

УДК 618.15-008.87-078

## Опыт микробиологической диагностики оппортунистических инфекций влагалища

А.С. Анкирская, В.В. Муравьева

Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН, Москва, Россия

Представлены критерии оценки состояния вагинального микроценоза, применяемые в Научном центре акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН. Диагностика включает следующие этапы: 1) исключение инфекций, передающихся преимущественно половым путем, 2) микроскопия окрашенного по Граму вагинального мазка (оценивается состояние вагинального эпителия, лейкоцитарная реакция, морфология микрофлоры), 3) культуральное исследование.

Указаны критерии нормоценоза, бактериального вагиноза, вагинального кандидоза, неспецифического вагинита, цитолитического вагиноза, промежуточного варианта микроценоза, вагинальной атрофии.

**Ключевые слова:** гинекология, вагиноз, вагинит, вагинальный кандидоз, микробиологическая диагностика

### Microbiological Diagnosis of Opportunistic Vaginal Infections

A.S. Ankirskaya, V.V. Muravyeva

Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology of Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia

Criteria for the evaluation of vaginal biocenosis developed in the Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology of the Russian Academy of Medical Sciences (Moscow, Russia) are presented. According to these criteria the microbiological diagnostic of opportunistic vaginal infections includes: 1) exclusion of the STDs, 2)

Gram stain of vaginal smear (vaginal epithelium, leucocytes and microorganisms are evaluated), 3) culture of vaginal discharge. Criteria for normal biocenosis, bacterial vaginosis, vaginal candidosis, non-specific vaginitis, vaginal atrophy are given.

**Key words:** gynecology, vaginosis, vaginitis, vaginal candidosis, microbiological diagnostic.

Публикации последних лет свидетельствуют об устойчивой тенденции к росту числа больных с инфекциями влагалища [1, 2]. Ее причины тесно связаны с общими факторами, влияющими на структуру патологии человека. Урбанизация, экологиче-

ские проблемы, психологические стрессы, применение антибиотиков – эти мощные селективные факторы активно вмешиваются в процессы, определяющие структуру и уровень заболеваемости.

С другой стороны, научно-технический прогресс в области медицины привел к значительному усовершенствованию лабораторных диагностических технологий, в частности к разработке молекулярно-биологических методов, что, в свою очередь, послужило поводом для пересмотра критериев диагностики многих заболеваний человека, подняв ее на качественно более высокий уровень.

Контактный адрес:

Алла Семеновна Анкирская  
117815, Москва, ул. Опарина, 4  
Научный центр акушерства, гинекологии  
и перинатологии РАМН  
Тел./факс (095) 438-25-10

В клинической микробиологии технологическая революция привела к созданию автоматизированных систем идентификации микроорганизмов, индикации их минимальных количеств в патологическом материале с помощью иммуноферментных и молекулярных методов диагностики. Не менее значительный прогресс достигнут в технике культивирования микроорганизмов, что позволило сформироваться новому микроэкологическому направлению исследований. Это привело к расширению, а иногда и к пересмотру наших представлений об участии *условно-патогенных микроорганизмов* (УПМ) в патологии человека вообще и при вагинальных инфекциях в частности [3, 4].

С микроэкологических позиций стала очевидной несостоятельность сложившихся представлений о вагинальных инфекциях как о моноинфекциях. Классический постулат «*один микроб – одно заболевание*» в современных условиях часто не находит подтверждения в клинической практике. Стало ясно, что новые диагностические тесты индикации микроорганизмов (иммуноферментный анализ, ДНК- и ПЦР-диагностика) часто не обеспечивают адекватной этиологической диагностики.

Все больше накапливается данных о значении в развитии вагинальных инфекций полимикробных ассоциаций с различной степенью этиологической значимости ассоциатов, например, бактериальный вагиноз. В настоящее время уже недопустимо основывать диагностику вагинальных инфекций только по результатам выявления одного какого-либо микроорганизма, который потенциально может быть возбудителем воспалительного процесса.

Смешанные инфекции или инфекции, развившиеся на фоне выраженного дисбаланса состава микроценоза влагалища, наблюдаются в 20–30% случаев клинически выраженных инфекций влагалища. Около 50% нарушений состава микроценоза влагалища протекают без клинических проявлений, хотя влияние бессимптомных форм заболевания на репродуктивное здоровье женщин едва ли не более значимое, чем при наличии жалоб, так как они остаются невыявленными и, следовательно, без лечения.

Поэтому диагностика оппортунистических вагинальных инфекций, то есть инфекций, вызванных УПМ, принципиально отличается от диагностики инфекций, вызванных облигатными патогенами (*инфекции, передающиеся половым путем* – ИППП). Выделение УПМ из патологического материала или их индикация еще не является доказательством их этиологической роли, так как те же самые микроорганизмы колонизируют влагалище в норме. Только учет количественных соотношений

отдельных видов микроорганизмов в составе микроценоза может характеризовать состояние вагинального микроценоза и степень его нарушения.

Клиническая практика также показала, что успех терапии и особенно отдаленные результаты лечения вагинальных инфекций зависят не только от элиминации бактерий, вызвавших заболевание, но и от полноты восстановления состояния нормоценоза.

На основании комплексного микробиологического обследования более 1000 женщин нами разработаны критерии оценки состояния вагинального микроценоза, которые могут быть использованы в повседневной работе клинических микробиологов.

Согласно этим критериям этиологическая диагностика инфекционной патологии влагалища наряду с выявлением облигатных патогенов (возбудителей ИППП) должна включать интегральную характеристику состава вагинального микроценоза. Диагностика включает следующие три этапа:

- 1) исключение ИППП;
- 2) микроскопию вагинального мазка, окрашенного по Граму;
- 3) посев вагинального отделяемого на факультативно-анаэробную группу микроорганизмов и микроаэрофилы.

При микроскопии вагинального мазка, окрашенного по Граму, оценивают:

- 1) *состояние вагинального эпителия* – преобладают клетки поверхностных, промежуточного или парабазального слоев, наличие «ключевых» клеток;
- 2) *лейкоцитарную реакцию* – ее наличие, степень выраженности, проявление фагоцитоза, его завершенность;
- 3) *состав микрофлоры* – количественная и качественная оценка по морфотипам и тинкториальным свойствам.

При количественной характеристике микрофлоры использовали критерии R.P. Nugent et al. [5], несколько нами модифицированные. Оценка общей микробной обсемененности вагинального отделяемого 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, незначительное их количество («скудный» рост);
- ++ (2+) – от 11 до 100 микробных клеток в поле зрения, умеренное их количество;
- +++ (3+) – от 100 до 1000 микробных клеток в поле зрения, большое их количество;
- ++++ (4+) – более 1000 микробных клеток в поле зрения, массивное их количество.

Качественная оценка микрофлоры включает дифференциацию всех морфотипов по их тинкто-

риальным и морфологическим признакам. Различают морфотипы лактобацилл, фузобактерий, бактероидов, мобилункусов, лептотрихий, гарднереллы, вейллонеллы, а также грамположительных кокков, колиформных палочек, дрожжеподобных грибов. В мазке могут быть обнаружены трихомонады и другие паразиты.

Учитывая, что при микроскопии мазков можно выявить микроорганизмы, присутствующие в биоматериале в количестве, обычно превышающем  $10^5$  КОЕ/мл, диагностику бактериального вагиноза обоснованно можно базировать на данных микроскопии, так как при этой патологии морфотипы грамотрицательных анаэробных бактерий (бактероиды, мобилункус) и гарднерелла выявляются в мазках в массивном количестве (4+), как ни при какой другой патологии.

Что касается факультативно-анаэробных бактерий, то диагностическая ценность микроскопического исследования вагинального отделяемого резко снижается.

Это связано, в о - п е р в ы х, с тем, что патогенные потенции этих бактерий могут проявляться при сравнительно небольшом их количестве (на уровне  $10^4$ – $10^5$  КОЕ/мл), которое не выявляется при микроскопии.

В о - в т о р ы х, даже если морфотипы факультативно-анаэробных бактерий обнаруживаются в нативных мазках вагинального отделяемого (чаще это единичные микробные клетки в поле зрения), эти морфотипы однотипны у многих видов и родов (колиформные палочки или грамположительные кокки), тогда как их патогенные свойства и чувствительность к антибиотикам могут отличаться заметным разнообразием (в отличие от строгих анаэробов).

Игнорирование этих особенностей может стать причиной неэффективности лечения. Поэтому для характеристики факультативно-анаэробной части микроценоза, а также микроаэрофилов, в первую очередь лактобацилл, которые по морфологии бывают сходными со многими видами грамположительных облигатно-анаэробных бактерий, такими, как клостридии, зубактерии, пропионибактерии и другими, необходим посев вагинального отделяемого. Для этой цели используют 5% кровяной агар (наиболее универсальная питательная среда), среду Сабуро (для выделения грибов), среду МРС (для культивирования лактобацилл), среду для выделения генитальных микоплазм.

Результаты культурального исследования дают возможность оценить видовой состав и количество факультативных анаэробов, в том числе грибов, а также лактобацилл, и тем самым подтвердить при-

надлежность к роду лактобацилл лактоморфотипов, обнаруженных при микроскопии мазков вагинального отделяемого, окрашенного по Граму.

Выделение из патологического материала и идентификация различных видов семейства *Enterobacteriaceae*, стафилококков, стрептококков различных серогрупп, неферментирующих бактерий, коринебактерий, нейссерий, грибов и других микроорганизмов после количественной оценки их роста позволит определить степень их этиологической значимости у конкретной пациентки.

Кроме того, в случаях, когда диагноз бактериального вагиноза установлен при микроскопии вагинального мазка, результаты посева могут определить повышенные титры УПМ (грибы, энтерококки, колиформные бактерии и др.), которые могут стать причиной осложнений после этиотропной терапии.

Особенно следует иметь в виду микроорганизмы, которые даже в низких титрах являются фактором повышенного риска для внутриутробного плода (листерии, стрептококки групп А и В).

Кроме диагностики бактериального вагиноза, микроскопический метод имеет преимущества перед культуральным исследованием также при диагностике таких относительно редко встречающихся в репродуктивном возрасте состояний вагинальной микроэкологии, как цитолитический вагиноз, промежуточная форма микроценоза и вагинальная атрофия.

### **Микробиологические критерии оценки состояния микроценоза влагалища у женщин репродуктивного возраста**

#### **Нормоценоз**

*А. Микроскопия мазка, окрашенного по Граму:*

1) вагинальный эпителий представлен клетками поверхностных слоев, реже встречаются клетки промежуточного слоя; «ключевые» клетки отсутствуют, иногда встречаются «ложноключевые» клетки;

2) лейкоцитарная реакция отсутствует или слабо выражена – единичные лейкоциты в поле зрения;

3) общее количество микроорганизмов «умеренное» или «большое»;

4) доминирующий морфотип – лактобациллы, другие морфотипы либо отсутствуют, либо их количество исчисляется единичными микробными клетками в редких полях зрения.

*Б. Культуральный метод:*

1) общая микробная обсемененность –  $10^6$ – $10^8$  КОЕ/мл;

- 2) абсолютно преобладают лактобациллы;
- 3) УПМ в низком титре ( $10^4$  КОЕ/мл) или отсутствуют.

### Бактериальный вагиноз

*А. Микроскопия мазка, окрашенного по Граму:*

- 1) вагинальный эпителий представлен клетками поверхностных слоев, редко встречаются промежуточные клетки, часто – «ключевые» клетки;
- 2) лейкоцитарная реакция, как правило, отсутствует;
- 3) общее количество микроорганизмов «массивное», реже – «большое»;
- 4) преобладают морфотипы строгих анаэробов и гарднереллы, лактоморфотипы отсутствуют или определяются как единичные не во всех полях зрения.

*Б. Культуральный метод:*

- 1) общая микробная обсемененность превышает  $10^9$  КОЕ/мл; при использовании только аэробных условий культивирования рост микроорганизмов отсутствует или наблюдается рост сопутствующих УПМ, чаще в небольшом титре;
- 2) полимикробный характер микрофлоры с абсолютным преобладанием облигатно-анаэробных видов и гарднереллы;
- 3) отсутствие роста лактобацилл или титр их резко снижен ( $<10^4$  КОЕ/мл).

### Вагинальный кандидоз

В зависимости от концентрации грибов в отделяемом влагалища и сопутствующей микрофлоры вагинального биотопа мы выделяем 3 формы инфекции влагалища грибами рода *Candida*.

#### 1. Кандидозный вагинит

*А. Микроскопия мазка, окрашенного по Граму:*

- 1) вагинальный эпителий преимущественно поверхностных слоев, но может быть много промежуточных и даже парабазальных клеток (пропорционально тяжести течения клинического воспалительного процесса);
- 2) лейкоцитарная реакция от умеренной (10–15 лейкоцитов в поле зрения) до резко выраженной (30–50 и более лейкоцитов в поле зрения);
- 3) общее количество микроорганизмов «умеренное» или «большое»;
- 4) доминирует морфотип лактобацилл, присутствуют дрожжевые клетки, фрагменты псевдомицелия с бластоспорами.

*Б. Культуральный метод:*

- 1) общее количество микроорганизмов не превышает  $10^8$  КОЕ/мл;

- 2) дрожжеподобные грибы присутствуют в титре более  $10^4$  КОЕ/мл;
- 3) лактобациллы выделяются в титре более  $10^6$  КОЕ/мл.

### 2. Сочетание бактериального вагиноза и кандидозного вагинита

*А. Микроскопия мазка, окрашенного по Граму:*

- 1) вагинальный эпителий преимущественно поверхностных слоев, могут встречаться промежуточные и парабазальные клетки; присутствуют «ключевые» эпителиальные клетки;
- 2) умеренная или выраженная лейкоцитарная реакция;
- 3) общее количество микроорганизмов «массивное», реже – «большое»;
- 4) доминируют морфотипы строгих анаэробов и гарднереллы, присутствуют дрожжевые клетки и/или фрагменты псевдомицелия гриба;
- 5) лактобациллы отсутствуют или выявляются единичные лактоморфотипы в поле зрения.

*Б. Культуральный метод:*

- 1) общее количество микроорганизмов «массивное», превышает  $10^9$  КОЕ/мл, но при культивировании только в аэробных условиях отмечается рост лишь дрожжеподобных грибов в умеренном или высоком титре ( $10^4$ – $10^7$  КОЕ/мл);
- 2) рост лактобацилл отсутствует или их титр низкий ( $<10^4$  КОЕ/мл);
- 3) доминирующая микрофлора – бактериоиды, гарднереллы, анаэробные кокки.

### 3. Бессимптомное носительство грибов

*А. Микроскопия мазка, окрашенного по Граму:*

- 1) вагинальный эпителий представлен преимущественно клетками поверхностных слоев;
- 2) лейкоцитарная реакция не выражена, единичные лейкоциты в поле зрения;
- 3) общее количество микроорганизмов «умеренное» или «большое»;
- 4) доминируют морфотипы лактобацилл, элементы дрожжеподобного гриба чаще всего не выявляются или обнаруживаются единичные дрожжевые клетки в редких полях зрения.

*Б. Культуральный метод:*

- 1) общее количество микроорганизмов не превышает  $10^8$  КОЕ/мл;
- 2) доминируют лактобациллы;
- 3) рост дрожжеподобного гриба в низком титре ( $<10^4$  КОЕ/мл).

### Неспецифический вагинит

*А. Микроскопия мазка, окрашенного по Граму:*

- 1) вагинальный эпителий представлен клетками

поверхностного и промежуточного слоев, при выраженном воспалительном процессе встречаются парабазальные клетки;

2) выражена (в разной степени) лейкоцитарная реакция (более 10 лейкоцитов в поле зрения);

3) общее количество микроорганизмов «умеренное»;

4) лактобациллы отсутствуют или их количество резко снижено (до единичных в поле зрения);

5) преобладают морфотипы УПМ (колиформные палочки или грамположительные кокки).

#### *Б. Культуральный метод:*

1) отсутствие роста лактобацилл или их количество минимальное ( $<10^4$  КОЕ/мл);

2) рост факультативно-анаэробных УПМ, чаще одного какого-либо вида в высоком титре ( $10^5$ – $10^8$  КОЕ/мл).

### **Цитолитический вагиноз**

#### *А. Микроскопия мазка, окрашенного по Граму:*

1) эпителиальные клетки в подавляющем большинстве подвергнуты цитолиту, в мазке преобладают элементы деструкции клеток – детрит, обнаженные ядра промежуточных и поверхностных эпителиальных клеток;

2) лейкоциты отсутствуют или их количество не превышает 10 в поле зрения;

3) микрофлора в «большом» количестве, представлена морфотипом типичных лактобацилл.

*Б. Культуральный метод:* обильный рост только лактобацилл, сопутствующая микрофлора, как правило, отсутствует.

### **Промежуточный вариант микроценоза**

#### *А. Микроскопия мазка, окрашенного по Граму:*

1) вагинальный эпителий представлен поверхностными клетками, могут встречаться единичные «ключевые» клетки или отмечена склонность к их формированию;

2) количество лейкоцитов не более 10 в поле зрения;

3) общее количество микроорганизмов «умеренное» или «большое»;

4) доминируют морфотипы строгих анаэробов и гарднереллы в сочетании со сниженным титром морфотипов лактобацилл.

#### *Б. Культуральный метод:*

1) общее количество микроорганизмов колеблется от  $10^7$  до  $10^9$  КОЕ/мл;

2) титр лактобацилл снижен, но может достигать умеренных величин –  $10^5$ – $10^7$  КОЕ/мл;

3) присутствие лактобацилл сочетается с умеренным или высоким титром облигатных анаэробов и гарднереллы ( $10^5$ – $10^7$  КОЕ/мл).

### **Вагинальная атрофия**

#### *А. Микроскопия мазка, окрашенного по Граму:*

1) в зависимости от степени атрофии слизистой оболочки влагалища эпителий представлен различным соотношением числа промежуточных и парабазальных клеток, по мере нарастания атрофии увеличивается число парабазальных и базальных клеток;

2) количество лейкоцитов чаще в пределах 10 в поле зрения

3) микрофлора «скудная», практически отсутствует, могут встречаться единичные лактоморфотипы или морфотипы УПМ в редких полях зрения.

#### *Б. Культуральный метод:*

1) низкая общая микробная обсемененность вагинального отделяемого –  $10^2$ – $10^4$  КОЕ/мл;

2) низкий титр как лактобацилл, так и УПМ.

Заключение о результатах этиологической диагностики дается на основании *интегральной оценки* результатов комплексного микробиологического исследования отделяемого влагалища, включающего микроскопию нативных мазков, окрашенных по Граму, и посев с учетом видового и количественного состава компонентов микроценоза.

## **Л и т е р а т у р а**

1. Sweet R.L., Gibbs R.S. Infections Diseases of the Female Genital Tract. 3rd edition. Baltimore: USA; 1995.
2. Беликова З.Ф. Комплексная терапия урогенитального кандидоза у женщин репродуктивного возраста с учетом состояния вагинального и кишечного микробиоза: Автореф. дис. ... канд мед наук. Москва; 2000.

3. Воробьев А.А., Абрамов Н.А., Бондаренко В.М., Шендеров Б.А. Дисбактериозы – актуальная проблема медицины. Вестн. РАМН. 1997; 3:3-9.
4. Larson B. Vaginal flora in health and disease. Clin Obstet Gynec 1993; 36:107-21.
5. Nugent R.P., Krohn M.A., Hillier A.L. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by standardized method of Gram stain interpretation. J Clin Microbiol 1991; 29:297-301.