления)	
	ИВ ≥ 60 (есть воспаление)	ИВ < 50 (нет воспаления)	ИВ ≥ 60 (есть воспаление)	ИВ < 50 (нет воспаления)
БВ	0	0	6	0
КВВ	5	0	0	1
АВ	7	0	0	0
БВ и КВВ	1	0	0	0
БВ и АВ	4	0	0	0
БВ, КВВ и АВ	3	0	0	0
Не выявлены	16	6	16	22
Всего	36	6	22	23

Примечание. ПМЯЛ/ЭК — отношение числа полиморфноядерных лейкоцитов к числу эпителиальных клеток, определенное с помощью микроскопического метода; ИВ — индекс воспаления, вычисленный с применением ОТ-ПЦР (тест «ИммуноКвантэкс»); БВ — бактериальный вагиноз; АВ — аэробный вагинит; КВВ — кандидозный вульвовагинит.

## Обсуждение результатов

С целью оценки состояния местного иммунитета был исследован уровень содержания цитокинов и количество лейкоцитов в отделяемом влагалища у женщин с жалобами на выделения из половых путей. В ходе исследования проводили сравнение нового отечественного теста «ИммуноКвантэкс», основанного на методе ОТ-ПЦР, с микроскопией окрашенных мазков. Оба лабораторных метода позволяют определить наличие локального воспаления нижних отделов женского репродуктивного тракта.

При анализе проб от женщин с вагинальными инфекциями (КВВ и АВ) наблюдалось полное совпадение результатов обоих методов, которые указывали на наличие воспаления во влагалище: повышенное количество лейкоцитов при микроскопии и выявление профиля экспрессии генов, соответствующего картине локального воспаления при постановке теста «ИммуноКвантэкс». Воспалительная реакция при АВ связана с увеличением в составе микрофлоры аэробных микроорганизмов, таких как *Enterobacteriaceae spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Enterococcus spp.* Полагают, что аэробные микроорганизмы способны вызвать воспалительную реакцию при сравнительно умеренном их количестве 10<sup>5</sup> КОЕ/мл [9]. Грибы рода *Candida* также являются аэробами и могут вызывать как самостоятельную инфекцию КВВ,

так и сочетаться с БВ и АВ. При кандидозе характер иммунного ответа может варьировать от толерантности цитокинов к антигенам кандид до резко выраженной воспалительной реакции [10].

В нашем исследовании были получены абсолютно противоположные результаты при тестировании биоматериала от женщин, у которых обнаружили только БВ: все пробы были отрицательны на наличие воспаления микроскопическим методом и положительны — методом ОТ-ПЦР. Данные микроскопического исследования подтверждают мнение большинства исследователей о том, что БВ — это невоспалительный синдром. БВ характеризуется резким снижением или полным отсутствием лактобацилл и их заменой на полимикробные ассоциации анаэробов, таких как *Gargenerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Mobiluncus spp.*, *Bacteroides spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Prevotella spp.*, *Prophyromonas spp.*, *Peptostreptococcus spp.* и др. [2, 11]. Основное клиническое проявление БВ представлено специфическими, гомогенными с неприятным запахом выделениями из влагалища. При осмотре пациенток с БВ не отмечается воспаления слизистой вульвы и влагалища. В половине случаев заболевание протекает бессимптомно. Хотя сам по себе БВ не является непосредственной причиной воспалительных заболеваний органов малого таза, но даже при бессимптомном носительстве

наличие БВ ассоциировано с высоким риском цервицита и воспалительных заболеваний органов малого таза [12, 13]. БВ повышает риск заражения ИППП [14–18], вирусом иммунодефицита человека ВИЧ-1 [19], вирусом простого герпеса II типа [20], вирусом папилломы человека [21], может стать причиной преждевременных родов [22, 23]. Полагают, что анаэробные бактерии, ассоциированные с БВ, выделяют вещества, ингибирующие миграцию нейтрофилов во влагалище [24]. Так, *G. vaginalis* может продуцировать гемолизин, способный разрушать лейкоциты, а сиапидазы, продуцируемые *G. vaginalis* и некоторыми другими анаэробами, ингибируют фагоцитоз. Это объясняет отсутствие повышенного количества лейкоцитов в вагинальном биотопе при выявлении воспалительного профиля генов цитокинов.

Далее, при оценке проб от женщин без вагинальных инфекций мы также получили существенные расхождения результатов на наличие воспалительной реакции: 27,3 % проб, положительных при микроскопическом исследовании, были отрицательны при тестировании методом ОТ-ПЦР, и 42 % проб, отрицательных при микроскопии, были положительны при определении транскрипционного профиля генов иммунного ответа. Большинство (98 %) обратившихся женщин предъявляли жалобы на выделения, и почти у всех из них (91,8 %) эти жалобы были подтверждены при осмотре. Это может объясняться тем, что изменения в транскрипции генов цитокинов опережают появление нейтрофилов и служат отличительным признаком ранней стадии воспаления [4], в связи с чем можно говорить о более высокой информативности молекулярно-биологического метода. Также нужно учитывать, что у части пациенток из группы женщин без БВ, АВ или КВВ тестом «Фемофлор СКРИН» были выявлены *Mycoplasma spp.* или *Ureaplasma spp.* в небольшом количестве ( $10^{2,0}$ – $10^{4,0}$ ) (данные по микоплазмам и уреоплазмам не представлены в результатах, так как оценка воспаления при колонизации этими бактериями не входила в задачи исследования). По мнению некоторых авторов, микоплазмы и уреоплазмы считаются комменсальными бактериями и маловирулентны [25], но все-таки способны инициировать неблагоприятные воспалительные реакции в зависимости от микробной нагрузки, продолжительности воздействия, полимикробной ассоциации и общего состояния иммунной

системы женщины [26]. Положительный результат при микроскопии, не подтвержденный ОТ-ПЦР, может свидетельствовать о том, что воспалительная лейкоцитарная реакция во влагалище, вероятно, соответствует профилю экспрессии генов цитокинов, не вошедших в состав данной диагностической тест-системы (например, IL-6 или IL-8) [27].

Таким образом, при клинически выраженных формах воспаления влагалища результаты ОТ-ПЦР и микроскопического исследования были идентичны, а при наличии незначительной и умеренной воспалительной реакции, в отсутствие АВ и КВВ, методом ОТ-ПЦР было получено большее количество положительных результатов, чем при оценке лейкоцитарной реакции. Чувствительность и специфичность нового теста «ИммуноКвантэкс» относительно широко распространенного микроскопического метода при оценке локальной воспалительной реакции во влагалище составили 85,7 и 48,9 % соответственно.

Несмотря на то что микроскопия зачастую является практически единственным методом лабораторной диагностики, позволяющим оценить выраженность воспалительной реакции во влагалище, необходимо учитывать ряд факторов, влияющих на количество лейкоцитов, видимых в окрашенном препарате: это техника взятия биоматериала, нанесение его на стекло и проведение процедуры окрашивания препарата. Также стоит помнить об отсутствии четких критериев норм содержания лейкоцитов в вагинальном отделяемом и изменении их количества в зависимости от дня менструального цикла женщины.

Таким образом, оценка роли локального иммунного статуса в патогенезе воспалительных заболеваний нижних отделов генитального тракта женщин представляет собой важный диагностический критерий, позволяющий отличить бессимптомное носительство условно-патогенной микрофлоры от проявлений вагинита, что способствует оптимизации выбора эффективной терапии и профилактике рецидивов. С помощью теста на основе ОТ-ПЦР можно определить профиль экспрессии генов иммунного ответа в отделяемом влагалища и дать объективную оценку локального воспалительного статуса. Он может быть предложен в случаях рецидивирования БВ и других инфекций или при расхождении данных лабораторных исследований и клинических проявлений у пациенток.

## Литература

1. Бантьева М.Н., Прилипко Н.С. Возрастные аспекты заболеваемости взрослого населения по обращаемости в амбулаторно-поликлинические учреждения // Социальные аспекты здоровья населения. — 2013. — Т. 32. — № 4. — С. 7–21. [Bantyeva MN, Prilipko NS. Age aspects of the disease incidence rate of adult population. *Sotsial'nye aspekty zdorov'ya naseleniya*. 2013;32(4):7-21. (In Russ.)]
2. Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз. — М.: МИА, 2012. [Kira EF. *Bakterial'nyy vaginoz*. Moscow: MIA; 2012. (In Russ.)]
3. Савичева А.М., Соколовский Е.В., Домейка М. Порядок проведения микроскопического исследования мазков из урогенитального тракта: методические рекомендации для лечащих врачей. — СПб.: Изд-во Н-Л, 2007. [Savicheva AM, Sokolovskiy EV, Domeyka M. *Poryadok provedeniya mikroskopicheskogo issledovaniya mazkov iz urogenital'nogo trakta: metodicheskie rekomendatsii dlya lechashchikh vrachey*. Saint Petersburg: Izdatel'stvo N-L; 2007. (In Russ.)]
4. Bourmenskaya O, Bayramova G, Nepsha O, et al. Vaginal smear TNF-alpha, IL18, TLR4, and GATA3 mRNA levels correlate with local inflammation. *International Journal of Biomedicine*. 2014;4(4):204-208.
5. Донецкова А.Д., Шарова Н.И., Бурменская О.В., и др. Выработка цитокинов эпителиальными клетками тимуса человека // Российский аллергологический журнал. — 2007. — № 3–1. — С. 70. [Donetskova AD, Sharova NI, Burmenskaya OV, et al. *Vyrabotka tsitokinov epiteliial'nyimi kletkami timusa cheloveka*. *Rossiiskii allergologicheskii zhurnal*. 2007;(3-1):70. (In Russ.)]
6. Ярилин А.А. Иммунология: учебник. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. [Yarilin AA. *Immunologiya: uchebnik*. Moscow: GEOTAR-Media; 2010. (In Russ.)]
7. 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.
8. Donders GG. Definition and classification of abnormal vaginal flora. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2007;21(3):355-373. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2007.01.002.
9. Lamont RF, Taylor-Robinson D. The role of bacterial vaginosis, aerobic vaginitis, abnormal vaginal flora and the risk of preterm birth. *BJOG*. 2010;117(1):119-120. doi: 10.1111/j.1471-0528.2009.02403.x.
10. Бурменская О.В., Байрамова Г.Р., Непша О.С., и др. Состояние локального иммунитета при хроническом рецидивирующем вульвовагинальном кандидозе // Иммунология. — 2011. — Т. 32. — № 3. — С. 154–159. [Burmenskaya OV, Bairamova GR, Nepsha OS, et al. The state of local immunity in patients presenting with chronic recurring vulvovaginal candidosis. *Immunologiya*. 2011;32(3):154-159. (In Russ.)]
11. Савичева А.М., Тапильская Н.И., Шипицына Е.В., Воробьева Н.Е. Бактериальный вагиноз и аэробный вагинит как основные нарушения баланса вагинальной микрофлоры. Особенности диагностики и терапии // Акушерство и гинекология. — 2017. — № 5. — С. 24–31. [Savicheva AM, Tapil'skaya NI, Shipitsyna EV, Vorobyeva NE. Bacterial vaginosis and aerobic vaginitis as major vaginal microflora balance disorders: Diagnostic and therapeutic characteristics. *Obstetrics and Gynecology*. 2017;(5): 24-31. (In Russ.)]. doi: 10.18565/aig.2017.5.24-31.
12. Marrazzo JM, Wiesenfeld HC, Murray PJ, et al. Risk factors for cervicitis among women with bacterial vaginosis. *J Infect Dis*. 2006;193(5):617-624. doi: 10.1086/500149.
13. Taylor BD, Darville T, Haggerty CL. Does bacterial vaginosis cause pelvic inflammatory disease? *Sex Transm Dis*. 2013;40(2):117-122. doi: 10.1097/OLQ.0b013e31827c5a5b.
14. Bautista CT, Wurapa E, Saterren WB, et al. Bacterial vaginosis: a synthesis of the literature on etiology, prevalence, risk factors, and relationship with chlamydia and gonorrhea infections. *Mil Med Res*. 2016;3:4. doi: 10.1186/s40779-016-0074-5.
15. Bitew A, Abebaw Y, Bekele D, Mihret A. Prevalence of Bacterial Vaginosis and Associated Risk Factors among Women Complaining of Genital Tract Infection. *Int J Microbiol*. 2017;2017:4919404. doi: 10.1155/2017/4919404.
16. Mastromarino P, Di Pietro M, Schiavoni G, et al. Effects of vaginal lactobacilli in *Chlamydia trachomatis* infection. *Int J Med Microbiol*. 2014;304(5-6):654-661. doi: 10.1016/j.ijmm.2014.04.006.
17. Breshears LM, Edwards VL, Ravel J, Peterson ML. *Lactobacillus crispatus* inhibits growth of *Gardnerella vaginalis* and *Neisseria gonorrhoeae* on a porcine vaginal mucosa model. *BMC Microbiol*. 2015;15:276. doi: 10.1186/s12866-015-0608-0.
18. Brotman RM, Bradford LL, Conrad M, et al. Association between *Trichomonas vaginalis* and vaginal bacterial community composition among reproductive-age women. *Sex Transm Dis*. 2012;39(10):807-812. doi: 10.1097/OLQ.0b013e3182631c79.
19. Shukair SA, Allen SA, Cianci GC, et al. Human cervicovaginal mucus contains an activity that hinders HIV-1 movement. *Mucosal Immunol*. 2013;6(2):427-434. doi: 10.1038/mi.2012.87.
20. Chernes TL, Meyn LA, Krohn MA, et al. Association between acquisition of herpes simplex virus type 2 in women and bacterial vaginosis. *Clin Infect Dis*. 2003;37(3):319-325. doi: 10.1086/375819.
21. Kero K, Rautava J, Syrjanen K, et al. Association of asymptomatic bacterial vaginosis with persistence of female genital human papillomavirus infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2017;36(11):2215-2219. doi: 10.1007/s10096-017-3048-y.
22. Bretelle F, Rozenberg P, Pascal A, et al. High *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* Vaginal Loads are Associated with Preterm Birth. *Clin Infect Dis*. 2015;60(6):860-867. doi: 10.1093/cid/ciu966.

23. Тютюнник В.Л., Курчакова Т.А., Кан Н.Е., и др. Локальные факторы врожденного иммунитета в прогнозировании преждевременных родов // Акушерство и гинекология. — 2016. — № 10. — С. 59–63. [Tyutyunnik VL, Kurchakova TA, Kan NE, et al. Local factors of innate immunity in the prediction of preterm birth. *Obstetrics and Gynecology*. 2016;(10):59-63. (In Russ.)]. doi: 10.18565/aig.2016.10.59-63.
24. Mirmonsef P, Gilbert D, Zariffard MR, et al. The effects of commensal bacteria on innate immune responses in the female genital tract. *Am J Reprod Immunol*. 2011;65(3):190-195. doi: 10.1111/j.1600-0897.2010.00943.x.
25. Marovt M, Kese D, Kotar T, et al. *Ureaplasma parvum* and *Ureaplasma urealyticum* detected with the same frequency among women with and without symptoms of urogenital tract infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2015;34(6):1237-1245. doi: 10.1007/s10096-015-2351-8.
26. Glaser K, Silwedel C, Fehrholz M, et al. *Ureaplasma* isolates stimulate pro-inflammatory CC chemokines and matrix metalloproteinase-9 in neonatal and adult monocytes. *PLoS One*. 2018;13(3):e0194514. doi: 10.1371/journal.pone.0194514.
27. Тютюнник В.Л., Карапетян А.Е., Донников А.Е., и др. Изменения локального и системного иммунитета при оппортунистических инфекциях влагалища у беременных // Акушерство и гинекология. — 2013. — № 8. — С. 25–29. [Tyutyunnik VL, Karapetyan TE, Donnikov AE, et al. Local and systemic immune changes in opportunistic vaginal infections in pregnant women. *Obstetrics and Gynecology*. 2013;(8):25-29. (In Russ.)]

#### ■ Информация об авторах (Information about the authors)

Ольга Викторовна Будилковская — научный сотрудник лаборатории микробиологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** o.budilovskaya@gmail.com.

Елена Васильевна Шипицына — д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** shipitsyna@inbox.ru.

Надежда Александровна Переверзева — врач-акушер-гинеколог. ООО «Микробиомед», Санкт-Петербург. **E-mail:** studentugpi@mail.ru.

Надежда Евгеньевна Воробьева — канд. мед. наук, научный сотрудник отдела эндокринологии репродукции. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** sergiognezdo@yandex.ru.

Елена Владимировна Спасибова — врач-бактериолог лаборатории микробиологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** elena.rybina@gmail.com.

Алексей Николаевич Григорьев — научный сотрудник лаборатории микробиологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** galexey08081978@gmail.com.

Алевтина Михайловна Савичева — д-р мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующая лабораторией микробиологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** savitcheva@mail.ru.

Olga V. Budilovskaya — Researcher. The Laboratory of Microbiology, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** o.budilovskaya@gmail.com.

Elena V. Shipitsyna — PhD, DSci (Biology), Leading Researcher. The Laboratory of Microbiology, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** shipitsyna@inbox.ru.

Nadezhda A. Pereverzeva — MD, Microbiomed Ltd., Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** studentugpi@mail.ru.

Nadezda E. Vorobyova — MD, PhD, Researcher. The Department of Endocrinology of Reproduction, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** sergiognezdo@yandex.ru.

Elena V. Spasibova — MD. The Laboratory of Microbiology, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** elena.rybina@gmail.com.

Aleksey N. Grigoryev — Researcher. The Laboratory of Microbiology, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** galexey08081978@gmail.com.

Alevtina M. Savicheva — MD, PhD, DSci (Medicine), Professor, Honoured Scholar of the Russian Federation, the Head of the Laboratory of Microbiology. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** savitcheva@mail.ru.