

© К. В. Шалепо¹, В. В. Назарова¹,
Ю. Н. Менухова¹, Т. А. Румянцева²,
А. Е. Гушин², А. М. Савичева¹

ОЦЕНКА СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ БАКТЕРИАЛЬНОГО ВАГИНОЗА

¹ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта»

СЗО РАМН, Санкт-Петербург;

²ФБУН ЦНИИ эпидемиологии

Роспотребнадзора, Москва

УДК: 618.15-022.7-07

■ **Введение.** Для характеристики вагинальной микрофлоры необходимо оценивать количество микроорганизмов. **Цель.** Целью исследования было оценить микрофлору влагалища при бактериальном вагинозе (БВ), используя количественный тест ПЦР в реальном времени и определить чувствительность и специфичность методов диагностики BV — критериев Amsel и ПЦР в реальном времени, используя метод Nugent. **Материалы и методы.** В исследование были включены 222 женщины репродуктивного возраста, которые обратились к гинекологу с жалобами на выделения из влагалища. Диагноз БВ был установлен с использованием критериев Amsel и шкалы Nugent. Отделяемое влагалища было исследовано с использованием теста ПЦР в реальном времени («Амплисенс Флороценоз Бактериальный Вагиноз», Россия), в котором дается оценка общей бактериальной массы, лактобацилл, *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae*. **Результаты.** Диагноз БВ согласно критериям Nugent был установлен у 66 женщин, на основании критериев Amsel — у 64 женщин. Специфичность метода Amsel составила 100 %, чувствительность — 97 %. Оценивались также диагностические параметры каждого критерия Amsel. При использовании ПЦР в реальном времени диагноз БВ был подтвержден у 65 из 66 пациенток с диагнозом БВ, установленным по шкале Nugent, и у 5 из 156 пациенток без БВ. Чувствительность теста ПЦР составила 98,5 %, специфичность 97 %. **Заключение.** Применение теста ПЦР в реальном времени с количественной оценкой лактобацилл, *G. vaginalis*, *A. vaginae*, а также определением соотношения концентраций этих микроорганизмов обеспечивает высокую чувствительность и специфичность при диагностике БВ.

■ **Ключевые слова:** бактериальный вагиноз; микробиоценоз; анаэробная микрофлора; диагностика.

Введение

Бактериальный вагиноз (БВ) является самым распространенным заболеванием среди женщин репродуктивного возраста. По данным разных авторов, он встречается у 8–30 % женщин в промышленно развитых странах [5, 12]. Интерес к БВ существенно возрос в последние два десятилетия, когда в целом ряде исследований было показано, что БВ ассоциирован с нарушениями репродуктивного здоровья женщины, с такими неблагоприятными исходами беременности, как амнионит, хориоамнионит, преждевременные роды [7, 9, 13, 18].

При БВ нормальная микрофлора влагалища, представленная преимущественно лактобациллами, замещается высокими концентрациями анаэробных и факультативно-аэробных микроорганизмов, что сопровождается появлением ряда клинических признаков и симптомов заболевания. Впервые БВ как клинический синдром был описан Amsel [2], а его критерии были положены в основу существующей по настоящее время клинической диагностики бактериального вагиноза. Несколько позднее были предложены лабораторные методы диагностики БВ: метод Spiegel [21], метод Hallen [8], метод Nugent [17], метод Ison-Hay [10], которые более объективно устанавливают возникающее нарушение баланса микрофлоры с помощью микроскопической

оценки отделяемого влагалища с описанием присутствующих морфотипов бактерий и их соотношения.

В настоящее время в международной клинической практике методы Amsel и Nugent рассматриваются как «золотой стандарт» диагностики бактериального вагиноза, в то время как в нашей стране перечисленные методы практически не используются или используются в сокращенном виде, например, метод Amsel. Так, из 4 критериев диагностики по методу Amsel в рутинной практике используются, в лучшем случае, 2: наличие у пациентки выделений из влагалища со специфическим аминным запахом и наличие «ключевых» клеток в отделяемом влагалища при проведении микроскопического исследования. В то же время для диагностики БВ появляются тесты на основе ПЦР в реальном времени, позволяющие выявлять маркерные для БВ микроорганизмы с их количественной оценкой. В частности, был разработан тест «Амплисенс Флороценоз-Бактериальный вагиноз» на основе количественной ПЦР в реальном времени, позволяющий определять соотношение ДНК лактобацилл, составляющих основу нормальной микрофлоры, и ДНК двух ключевых для БВ микроорганизмов — *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae*.

В связи с этим крайне необходима клинико-лабораторная оценка как существующих, так и вновь разрабатываемых методов диагностики БВ.

Целью нашего исследования явилась клинико-лабораторная оценка методов лабораторной диагностики бактериального вагиноза с определением параметров чувствительности и специфичности.

Материалы и методы

В исследовании были использованы образцы клинического материала (отделяемое влагалища, полученное стерильным ватным зондом) 222 женщин репродуктивного возраста, обратившихся к гинекологу с жалобами на дискомфорт и выделения из половых путей. В работе были использованы следующие методы диагностики БВ: критерии Amsel, метод микроскопического исследования отделяемого влагалища с окраской по Граму и подсчетом баллов по методике Nugent и метод ПЦР в режиме реального времени, на основе которого был разработан тест «Амплисенс Флороценоз-Бактериальный вагиноз» (Флороценоз-БВ) (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва).

При диагностике по методу Amsel оценивалось наличие специфических выделений из влагалища, результаты аминного теста (появление аминного запаха при добавлении к вагинальному отделяемому 10% КОН), значения pH отделяемого (более 4,5), наличие «ключевых» клеток при микроскопическом исследовании. В соответствии с общепринятой классификацией, диагноз БВ устанавливался при наличии 3 из 4 критериев; также оценивали каждый критерий в отдельности.

При исследовании биологического материала с помощью микроскопического исследования препарата, окрашенного по Граму, проводился подсчет баллов от 0 до 10 согласно методике Nugent [17]. Количество баллов подсчитывали на основе присутствия и количества в поле зрения светового микроскопа каждого из трех основных морфотипов бактерий (табл. 1):

- крупные грамположительные палочки (морфотип *Lactobacilli*);
- небольшие грамотрицательные или грампериабельные палочки (морфотип *Gardnerella* и *Bacteroides*);
- изогнутые грамотрицательные или грампериабельные палочки (морфотип *Mobiluncus*).

Интерпретация результатов проводилась на основании средних значений количества бактерий в поле зрения светового микроскопа при анализе не менее пяти полей зрения.

Интерпретация проводилась в соответствии с оригинальной методикой при суммировании баллов всех трех морфотипов: 0–3 балла — соответствовало физиологическому микробиоценозу влагалища, 4–6 баллов — соответствовало промежуточному типу микробиоценоза, 7–10 баллов соответствовало БВ [17].

Для исследования методом ПЦР образцы отделяемого влагалища, полученные ватным тампоном, помещали в среду ТСМ (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора) (0,5 мл). Очистку и экстракцию ДНК проводили с использованием набора реагентов «ДНК-сорб-АМ» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора). Образцы очищенной ДНК исследовались с использованием набора реагентов «Флороценоз-БВ» согласно инструкции производителя. Тест «Флороценоз-БВ» направлен на выявление ДНК *Lactobacillus spp* — всех основных видов лактобацилл, ДНК *G. vaginalis*, ДНК *A. vaginae* с количественной оценкой и общее количество ДНК различных бактерий, колонизирующих слизистую влагалища. Реакция проводится в одной пробирке в мультиплексном формате. После проведения ПЦР с помощью программного обеспечения оценивали соотношения ДНК выявленных микроорганизмов и получали заключения для каждой пациентки согласно методическим рекомендациям производителя о соответствии или несоответствии полученных значений бактериальному вагинозу.

В качестве референсных — истинно положительных и истинно отрицательных — считали результаты, полученные методом Nugent. Параметры чувствительности, специфичности и 95% доверительный интервал оценивали с помощью статистического пакета XL STAT Version 2013.2.04.

Результаты исследования

На основании микроскопического исследования отделяемого влагалища по Nugent пациентки были разделены на 2 группы: 66 пациенток с БВ и 156 пациенток без БВ.

Таблица 1

Количество баллов по Nugent при микроскопическом исследовании клинических материалов из влагалища

| Баллы | Морфотип <i>Lactobacilli</i> Количество бактерий в п/зр | Морфотип <i>Gardnerella, Bacteroides</i> , Количество бактерий в п/зр | Морфотип <i>Mobiluncus</i> , Количество бактерий в п/зр |
|-------|--|--|--|
| 0 | более 30 | нет | нет морфотипов |
| 1 | 5–30 | 1 и менее | 1–4 |
| 2 | 1–4 | 1–4 | 5–30 и более |
| 3 | 1 и меньше | 5–30 | – |
| 4 | нет | более 30 | – |

По критериям Amsel диагноз бактериального вагиноза был установлен 64 пациенткам из 66, для всех 156 пациенток с отрицательным результатом по данным Nugent результат в соответствии с критериями Amsel также не соответствовал БВ. Дискордантный результат получен лишь в 2 случаях (по Nugent установлен бактериальный вагиноз, по Amsel бактериальный вагиноз отсутствовал). При сравнении критериев Nugent и Amsel установлено, что специфичность метода Amsel (наличие 3 критериев из 4) составляет 100%, а чувствительность — 97%.

Была проведена оценка диагностических характеристик каждого критерия Amsel по отношению к методу Nugent. Один из параметров — это наличие жидких пенистых выделений из половых путей. У всех пациенток, включенных в данное исследование, присутствовали жалобы на наличие выделений из влагалища. У 66 пациенток с БВ имели место обильные выделения из влагалища со специфическим аминным запахом. Из 156 пациенток без БВ у 22 также были выделения, характерные для БВ. Таким образом, чувствительность оцениваемого параметра составила 100%, специфичность — 86%.

Аминовый тест — это тест на наличие или отсутствие неприятного «рыбного» запаха при добавлении 10% раствора КОН к вагинальным выделениям пациентки. При наличии запаха тест считается положительным. Оценка аминового теста по отношению к критериям Nugent показала, что у 65 из 66 пациенток с БВ аминовый тест был положительный, у всех 156 пациенток без БВ — отрицательный. Чувствительность аминового теста составила 98,5%, специфичность 100%.

Один из характерных признаков БВ — это изменение pH среды влагалища и смещение его в сторону больших значений (pH > 4,5). Проведенные нами исследования показали, что чувствительность этого признака для диагностики БВ составила 97% (64 из 66), а специфичность только 76%.

Наиболее специфичным для БВ является наличие в биологическом материале «ключевых» клеток — клеток вагинального эпителия с адгезированным на их поверхности большим количеством бактерий, преимущественно *G. vaginalis* и *A. vaginae*. Результаты нашего микроскопического исследования показали, что у женщин с нормальным состоянием микрофлоры влагалища «ключевые» клетки не были обнаружены ни в одном случае. При БВ «ключевые» клетки были обнаружены у 51 пациентки. Таким образом, чувствительность этого критерия составила 77%, специфичность — 100%.

При исследовании биологического материала с помощью теста «Флороценоз-БВ» преобладание концентрации ДНК *G. vaginalis* и/или *A. vaginae* над концентрацией ДНК лактобацилл было выявлено у 62 пациенток. У 3 пациенток результаты интерпретировались как «дисбиоз неуточненной этиологии» — состояние, когда общая концентрация ДНК бактерий превышает как концентрацию ДНК *Lactobacillus* spp., так и концентрацию ДНК *G. vaginalis* и/или *A. vaginae*. Для того чтобы установить видовую принадлежность преобладающих бактерий, было проведено определение нуклеотидной последовательности 16S рибосомальной ДНК этих образцов и последующий филогенетический анализ. Результаты показали, что преобладающая бактериальная масса принадлежит *G. vaginalis*, однако в области праймеров к *G. vaginalis*, используемых в наборе «Флороценоз-БВ», присутствовали нуклеотидные замены, в результате чего снижалась эффективность амплификации, а это, в свою очередь, искажало реальную концентрацию ДНК *G. vaginalis*. Внесенные изменения в структуру праймеров позволили добиться восстановления эффективности амплификации. Таким образом, соотношения концентраций ДНК *G. vaginalis*, *A. vaginae* и лактобацилл соответствовали бактериальному вагинозу у 65 из 66 пациенток. Только у одной пациентки из 66 с диагнозом БВ результаты ПЦР свидетельствовали о преобладании ДНК лактобацилл. У 5 из 156 женщин без БВ тест «Флороценоз-БВ» выявил преобладающую над лактобациллами концентрацию ДНК *G. vaginalis*. В итоге чувствительность теста «Флороценоз-БВ» по отношению к методу Nugent составила 98,5%, специфичность — 97%.

При использовании ПЦР в качественном формате ДНК *G. vaginalis* была обнаружена в 79 пробах из 156, полученных от женщин без бактериального вагиноза. С учетом этого, специфичность качественного выявления *G. vaginalis* для диагностики БВ составила всего 52%. При исследовании клинического материала на наличие ДНК *A. vaginae* было установлено, что частота выявления этих микроорганизмов при БВ составила 80,3%, в отсутствие БВ — 8,3%. Таким образом, чувствительность и специфичность данного маркера составили 80% и 92%, соответственно. Результаты оценки диагностических характеристик представлены в таблице 2.

Обсуждение результатов

Самой распространенной жалобой при обращении женщин к врачу акушеру-гинекологу являются жалобы на выделения из половых путей. Причинами патологических выделений могут

Таблица 2

Чувствительность и специфичность различных подходов к диагностике БВ по отношению к критериям Nugent

| Показатели | Чувствительность, % (95 % доверительный интервал) | Специфичность, % (95 % доверительный интервал) |
|---|--|---|
| Специфические выделения | 100 (93–100) | 86 (80–91) |
| Аминовый тест | 98,5 (90–100) | 100 (97–100) |
| pH выделений | 97 (89–100) | 76 (69–82) |
| Наличие «ключевых» клеток | 77 (66–86) | 100 (97–100) |
| Критерии Amsel (наличие 3 из 4 признаков) | 97 (89–100) | 100 (97–100) |
| Качественная ПЦР | | |
| Наличие ДНК <i>G. vaginalis</i> | 98,5 (90–100) | 52 (45–60) |
| Наличие ДНК <i>A. vaginae</i> | 80 (69–88) | 92 (86–95) |
| Тест Флороценоз-БВ (соотношение концентрации ДНК <i>Lactobacillus</i> spp. и <i>G. vaginalis</i> + <i>A. vaginae</i>) | 98,5 (90–100) | 97 (93–99) |

быть бактериальный вагиноз, вагинит (кандидозный, трихомонадный, аэробный), реже — цервицит. В нашем исследовании среди женщин, обратившихся в женскую консультацию с жалобами на выделения из влагалища, в 28,8 % случаев был установлен диагноз бактериального вагиноза.

Для установления диагноза бактериального вагиноза нами были использованы критерии Amsel, Nugent и тест на основе ПЦР в реальном времени «Флороценоз-БВ». В качестве «золотого стандарта» использовали микроскопический метод с оценкой соотношения морфотипов по Nugent, относительно которого и оценивали диагностические характеристики остальных подходов. Наши результаты показали, что при использовании критериев Amsel в предложенной автором интерпретации (3 положительных критерия из предложенных 4) чувствительность и специфичность этого теста достаточно высоки (97 % и 100 %, соответственно). По данным литературы, чувствительность метода Amsel составляет 70–83 %, а специфичность 90–94 %, что несколько ниже, чем в нашем исследовании [16]. Это может объясняться тем, что основным критерием включения было наличие вагинальных выделений, и мы имели дело с клинически выраженными случаями БВ. При использовании отдельных критериев страдает либо чувствительность, либо специфичность. Лишь использование аминового теста в данной работе показало чувствительность 97 % при 100 % специфичности, хотя зарубежные исследования отмечают чувствительность этого критерия, равную 44–79 %, а специфичность — 94–97 % [1, 20].

Очевидно, что аминовый тест — довольно субъективный критерий, зависящий от особенностей обоняния каждого врача и плохо поддающийся стандартизации. Поскольку в нашем исследовании аминовый тест проводился одним

и тем же врачом, мы не можем оценить, до какой степени чувствительность и специфичность этого критерия может варьировать.

Определение pH вагинального секрета является очень простой процедурой, обладающей высокой чувствительностью, однако специфичность этого теста не достаточно высока и зависит от целого ряда факторов: фазы менструального цикла, наличия кокко-бациллярной микрофлоры, трихомонадной инфекции, присутствия эякулята и др. Несмотря на то что клинический метод диагностики БВ, предложенный Amsel, является простым и достаточно чувствительным, в нашей стране он не применяется в полной мере. Но и в зарубежной клинической практике им пользуются только 16 % опрошенных клиницистов [15]. Даже процедуру определения pH проводят не более 30 % врачей [3]. К этому следует добавить, что критерии Amsel обладают крайне низкой чувствительностью среди пациентов с бессимптомными формами нарушения баланса микрофлоры влагалища [19].

В качестве референсного метода мы выбрали метод Nugent, который рассматривается как «золотой стандарт» диагностики БВ. Однако в нашей стране, так же как и метод Amsel, он используется крайне редко и в небольшом числе лабораторий. Несмотря на рекомендации, и в зарубежных странах только 20 % гинекологов используют этот тест для диагностики БВ [15].

В настоящее время на основе результатов молекулярно-генетических исследований показано, что спектр микроорганизмов, ассоциированных с бактериальным вагинозом, насчитывает несколько сотен флотипов, подавляющее большинство из которых не культивируется на питательных средах [14]. Теоретически методы, основанные на амплификации нуклеиновых кислот, позволяют выявлять любые микроорга-

низмы и определять их количество, но спорными являются целесообразность и возможность интерпретации результатов исследований при определении всего многообразия микроорганизмов. Результаты исследования показали, что с БВ были строго ассоциированы: *Gardnerella*, *Atopobium*, *Megasphaera*, *Eggerthella*, *Aerococcus*, *Leptotrichia/Sneathia*, *Prevotella* и *Papillibacter* [14]. Ранее были идентифицированы высоко-специфичные для БВ микроорганизмы, получившие название BVAB-1,2,3 (Bacterial Vaginosis Associated Bacteria) [6]. На основании полученных данных были предприняты попытки связать выявление этих микроорганизмов с наличием и отсутствием заболевания. Например, чувствительность определения BVAB-1 или BVAB-3 для диагностики БВ составила 40,7%, а специфичность 97,8%. При одновременном обнаружении BVAB-1 и BVAB-3 чувствительность понижалась до 33,3%, а специфичность, наоборот, достигла 100%. Чувствительность выявления BVAB-2 составила 88,9%, а специфичность была равна 95,7%. При обнаружении BVAB-2 или *Megasphaera* spp. чувствительность составила 100%, специфичность — 91,3%. При сочетании выявления *Megasphaera* spp. и BVAB-1, BVAB-2, или BVAB-3 чувствительность тестирования была 99%, а специфичность 89% [6]. В другом, более позднем исследовании наличие двух маркерных микроорганизмов BVAB-2 или *Megasphaera* spp. имело чувствительность и специфичность 92,7% и 88,5%, соответственно [4]. Единственным микроорганизмом, который обнаруживался практически во всех случаях БВ в различных исследованиях, была *G. vaginalis*, однако специфичность качественного выявления этого микроорганизма довольно низкая — 45% [6], что подтвердилось и в нашем исследовании.

Бактериальный вагиноз характеризуется не только качественными, но и, главным образом, количественными изменениями микрофлоры влагалища. В связи с этим, чтобы повысить специфичность исследования, был предложен подход количественного определения микроорганизмов. Исследование показало, что при выявлении ДНК *G. vaginalis* и *A. vaginae* в концентрациях более 10^8 и 10^9 соответственно диагностическая чувствительность составила 95%, а специфичность — 99% [15]. Ранее было показано, что эти 2 микроорганизма в сумме составляют более 90% бактериальной массы при БВ [22].

Используемый в нашем исследовании тест «Флороценоз-БВ» позволяет не только определить концентрацию ДНК *G. vaginalis* и *A. vaginae*, но и в качестве дополнительных маркеров — концентрацию ДНК лактобацилл и общую бактери-

альную массу, что позволяет стандартизировать исследование и выявлять случаи нарушения баланса микрофлоры влагалища, не связанные с БВ. Диагностическая чувствительность данного теста составила 98,5%, а специфичность 97%, что сопоставимо с методикой Menard [15].

Использование количественной оценки лактобацилл, *G. vaginalis*, *A. vaginae*, а главное — соотношения концентраций данных микроорганизмов в тесте «Амплисенс Флороценоз-Бактериальный вагиноз» дают высокую чувствительность этого теста для диагностики БВ, а объективность и высокая диагностическая производительность при использовании молекулярных методов дают хорошую возможность для стандартизированного и рационального подхода к диагностике БВ.

Литература

1. Домейка М., Савичева А. М., Соколовский Е., Баллард Р., Унемо М. Руководство по лабораторной диагностике инфекций урогенитального тракта. СПб.: Н-Л; 2012.
2. Amsel R., Totten P. A., Spiegel C. A., Chen K. C., Eschenbach D., Holmes K. K. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am. J. Med.* 1983; 74 (1): 14–22.
3. Anderson M. R., Karasz A. How do clinicians manage vaginal complaints? An internet survey. *Med. Gen. Med.* 2005; 7 (2): 61.
4. Cartwright C. P., Lembke B. D., Ramachandran K., Body B. A., Nye M. B., Rivers C. A., Schwebke J. R. Development and validation of a semiquantitative, multitarget PCR assay for diagnosis of bacterial vaginosis. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50 (7): 2321–9.
5. Danielsson D., Teigen P. K., Moi H. The genital econiche: focus on microbiota and bacterial vaginosis. *Annals of the New York Academy of Sciences. Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2011; 1230: 48–58.
6. Fredricks D. N., Fiedler T. L., Thomas K. K., Oakley B. B., Marrazzo J. M. Targeted PCR for detection of vaginal bacteria associated with bacterial vaginosis. *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45 (10): 3270–6.
7. Haggerty C. L., Hillier S. L., Bass D. S., Ness R. B. Bacterial vaginosis and anaerobic bacteria are associated with endometritis. *Clin. Infect. Dis.* 2004; 39 (7): 990–5.
8. Hallen A., Pålsson C., Forsum U. Bacterial vaginosis in women attending STD clinic: diagnostic criteria and prevalence of *Mobiluncus* spp. *Genitourin. Med.* 1987; 63 (6): 386–9.
9. Hillier S. L., Nugent R. P., Eschenbach D. A., Krohn M. A., Gibbs R. S., Martin D. H., Cotch M. F., Edelman R., Pastorek J. G. 2nd, Rao A. Association between, bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *N. Engl. J. Med.* 1995; 333 (26): 1737–42.
10. Ison C. A., Hay P. E. Validation of a simplified grading of Gram stained vaginal smears for use in genitourinary medicine clinics. *Sex. Transm. Infect.* 2002; 78 (6): 413–5.

11. Klebanoff S.J., Hillier S.L., Eschenbach D.A., Walterdorff A.M. Control of the microbial flora of the vagina by H2O2-generating lactobacilli. *J. Infect. Dis.* 1991; 164 (1): 94–100.
12. Koumans E.H., Sternberg M., Bruce C., McQuillan G., Kendrick J., Sutton M., Markowitz L.E. The prevalence of bacterial vaginosis in the United States, 2001–2004; associations with symptoms, sexual behaviors, and reproductive health. *Sex. Transm. Dis.* 2007; 34 (11): 864–9.
13. Leitich H., Kiss H. Asymptomatic bacterial vaginosis and intermediate flora as risk factors for adverse pregnancy outcome. *Best. Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2007; 21 (3): 375–390.
14. Ling Z., Kong J., Liu F., Zhu H., Chen X., Wang Y., Li L., Nelson K.E., Xia Y., Xiang C. Molecular analysis of the diversity of vaginal microbiota associated with bacterial vaginosis. *BMC Genomics.* 2010; 11: 488.
15. Menard J.P., Fenollar F., Henry M., Bretelle F., Raoult D. Molecular quantification of *Gardnerella vaginalis* and *Atopobium vaginae* loads to predict bacterial vaginosis. *Clin. Infect. Dis.* 2008; 47: 33–43.
16. Mittal V., Jain A., Pradeep Y. Development of modified diagnostic criteria for bacterial vaginosis at peripheral health centres in developing countries. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2012; (5): 373–7.
17. Nugent R.P., Krohn M.A., Hillier S.L. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J. Clin. Microbiol.* 1991; 29 (2): 297–301.
18. Oakeshott P., Hay P., Hay S., Steinke F., Rink E., Kerry S. Association between bacterial vaginosis or chlamydial infection and miscarriage before 16 weeks' gestation: prospective community based cohort study. *BMJ* 2002; 325 (7376): 1334.
19. Sha B.E., Chen H.Y., Wang Q.J., Zariffard M.R., Cohen M.H., Spear G.T. Utility of Amsel criteria, Nugent score, and quantitative PCR for *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis* and *Lactobacillus* spp. for diagnosis of bacterial vaginosis in human immunodeficiency virus-infected women. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43 (9): 4607–4612.
20. Shipitsyna E., Roos A., Datsu R., Hallen A., Fredlund H., Jensen J.S., Engstrand L., Unemo M. Composition of the vaginal microbiota in women of reproductive age — sensitive and specific molecular diagnosis of bacterial vaginosis is possible? *PLoS One.* 2013;8 (4): e60670.
21. Spiegel C.A., Amsel R., Holmes K.K. Diagnosis of bacterial vaginosis by direct gram stain of vaginal fluid. *J. Clin. Microbiol.* 1983; 18 (1): 170–7.
22. Swidsinski A., Mendling W., Loening-Bauske V., Ladhoff A., Swidsinski S., Hale L.P., Lochs H. Adherent biofilms in bacterial vaginosis. *Obstet. Gynecol.* 2005; 106 (5): 1013–23.

Статья представлена С.А. Сельковым,
ФГБУ «НИИАГ им. Д.О. Отта» СЗО РАМН,
Санкт-Петербург

ASSESSMENT OF CURRENT METHODS OF LABORATORY DIAGNOSIS OF BACTERIAL VAGINOSIS

Shalepo K. V., Nazarova V. V., Menukhova Yu. N., Rummyantseva T. A., Gushchin A. E., Savicheva A. M.

■ **Summary:** 41 women with polycystic ovary syndrome (PCOS) and 15 healthy women of reproductive age were examined to evaluate ovarian aromatase activity. Aromatase activity was determined by the decrease of estradiol level after peroral intake of aromatase inhibitor letrozol. To examine aromatase activity of antral follicle ($\Delta E2$) was divided on the blood level of antimullerian hormone (AMH), which is corresponded to the number of antral follicles. Significant variations of aromatase activity of antral follicles in patients with PCOS were determined: in 34.1% of women it was within physiological ranges, in 48.8% of women it was decreased and in 17.1% of women it was increased. Aromatase activity of antral follicles in patients with PCOS correlated with blood levels of estradiol ($r=0.67$), estron ($r=0.27$), free testosterone ($r=0.43$), androstendion ($r=0.34$) and body mass index ($r=0.30$). Aromatase activity had reverse correlation with number of antral follicles. Authors suggest that the sensitivity of the ovaries to gonadotropic stimulation is decreased in patients with PCOS and low aromatase activity.

■ **Key words:** polycystic ovary syndrome; ovarian aromatase; steroidogenesis.

References

1. Domeika M., Savicheva A.M., Sokolovskij E., Ballard R., Unemo M. Guidelines for the laboratory diagnosis of infections of the urogenitale tract. SPb.: N-L; 2012. (in Russian).
2. Amsel R., Totten P.A., Spiegel C.A., Chen K.C., Eschenbach D., Holmes K.K. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am. J. Med.* 1983; 74 (1): 14–22.
3. Anderson M.R., Karasz A. How do clinicians manage vaginal complaints? An internet survey. *Med. Gen. Med.* 2005; 7 (2): 61.
4. Cartwright C.P., Lembke B.D., Ramachandran K., Body B.A., Nye M.B., Rivers C.A., Schwebke J.R. Development and validation of a semiquantitative, multitarget PCR assay for diagnosis of bacterial vaginosis. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50 (7): 2321–9.
5. Danielsson D., Teigen P.K., Moi H. The genital econiche: focus on microbiota and bacterial vaginosis. *Annals of the New York Academy of Sciences. Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2011; 1230: 48–58.
6. Fredricks D.N., Fiedler T.L., Thomas K.K., Oakley B.B., Marrazzo J.M. Targeted PCR for detection of vaginal bacteria associated with bacterial vaginosis. *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45 (10): 3270–6.
7. Haggerty C.L., Hillier S.L., Bass D.S., Ness R.B. Bacterial vaginosis and anaerobic bacteria are associated with endometritis. *Clin. Infect. Dis.* 2004; 39 (7): 990–5.

8. Hallen A., Pålsson C., Forsum U. Bacterial vaginosis in women attending STD clinic: diagnostic criteria and prevalence of *Mobiluncus* spp. *Genitourin. Med.* 1987; 63 (6): 386–9.
9. Hillier S.L., Nugent R.P., Eschenbach D.A., Krohn M.A., Gibbs R.S., Martin D.H., Cotch M.F., Edelman R., Pastorek J.G. 2nd, Rao A. Association between, bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *N. Engl. J. Med.* 1995; 333 (26):1737–42.
10. Ison C.A., Hay P.E. Validation of a simplified grading of Gram stained vaginal smears for use in genitourinary medicine clinics. *Sex. Transm. Infect.* 2002; 78 (6): 413–5.
11. Klebanoff S.J., Hillier S.L., Eschenbach D.A., Waldorff A.M. Control of the microbial flora of the vagina by H202-generating lactobacilli. *J. Infect. Dis.* 1991; 164 (1): 94–100.
12. Koumans E.H., Sternberg M., Bruce C., McQuillan G., Kendrick J., Sutton M., Markowitz L.E. The prevalence of bacterial vaginosis in the United States, 2001–2004; associations with symptoms, sexual behaviors, and reproductive health. *Sex. Transm. Dis.* 2007; 34 (11): 864–9.
13. Leitch H., Kiss H. Asymptomatic bacterial vaginosis and intermediate flora as risk factors for adverse pregnancy outcome. *Best. Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2007; 21 (3): 375–90.
14. Ling Z., Kong J., Liu F., Zhu H., Chen X., Wang Y., Li L., Nelson K.E., Xia Y., Xiang C. Molecular analysis of the diversity of vaginal microbiota associated with bacterial vaginosis. *BMC Genomics.* 2010; 11: 488
15. Menard J.P., Fenollar F., Henry M., Bretelle F., Raoult D. Molecular quantification of *Gardnerella vaginalis* and *Atopobium* *vaginae* loads to predict bacterial vaginosis. *Clin. Infect. Dis.* 2008; 47: 33–43.
16. Mittal V., Jain A., Pradeep Y. Development of modified diagnostic criteria for bacterial vaginosis at peripheral health centres in developing countries. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2012; 6 (5): 373–7.
17. Nugent R.P., Krohn M.A., Hillier S.L. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J. Clin. Microbiol.* 1991; 29 (2): 297–301.
18. Oakeshott P., Hay P., Hay S., Steinke F., Rink E., Kerry S. Association between bacterial vaginosis or chlamydial infection and miscarriage before 16 weeks' gestation: prospective community based cohort study. *BMJ* 2002; 325 (7376): 1334.
19. Sha B.E., Chen H.Y., Wang Q.J., Zariffard M.R., Cohen M.H., Spear G.T. Utility of Amsel criteria, Nugent score, and quantitative PCR for *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis* and *Lactobacillus* spp. for diagnosis of bacterial vaginosis in human immunodeficiency virus-infected women. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43 (9): 4607–12.
20. Shipitsyna E., Roos A., Datsu R., Hallen A., Fredlund H., Jensen J.S., Engstrand L., Unemo M. Composition of the vaginal microbiota in women of reproductive age — sensitive and specific molecular diagnosis of bacterial vaginosis is possible? *PLoS One.* 2013; 8 (4): e60670.
21. Spiegel C.A., Amsel R., Holmes K.K. Diagnosis of bacterial vaginosis by direct gram stain of vaginal fluid. *J. Clin. Microbiol.* 1983; 18 (1): 170–7.
22. Swidsinski A., Mendling W., Loening-Bauske V., Ladhoff A., Swidsinski S., Hale L.P., Lochs H. Adherent biofilms in bacterial vaginosis. *Obstet. Gynecol.* 2005; 106 (5): 1013–23.

■ Адреса авторов для переписки

Шалепо Кира Валентиновна — старший научный сотрудник лаборатории микробиологии, кандидат биологических наук. ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта» СЗО РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

Назарова Вероника Викторовна — врач лаборатории микробиологии. ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта» СЗО РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

Менухова Юлия Николаевна — Заведующая Женской консультации № 14. СПбГБУЗ «Городская поликлиника 32», 14 женская консультация. 197022, СПб, пер. Вяземский, 3.

Румянцева Татьяна Андреевна — Научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и эпидемиологии инфекций органов репродукции. ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. 111123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А.

Гущин Александр Евгеньевич — Заведующий лабораторией молекулярной диагностики и эпидемиологии инфекций органов репродукции, кандидат биологических наук. ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. 111123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А.

Савичева Алевтина Михайловна — д. м. н., профессор, заведующая лабораторией микробиологии. ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта» СЗО РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3. **E-mail:** savitcheva@mail.ru.

Shalepo Kira Valentinovna — Senior Researcher, Laboratory of Microbiology, PhD D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3, Russia.

Nazarova Veronika Victorovna — Bacteriologist, Laboratory of Microbiology. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3, Russia.

Menukhova Yulia Nicolaevna — Head of Women's Consultation №14. City Clinic 32, Women's Consultation №14. St. Petersburg, Viazemskiy per., 3, 197022.

Rumyantseva Tatiana Andreevna — Researcher, Laboratory for Molecular Diagnostics and Epidemiology of Reproductive Tract Infections. Central Research Institute for Epidemiology of Russia. Russia, Moscow, Novogireyevskaya str. 3A, 111123.

Guschin Alexander Evgenievich — Head of the Laboratory for Molecular Diagnostics and Epidemiology of Reproductive Tract Infections, PhD. Central Research Institute for Epidemiology of Russia. Russia, Moscow, Novogireyevskaya str. 3A, 111123.

Savitcheva Alevtina Mikhaylovna — MD, Professor, Head of the Laboratory of Microbiology. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3, Russia. **E-mail:** savitcheva@mail.ru.