

*На правах рукописи*

**БУДИЛОВСКАЯ**

**Ольга Викторовна**

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВАГИНАЛЬНЫХ  
ИНФЕКЦИЙ С УЧЕТОМ ОСОБЕННОСТЕЙ ЛАКТОБАЦИЛЛЯРНОЙ  
МИКРОФЛОРЫ И ЛОКАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА**

14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2021 год

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России

**Научный руководитель:**

**Савичева Алевтина Михайловна** – доктор медицинских наук, профессор, Заслуженный деятель науки РФ

**Официальные оппоненты:**

**Кира Евгений Федорович** – доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра женских болезней и репродуктивного здоровья института усовершенствования врачей, заведующий;

**Ворошилина Екатерина Сергеевна** – доктор медицинских наук, доцент, ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии, профессор

**Ведущая организация:** ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

Защита диссертации состоится «14» сентября 2021г. в 12:00 часов на заседании диссертационного совета Д 205.001.01 при ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197374, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д. 54 и на сайте <https://nrcerm.ru>.

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 г.

**Ученый секретарь**

**диссертационного совета**

**кандидат медицинских наук, доцент**

**Санников Максим Валерьевич**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность исследования

Вагинальные инфекции, вызванные условно патогенными микроорганизмами (УПМ), к которым относятся бактериальный вагиноз (БВ), аэробный вагинит (АВ) и кандидозный вульвовагинит (КВВ) занимают лидирующее место в структуре гинекологической патологии. Они могут протекать как с выраженными клиническими проявлениями, так и бессимптомно, а отсутствие своевременной диагностики и лечения способно привести к возникновению серьезных нарушений репродуктивной сферы (Sherrard J, 2018 European (IUSTI/WHO)).

Поддержание стабильности вагинального микробиома определяется двумя основными факторами: состоянием микрофлоры и состоянием иммунной системы слизистой оболочки влагалища. Нормальная микрофлора женских половых путей чрезвычайно разнообразна и представлена аэробными и анаэробными микроорганизмами. У большинства здоровых женщин детородного возраста лактобациллы являются доминирующим видом вагинального биотопа. Именно они обеспечивают высокий уровень противомикробной защиты (Кира Е.Ф., 2012, Valenti P., 2018). Разные виды лактобацилл отличаются своими протективными свойствами (Ravel J. et al., 2012, Song J. et al., 2018, Edwards V. et al., 2019). Слизистая оболочка женского репродуктивного тракта является уникальной системой, которая способна сохранять баланс между иммунологической толерантностью к собственной микрофлоре и необходимостью адекватного иммунного ответа на патоген. Препятствуя проникновению патогена, клетки слизистой оболочки влагалища не только создают механический барьер, но и запускают целый ряд иммунных механизмов (Campisciano G., 2018). При нарушении баланса между физиологической и условно патогенной микрофлорой влагалища возникают дисбиотические состояния, такие как БВ и АВ (Nugent R.P. et al., 1991, Donders G. et al., 2007). Данные дисбиозы характеризуются значительным уменьшением, а иногда полной элиминацией лактобацилл, и размножением УПМ. БВ и АВ наряду с КВВ, являются самой частой причиной обращения женщин к врачу.

Совершенствование методов клинической лабораторной диагностики вагинальных инфекций необходимо для установления точного диагноза и эффективного лечения. Клинико-лабораторная диагностика воспалительных заболеваний нижних отделов репродуктивного тракта женщин основана на данных клинического обследования и лабораторных исследованиях. Лабораторные методы диагностики традиционно включают в себя микроскопию и культуральный посев вагинального отделяемого. Однако не во всех лабораториях используются диагностические критерии, позволяющие определить тип

микробиоценоза, соответствующего определенной вагинальной инфекции и до сих пор не существует четких критериев оценки воспалительной реакции по числу лейкоцитов. Культуральные методы исследования в некоторых случаях приводят к искаженному представлению о вагинальной микробиоте, так как многие микроорганизмы являются труднокультивируемыми или не культивируются вовсе. Методы амплификации нуклеиновых кислот (МАНК), к которым относится полимеразная цепная реакция (ПЦР), имеют ряд преимуществ по сравнению с рутинными микробиологическими исследованиями: позволяют идентифицировать широкий спектр микроорганизмов, включая трудно культивируемые анаэробные бактерии, а также вирусы и простейшие, и дают возможность определить количество и соотношение микроорганизмов в общей бактериальной массе, что является важнейшим диагностическим критерием вагинальных инфекций. До недавнего времени микроскопия вагинального мазка была единственным методом, позволяющим по числу лейкоцитов оценить выраженность воспалительной реакции влагалища. Альтернативным исследованием выявления воспалительного процесса является способ определения иммунологических показателей в отделяемом влагалища методом количественной ОТ-ПЦР. Недавно разработанная отечественная тест-система ИммуноКвантэкс (ООО «НПО ДНК-Технология», Москва, Россия) позволяет идентифицировать локальную воспалительную реакцию на основе интегральной оценки экспрессии мРНК некоторых генов врожденного иммунитета (*IL1b*, *IL10*, *IL18*, *TNFa*, *TLR4*, *GATA3*, *CD68*) (Бурменская О.В. и др. 2014). Изменение экспрессионного профиля генов маркеров иммунного ответа является объективным признаком локального воспаления.

Широкая распространенность вагинальных инфекций и важность установления точного диагноза при выборе терапии требуют выявления предикторов, определяющих стабильность нормального вагинального микробиоценоза, а также предикторов развития дисбиотических состояний. Изучение количественного и видового состава вагинальных лактобацилл и обнаружение специфических для различных вагинальных инфекций иммунных маркеров с использованием подходов, основанных на ПЦР, может дополнить характеристику нарушенной микрофлоры влагалища для дифференциальной диагностики вагинальных инфекций, что существенно повысит диагностическую информативность лабораторных исследований.

#### **Степень разработанности темы исследования**

В последние десятилетия наблюдается методологический прорыв в клинической лабораторной диагностике. Широкое применение молекулярно-генетических методов для видовой дифференциации представителей микробиоты влагалища в рутинной практике

диагностических лабораторий позволяет детально изучать состав вагинальной микрофлоры и связанных с нею вагинальных расстройств.

В настоящее время накоплены многочисленные данные о частоте встречаемости разных видов вагинальных лактобацилл при различных состояниях микробиоценоза влагалища (Verstraelen H., 2009, Мелкумян А.Р., 2013, Mendes-Soares H., 2014, Ворошилина Е.С., 2018, Amabebe E., 2018), изучен видовой состав лактобацилл у беременных женщин и показано его влияние на течение и исход беременности (Romero R., 2014, Africa C.W., 2014, Leizer J.D., 2018, Синякова А.А., 2019) Получены данные об ассоциациях отдельных генов цитокинов с кандидозным вульвовагинитом (Бурменская О.В., 2011, Погосян Ш.М., 2017) и бактериальным вагинозом (Бурменская О.В. 2014, Camprisciano G., 2018).

Во всем мире лактобациллы вызывают огромный интерес, как микроорганизмы, обладающие уникальными биологическими свойствами, способные противостоять возбудителям ИППП (Gong Z., 2014, Breshears L.M., 2015, Bautista C.T., 2016, Parolin C., 2018, Edwards V.L., 2019, Tamarelle J., 2019) и ВИЧ (Mane A., 2012, Petrova M.I., 2013) , играющие существенную роль в обменных процессах макроорганизма и способные модулировать иммунный ответ (Tachedjian G., 2017, Song J., 2018, Valenti P., 2018).

Видовая идентификация вагинальных лактобацилл дает возможность разобраться в патогенезе развития вагинальных инфекций, вызванных нарушением баланса между нормальными и оппортунистическими микроорганизмами, установить корреляцию между доминирующим видом лактобацилл, УПМ, компонентами иммунного ответа и инфекционной патологией, что позволит нам существенно продвинуться в диагностике и лечении дисбиотических расстройств.

### **Цель исследования**

Оценить особенности лактобациллярной микрофлоры и локального иммунного ответа слизистой влагалища для дифференциальной диагностики вагинальных инфекций.

### **Задачи исследования**

1. Идентифицировать вагинальные лактобациллы с использованием нового теста для видового типирования лактобацилл на основе ПЦР в реальном времени.
2. Определить типы лактобациллярной микрофлоры по доминирующему виду лактобацилл при вагинальных инфекциях (бактериальном вагинозе, кандидозном вульвовагините, аэробном вагините).
3. Определить диагностические характеристики метода оценки воспалительной реакции во влагалище на основе обратно-транскриптной ПЦР (по сравнению с микроскопическим методом).

4. Выявить взаимосвязь между экспрессией генов маркеров локального иммунного ответа и различными видами лактобацилл.

5. Оценить экспрессию генов маркеров локального иммунного ответа у женщин с вагинальными инфекциями.

6. Выявить особенности лактобациллярной микрофлоры и локального иммунного ответа специфичные для физиологического микробиоценоза и вагинальных инфекций.

**Научная новизна.** Впервые проведено комплексное молекулярно-генетическое исследование микробиоты влагалища с видовой дифференциацией лактобацилл и определением уровней транскриптов некоторых генов врожденного иммунитета в слизистой влагалища среди популяции небеременных женщин репродуктивного возраста, проживающих в Санкт-Петербурге.

Определена частота встречаемости разных видов лактобацилл у женщин с различным состоянием микробиоценоза влагалища. Выявлено, что наиболее распространенными являются 4 вида лактобацилл: *L. iners*, *L. crispatus*, *L. jensenii* и *L. vaginalis*. Наиболее часто в обследуемой популяции в качестве доминирующего обнаруживается вид *L. iners* (62%), преобладающий как у женщин с вагинальными инфекциями, так и у женщин с физиологическим микробиоценозом влагалища.

Получены новые данные об ассоциации некоторых генов маркеров локального иммунного ответа с вагинальными инфекциями, вызванными условно патогенными микроорганизмами (бактериального вагиноза, аэробного вагинита, кандидозного вульвовагинита). Впервые определены комбинации иммунных и микробиологических маркеров, указывающие на стабильность вагинального микробиоценоза.

Валидирован мультиплексный исследовательский тест на основе ПЦР в реальном времени для обнаружения и дифференциации видов *Lactobacillus* spp. Также проведено сравнение с микроскопическим методом исследования нового теста на основе ОТ-ПЦР, предназначенного для оценки локального воспаления нижних отделов женского репродуктивного тракта по интегральной оценке экспрессии мРНК некоторых генов врожденного иммунитета.

**Теоретическая значимость.** Теоретически обосновано использование для дифференциальной диагностики вагинальных инфекций определенных комбинаций микробиологических и иммунных маркеров, специфичных для различных нарушений вагинального микробиоценоза. Установлена значимость определенных генов маркеров иммунного ответа в патогенезе вагинальных инфекций. Изменение состава микробиоценоза влагалища сопровождается реакцией со стороны иммунокомпетентных

клеток: при состояниях с выраженной воспалительной реакцией, аэробном и кандидозном вагинитах, наблюдается повышение экспрессии мРНК генов *IL1b* и *TLR4*, также при аэробном вагините отмечено повышение уровня мРНК противовоспалительного цитокина *IL10*; бактериальный вагиноз сопровождается снижением мРНК генов *IL18* и *GATA3*.

**Практическая значимость.** Данные диссертационного исследования позволяют усовершенствовать диагностику инфекционно-воспалительных заболеваний влагалища. Могут быть использованы для научного развития профилактического направления превентивной медицины и внедрения в практику врачей клинической лабораторной диагностики и акушеров-гинекологов для раннего выявления, своевременной диагностики и предупреждения рецидивов вагинальных инфекций.

Проведена клиническая валидация молекулярно-биологических тестов для обнаружения и дифференциации видов *Lactobacillus* spp. и теста на основе ОТ-ПЦР, предназначенного для оценки локального воспаления нижних отделов женского репродуктивного тракта, которые рекомендовано использовать в качестве альтернативы микроскопическим и культуральным методам диагностики.

Разработан комплексный подход к диагностике вагинальных инфекций с учетом особенностей лактобациллярной микрофлоры, определены специфичные иммунные маркеры воспалительной реакции слизистой влагалища при бактериальном вагинозе, аэробном вагините и кандидозном вульвовагините. Также выявлены микробиологические и иммунные предикторы стабильности физиологического микробиоценоза влагалища.

Полученные данные о частоте встречаемости различных видов лактобацилл при вагинальных инфекциях и у здоровых женщин, позволяют рассмотреть перспективы использования определенных видов лактобацилл в качестве компонента пробиотических препаратов.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Вагинальный биотоп женщин репродуктивного возраста способны колонизировать одновременно несколько видов лактобацилл, но доминирующим, как правило, является один вид. *Lactobacillus iners* является самым распространенным и наиболее часто доминирующим видом в популяции женщин Санкт-Петербурга. Доминирование *Lactobacillus crispatus* чаще отмечается у женщин с физиологическим микробиоценозом влагалища и не встречается у женщин с истощением лактобациллярной микрофлоры при бактериальном вагинозе и со смешанными вагинальными инфекциями.

2. Вагинальные инфекции сопровождаются изменением профиля транскрипции генов врожденного иммунитета. Наиболее явными маркерами аэробного вагинита являются повышенные уровни мРНК генов *IL1b*, *IL10* и *TLR4*; кандидозного

вульвовагинита – повышенные уровни мРНК генов *IL1b* и *TLR4*; при бактериальном вагинозе снижается экспрессия мРНК генов *IL18* и *GATA3*.

3. При доминировании *Lactobacillus crispatus* в составе вагинальной микробиоты выявлены повышенные уровни экспрессии мРНК генов *IL18*, *GATA3* и *CD68*. Данная ассоциация является маркером стабильности физиологического микробиоценоза влагалища.

**Методология и методы исследования.** Диссертационная работа проводилась с соблюдением всех правил научных исследований и строилась на принципах биоэтики. Для реализации цели исследования и обоснования основных положений были использованы анализ литературы, лабораторные методы и методы статистической обработки данных.

**Степень достоверности и апробация результатов исследования.** Достоверность полученных результатов обеспечена теоретическим анализом проблемы и подробным изучением научных публикаций по теме диссертационного исследования, репрезентативным объёмом выборок обследованных пациентов и достаточным количеством выполненных наблюдений (223 женщины и 1460 исследуемых материалов) с использованием современных методов лабораторной диагностики (микроскопическое исследование микробиоценоза, культуральная диагностика с масс-спектрометрической идентификацией микроорганизмов, молекулярно-биологическое исследование микробиоценоза с видовой дифференциацией вагинальных лактобацилл и определением профиля экспрессии мРНК генов врожденного иммунитета методом ПЦР в режиме реального времени) и адекватным статистическим анализом данных.

Апробация диссертационного исследования осуществлялась в формате докладов. Основные положения работы, а также результаты её отдельных этапов были представлены на: XI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика – 2017» (Москва, 2017); Первом национальном конгрессе с международным участием «ЛАБРИН – 2019» (Москва, 2019); III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Медицина для будущего: от планирования беременности к родам» (Санкт-Петербург, 2019); Общероссийской научно-практической конференции «Отговские чтения» (Санкт-Петербург, 2019); Втором национальном конгрессе с международным участием «ЛАБРИН – 2020» (Москва, 2020); Научно-практической конференции с международным участием «Инфекционный фактор и репродуктивное здоровье» (Санкт-Петербург, 2020); Международной конференции «World of Microbiome: pregnancy, birth and infancy» (Он-лайн, Швейцария, 2020); II Общероссийской научно-практической конференции «Отговские чтения» (Он-лайн,



Санкт-Петербург, 2020); Всероссийском конгрессе по медицинской микробиологии, эпидемиологии, клинической микологии и иммунологии «XXIII Кашкинские чтения», Санкт-Петербург, 2020.

Результаты исследования внедрены в диагностическую работу лаборатории клинической микробиологии и отдела медицинской микробиологии ФГБНУ «НИИ АГиР имени Д.О. Отта» и отдела лабораторной диагностики ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова».

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 12 работ, в их числе 7 статей в рецензируемых научных изданиях, входящих в перечень ВАК для опубликования основных результатов диссертационных исследований.

**Личное участие автора.** Диссертант лично участвовала в планировании и организации работы, проведении большей части лабораторных исследований, обработке, анализе, обобщении и представлении полученных данных.

**Структура и объем работы.** Диссертация изложена на 113 страницах и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций и списка цитируемой литературы. Работа иллюстрирована 11 рисунками и 17 таблицами. Список литературы включает 130 публикаций, из них 25 – отечественных авторов и 105 – зарубежных.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Клиническая характеристика обследованных женщин**

Для исследования состояния микробиоценоза влагалища и изучения видового состава вагинальных лактобацилл было обследовано 223 женщины репродуктивного возраста, которые обратились в поликлинические отделения ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта» с марта 2017 года по декабрь 2018 года. Причинами обращения пациенток были как профилактический осмотр, так и жалобы на различные вульвовагинальные симптомы. При осмотре регистрировали наличие патологических выделений из влагалища, зуд / жжение, болезненность / зуд и эритема вульвы, неприятный запах, дизурия, диспареуния, гнойный или слизисто-гнойный эндоцервикальный экссудат, петехии на шейке матки, абдоминальные боли. Критериями исключения были беременность, прием пероральных или местных противомикробных препаратов и местных пробиотиков в течение 1 месяца до обследования.

Для изучения уровня экспрессии мРНК генов локального иммунного ответа была обследована часть этих пациенток, а именно 137 женщин. Дополнительными критериями исключения для этого исследования были: выявление возбудителей ИППП, связанных с

цервицитом (*Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium*, HSV I, II типов), признаки цервицита, установленный или предполагаемый диагноз воспалительных заболеваний органов малого таза, использование внутриматочной спирали или вагинальных контрацептивов.

### **Материалы и методы исследования**

Материалом для исследования служило отделяемое заднего и боковых сводов влагалища. От каждой женщины были взяты три образца. Один образец использовался для приготовления препарата для микроскопического исследования, второй – для культурального исследования, третий - для молекулярного тестирования.

Микроскопическое исследование проводили для формирования основных групп пациенток и оценки воспалительной реакции. Культуральное исследование осуществляли для получения культур микроорганизмов (основной интерес представляли культуры лактобацилл). Метод амплификации нуклеиновых кислот (МАНК), а именно ПЦР в режиме реального времени применяли для: 1) скринингового изучения вагинальной микробиоты с определением общего количества лактобацилл, основных УПМ и возбудителей ИППП; 2) видового типирования лактобацилл; 3) анализа транскрипционного профиля генов маркеров иммунного ответа.

**Микроскопическое исследование.** Наличие воспалительной реакции влагалища оценивали с использованием 1000-кратного увеличения микроскопа: учитывали отношение количества полиморфноядерных лейкоцитов (ПМЯЛ) к эпителиальным клеткам (ЭК) : соотношение ПМЯЛ/ЭК $\leq$ 1:1 оценивали как отсутствие воспаления, при соотношении ПМЯЛ/ЭК $>$ 1:1 констатировали наличие воспаления. Диагностику БВ проводили с применением метода Нуджента (Nugent R.P.1991). Для диагностики АВ использовали микроскопическое исследование по методу Дондерса (G. Donders 2007). Микроскопический диагноз КВВ устанавливали при обнаружении вегетирующих форм грибов *Candida*: почкующихся клеток, псевдомицелия, других морфологических структур (бластоконидии, псевдогифы).

**Культуральное исследование.** Для бактериологического исследования клинический материал наносили на поверхность кровяного агара с 5% дефибринированной бараньей или лошадиной крови (ООО «БиоВитрум», Россия). Чашки Петри с клиническим материалом культивировали при температуре 36°C в CO<sub>2</sub>-инкубаторе (MCO-20AIC, Sanyo, Япония) в течение 24-48 часов. Видовую идентификацию выделенных лактобацилл и других микроорганизмов, осуществляли методом масс-спектрометрического анализа с использованием времяпролетного масс-спектрометра MALDI-ToF MS AutoFlex III (Bruker Daltonics, Германия).

**Метод амплификации нуклеиновых кислот.** Для выделения ДНК использовали комплект реагентов «ДНК-сорб-АМ» (ООО «НекстБио», Москва, Россия), для постановки реакции использовали детектирующие амплификаторы «DT-96» и «DTprime» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Скрининговое исследование микрофлоры урогенитального тракта женщин осуществляли с помощью мультиплексного теста ФемофлорСКРИН (ООО «НПО ДНК-Технология», Москва) определяли общую бактериальную массу (ОБМ), нормофлору (ДНК *Lactobacillus spp.*), УПМ (*G. vaginalis/P. bivia/Porphyromonas spp., Ureaplasma spp.* и *Mycoplasma hominis, Candida sp.*), ДНК возбудителей ИППП (*Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Trichomonas vaginalis, Mycoplasma genitalium*), и вирусов (вирусов простого герпеса с I и II типов, цитомегаловируса). Для видовой идентификации лактобацилл использовали тест-систему для исследовательских целей «Типирование лактобактерий», позволяющую определить общее количество (ДНК *Lactobacillus spp.*), шесть наиболее распространенных видов вагинальных лактобацилл и один биотехногенный (*L. crispatus, L. iners, L. jensenii, L. gasseri, L. johnsonii, L. vaginalis* и *L. acidophilus*) (ООО «НПО ДНК-Технология», Москва, Россия). Для определения локальной воспалительной реакции использовали тест ИммуноКвантэкс (ООО «НПО ДНК-Технология», Москва, Россия), позволяющий определить гены маркеров иммунного ответа (*IL1b, IL10, IL18, TNFa, TLR4, GATA3, CD68, B2M*). Для данного теста выделение нуклеиновых кислот осуществляли набором «Проба-МЧ-НК-200S».

**Статистические методы.** Анализ межгрупповых различий по частотным показателями проводили с использованием точного критерия Фишера или критерия хи-квадрат Пирсона. Для анализа различий между несколькими группами по количественным показателям использовали тест Крускала-Уоллиса с последующим попарным сравнением групп с использованием теста Коновера. Ассоциацию между различными количественными переменными изучали с применением корреляции Спирмана. Для выявления наиболее специфичных иммунных маркеров различных вагинальных инфекций использовали ROC-анализ (Receiver Operator Characteristic). Для валидации нового теста ИммуноКвантэкс для оценки локальной воспалительной реакции по индексу воспаления, проводили сравнение с микроскопическим методом, принимая его за референсный стандарт. Чувствительность и специфичность теста ИммуноКвантэкс определяли посредством построения таблицы сопряженности. Статистический анализ был выполнен с использованием пакета статистики MedCalc Statistical Software версии 18.11 (MedCalc Software bvba, Остенде, Бельгия). Все различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Структура вагинальных инфекций в обследуемой популяции

На основании данных осмотра и результатов лабораторных исследований были сформированы группы пациенток и охарактеризован состав микробиоценоза влагалища. Вагинальные инфекции, вызванные УПМ, были выявлены у 71 женщины (31,8%). Структура вагинальных инфекций в обследованной популяции представлена на рис. 1. Самыми распространенными инфекциями являются АВ и БВ 28,2%(20 из 71) и 26,8% (19 из 71), соответственно, доля КВВ составила 19,7% (14 из 71). Сочетание нескольких вагинальных инфекций наблюдалось в 25,3% случаев (18), а именно, БВ в сочетании с АВ - 12,7% женщин (9), БВ в сочетании с АВ и КВВ и БВ в сочетании с КВВ встречались в 5,6% случаев (по 4 женщины) и в 1,4% (1 пациентка) имел место АВ в сочетании с КВВ.

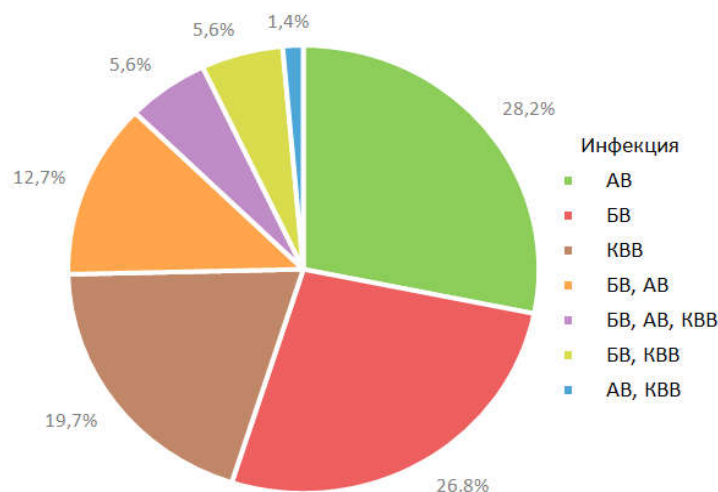


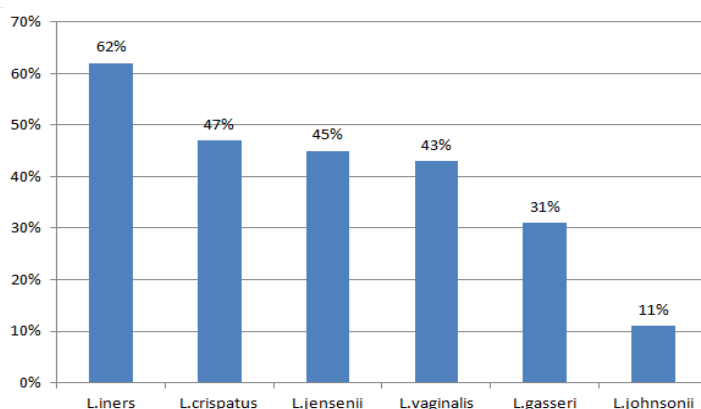
Рис. 1. Структура вагинальных инфекций

### Валидация мультиплексного исследовательского теста на основе ПЦР в реальном времени для обнаружения и дифференциации видов *Lactobacillus spp.*

Следующим этапом нашего исследования было изучение видового состава вагинальных лактобацилл. Прежде, чем оценивать видовое разнообразие лактобацилл, мы провели валидацию тест-системы для научных исследований «Типирование лактобактерий» (ООО «НПО ДНК-Технология», Москва, Россия). Для выявления аналитической чувствительности теста были исследованы 40 клинических изолятов различных микроорганизмов, полученные при культуральном исследовании отделяемого влагалища и идентифицированные методом масс-спектрометрии. Аналитическая чувствительность и специфичность теста для выявления вагинальных лактобацилл методом ПЦР в реальном времени составила 100%.

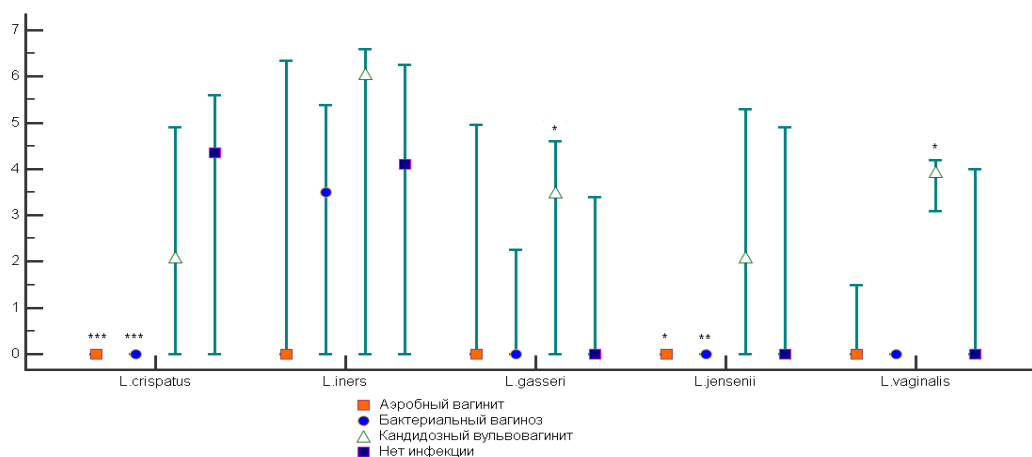
## Видовое разнообразие лактобацилл и ассоциация различных видов лактобацилл с вагинальными инфекциями

Методом ПЦР в режиме реального времени лактобациллы были выявлены у 208 из 223 женщин (93,3%). При видовом типировании 208 образцов было обнаружено 497 лактобацилл 7 видов, входящих в тест-систему, и выявлено, что наиболее распространенными являются 4 вида лактобацилл: *L. iners*, *L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. vaginalis* (рис. 2).



**Рис. 2.** Частота выявления различных видов вагинальных лактобацилл.

Мы показали вариации количественного содержания различных видов лактобацилл у женщин с вагинальными инфекциями по сравнению с женщинами (рис. 3). Для выявления более точной ассоциации видов лактобацилл с вагинальными инфекциями в анализ не были включены женщины со смешанными инфекциями.

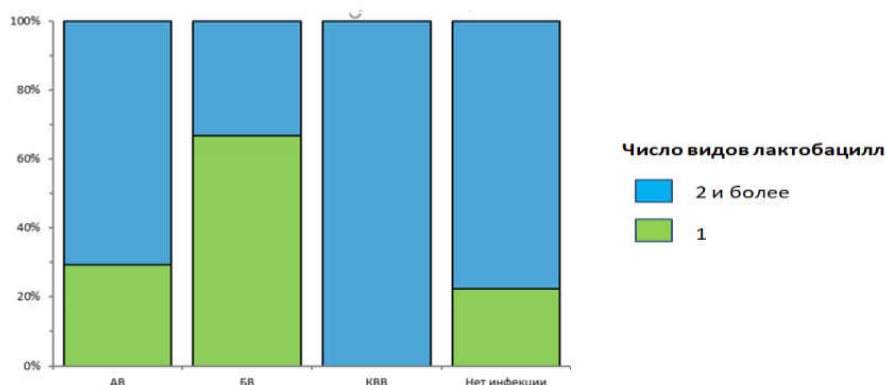


**Рис. 3.** Содержание лактобацилл различных видов (log-трансформированное количество копий на 1 мл) во влагалище женщин с вагинальными инфекциями по сравнению с группой женщин без данных инфекций; маркеры с ограниченными линиями обозначают медианы с межквартильными интервалами; \* - значение  $p < 0,05$ , \*\* - значение  $p < 0,01$ , \*\*\* - значение  $p < 0,001$

Вид *L. iners* обнаруживался в достаточном количестве во всех исследуемых группах. Содержание *L. crispatus* было самым большим в группе здоровых женщин.

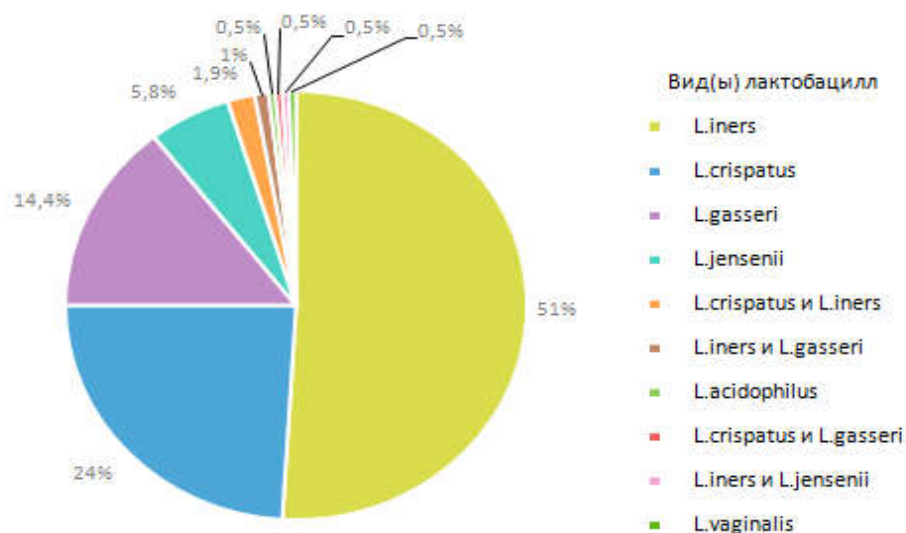
Бактериальная масса видов *L. crispatus* и *L. jensenii* при БВ и АВ была незначительной. Количественное содержание видов *L. gasseri* и *L. vaginalis* было выявлено при КВВ в значительно большей бактериальной массе, чем у женщин без инфекции.

Молекулярно-биологический метод диагностики позволил определить, что количество видов лактобацилл, выявляемых у одной женщины, варьировало от 1 до 6 видов, и этот показатель зависел от состояния микробиоценоза. На рисунке 4 показано соотношение образцов, содержащих 1 или 2 и более видов лактобацилл у пациенток с различными вагинальными инфекциями и с физиологическим микробиоценозом. У женщин с БВ - инфекции, для которой характерно истощение лактобациллярной микрофлоры, видовое разнообразие лактобацилл встречалось в 33,4% случаев, что значительно реже ( $p=0,0002$ ), чем у женщин без инфекций (77,6%) или с КВВ (100%) – состояний, для которых истощение лактобациллярной микрофлоры не свойственно. В группе с АВ также наблюдалось преобладание образцов, содержащих несколько видов лактобацилл (70,6%).



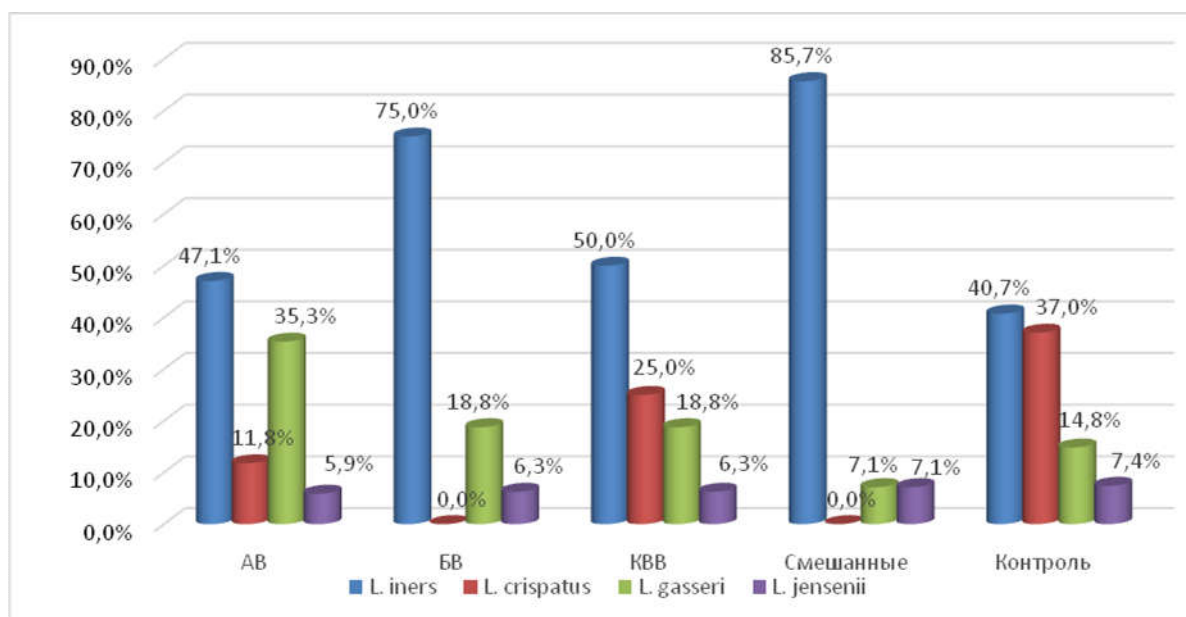
**Рис. 4. Количество видов лактобацилл, выявляемых у женщин с различными вагинальными инфекциями и физиологическим микробиоценозом**

Учитывая, что вагинальные пробы содержали несколько видов лактобацилл, был проведен анализ всех образцов по доминирующему виду (рис.5). Доминирующим считали вид, количество которого относительно общей концентрации лактобациллярной микрофлоры составлял 50% и более. Было установлено, что чаще доминировали 4 вида: *L. iners* (51%), *L. crispatus* (24%), *L. gasseri* (14,4%) и *L. jensenii* (5,8%). Доля других видов лактобацилл в общей лактобациллярной массе была незначительной. При доминировании двух видов лактобацилл, одним из них чаще всего был вид *L. iners*.



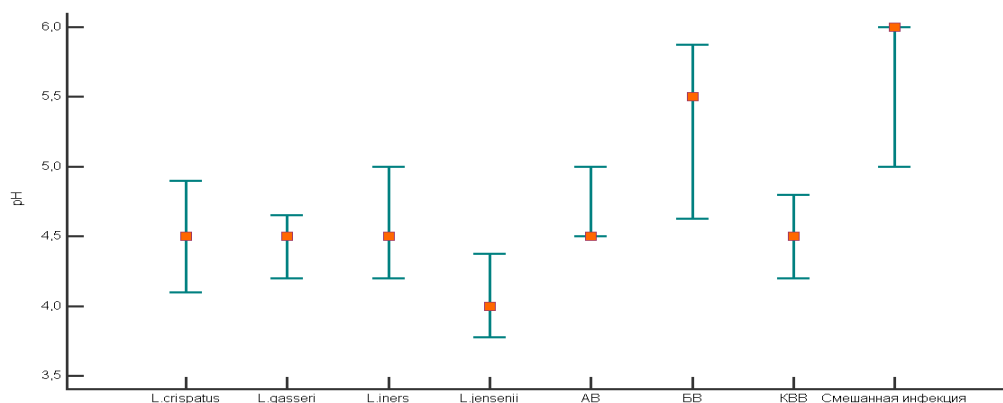
**Рис. 5. Распределение случаев выявления лактобацилл в вагинальном биотопе женщин по доминирующему виду**

Чтобы лучше изучить взаимосвязь основных видов лактобацилл с состоянием микробиоценоза, мы оценили распространенность лактобацилл по доминирующему типу в группах женщин с вагинальными инфекциями и у здоровых женщин (рис.6). Вид *L. iners* преобладал во всех группах. В группах с БВ и смешанными вагинальными инфекциями самая высокая частота доминирования *L. iners*, при этом вид *L. crispatus* ни в одной из этих групп не доминировал. Чаще всего в качестве доминирующего вида *L. crispatus* обнаруживался в контрольной группе.



**Рис.6. Распространение основных видов лактобацилл по доминирующему типу при вагинальных инфекциях и нормоценозе**

Одним из важнейших механизмов поддержания стабильности вагинального микробиоценоза является способность вагинальных лактобацилл обеспечивать низкий окислительно-восстановительный потенциал вагинальной среды. Нами была проведена оценка значения рН влагалища при различных состояниях вагинального микробиоценоза (рис.7).



**Рис. 7. Значения рН влагалища при различных типах вагинального микробиоценоза; маркеры с ограниченными линиями обозначают медианы с межквартильными интервалами**

Несмотря на то, что во всех группах с доминированием лактобацилл в среднем был одинаково низкий уровень рН 4-4,5, разные виды лактобацилл отличаются способностью к поддержанию кислой среды влагалища. В связи с этим, мы провели корреляцию между разными видами лактобацилл и значениями рН вагинальной среды (табл. 1), и выявили, что значительно чаще низкие значения рН наблюдались в группе с доминированием *L. crispatus* ( $p=0,0159$ ).

Таблица 1.

#### Корреляция между содержанием различных видов лактобацилл и рН влагалища

Вид лактобацилл	Коэффициент Спирмена	95% доверительный интервал		Значение $p$
		Нижняя граница	Верхняя граница	
<i>L.crispatus</i>	-0,184	-0,328	-0,030	<b>0,0159</b>
<i>L.iners</i>	0,146	-0,008	0,294	0,0553
<i>L.jensenii</i>	-0,009	-0,163	0,145	0,9025
<i>L.gasseri</i>	-0,040	-0,193	0,115	0,6052
<i>L.vaginalis</i>	-0,093	-0,244	0,062	0,2237



В нашем исследовании вид *L. crispatus* не являлся самым часто встречающимся видом в группе женщин с физиологическим микробиоценозом влагалища, но его содержание в группе здоровых женщин было достоверно выше, чем у женщин с БВ и АВ ( $p < 0,0001$ ). Именно *L. crispatus* в большинстве исследований ассоциируется с физиологическим микробиоценозом влагалища и является показателем стабильности вагинального микробиома (Edwards V., 2019.). В некоторых исследованиях показано, что *L. crispatus* способен ингибировать рост *Candida albicans* (Jang Jae, 2019), что соответствует нашим данным о низкой встречаемости *L. crispatus* при КВВ. Реже всего *L. crispatus* встречался при дисбиозах, обусловленных истощением лактобациллярной флоры – АВ, БВ и в группе смешанных инфекций и ни разу не был доминирующим видом у женщин с БВ и смешанными инфекциями.

### Оценка воспаления с применением микроскопического метода и ОТ-ПЦР

Нами была проведена валидация нового теста ИммуноКвантэкс для оценки локальной воспалительной реакции во влагалище. Для расчета чувствительности и специфичности проведено сравнение с микроскопическим методом. Мы сопоставили результаты данных исследований 50 образцов от пациенток с вагинальными инфекциями с воспалительным синдромом (АВ, КВВ и смешанными инфекциями) и здоровых женщин контрольной группы, не имеющих микроскопических признаков воспаления (табл. 2).

Таблица 2

### Сравнение результатов исследования вагинальных образцов на воспалительную реакцию с использованием микроскопического метода и теста ИммуноКвантэкс

Вагинальная инфекция	ПМЯЛ/ЭК $\geq 1$ (есть воспаление)		ПМЯЛ/ЭК $< 1$ (нет воспаления)	
	ИВ $\geq 50$ (есть воспаление)	ИВ $< 50$ (нет воспаления)	ИВ $\geq 50$ (есть воспаление)	ИВ $< 50$ (нет воспаления)
КВВ	5	0	1	1
АВ	14	0	0	0
КВВ и БВ	1	0	0	0
АВ и БВ	4	0	0	0
КВВ, АВ и БВ	2	0	0	0
Без инфекции	0	0	2	20
Всего	26	0	3	21

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

Чувствительность и специфичность нового теста ИммуноКвантэкс относительно микроскопического метода составили 100% и 87,5%, соответственно. Прогностическая значимость положительного результата составила 89,7%, прогностическая значимость отрицательного результата – 100%. При рассмотрении диагностических параметров теста ОТ-ПЦР для оценки воспаления при аэробном вагините оказалось, что параметры чувствительности, специфичности и прогностической значимости равны 100%.

### Дифференциальная экспрессия генов маркеров локального иммунного ответа у женщин с различными вагинальными инфекциями

Мы выявили значительные различия между профилями транскрипции генов *IL1b*, *IL10*, *IL18*, *TNFa*, *TLR4*, *GATA3*, *CD68* в группах пациенток, у которых диагностировали исключительно АВ, БВ или КВВ по сравнению со здоровыми женщинами (рис.8)

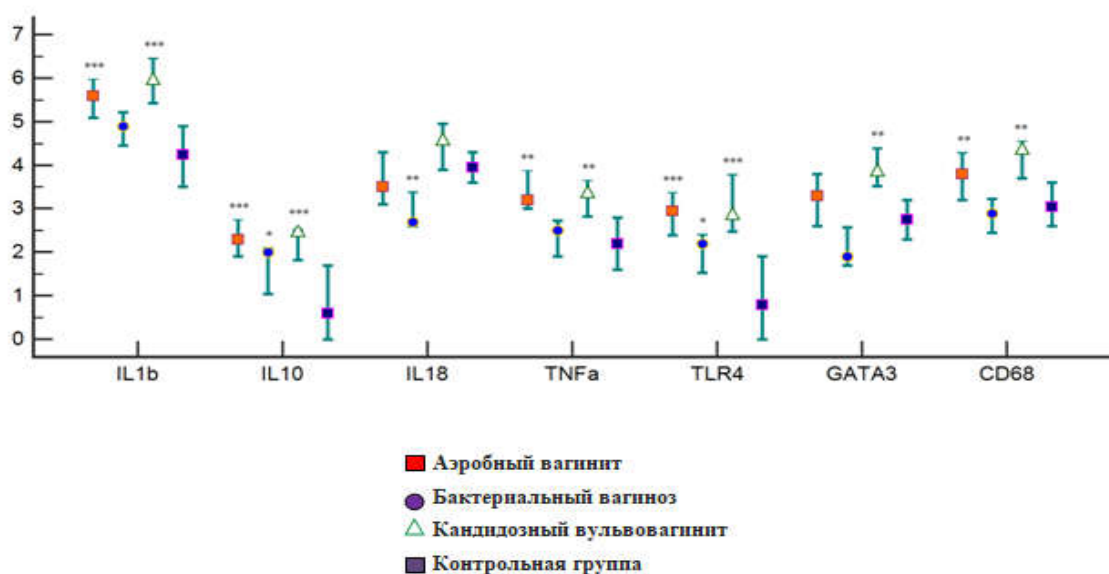


Рис. 8. Уровни мРНК (log-трансформированное количество копий на 1 мл) отдельных генов местного иммунного ответа во влагалище женщин с аэробным вагинитом, бактериальным вагинозом и кандидозным вульвовагинитом по сравнению с контрольной группой; маркеры с ограниченными линиями обозначают медианы с межквартильными интервалами; \* - значение  $p < 0,05$ , \*\* - значение  $p < 0,01$ , \*\*\* - значение  $p < 0,001$

Используя ROC-анализ, мы смогли выявить способность выбранных иммунных маркеров различать все положительные случаи каждой инфекции (включая случаи, когда данная инфекция сочеталась с другими инфекциями) (табл. 3). Самыми явными предикторами АВ были повышенные уровни мРНК *IL1b*, *IL10* и *TLR4*. БВ был тесно связан со снижением уровней мРНК *IL18* и *GATA3*. Повышенные уровни мРНК *IL1b* и *TLR4* показали выраженную классифицирующую способность в отношении КВВ.

Таблица 3

**Классифицирующая способность отдельных маркеров местного иммунного ответа при аэробном вагините (АВ), бактериальном вагинозе (БВ), кандидозном вульвовагините (КВВ) по результатам ROC- анализа**

Иммунные маркеры	Площадь под кривой (индекс Юдена; оптимальный порог)		
	АВ	БВ	КВВ
<i>IL1b</i>	0.749 (0.423; >4.9)	НЗ	0.788 (0.489; >5.3)
<i>IL10</i>	0.777 (0.440; >1.6)	НЗ	НЗ
<i>IL18</i>	0.679 (0.313; ≤3.7)	0.838 (0.583; ≤2.8)	НЗ
<i>TNFa</i>	0.689 (0.385; >2.9)	НЗ	НЗ
<i>TLR4</i>	0.733 (0.398; >2.7)	НЗ	0.717 (0.388; >2)
<i>GATA3</i>	НЗ	0.783 (0.526; ≤2.3)	НЗ
<i>CD68</i>	НЗ	НЗ	НЗ

Примечание: НЗ (не значима) (площадь под ROC-кривой существенно не отличалась от 0,5, то есть классифицирующая способность отсутствовала)

### **Корреляция между различными видами лактобацилл и генами маркеров локального иммунного ответа**

Учитывая ассоциацию разных видов лактобацилл с различными состояниями микробиоты влагалища, была проанализирована зависимость транскрипционного профиля иммунных маркеров от вида лактобацилл. В данное исследование мы включили основные доминирующие виды лактобацилл *L. crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii* и *L. gasseri*. При анализе данных было установлено, что в образцах с доминированием *L. crispatus* уровни экспрессии мРНК генов *IL18*, *GATA3* и *CD68* были повышены (табл. 4). Корреляции между другими видами лактобацилл и генами маркеров локального иммунного ответа не наблюдалось.

Таблица 4

### **Корреляция между *L. crispatus* и генами маркеров локального иммунного ответа**

Сравниваемые параметры	Коэффициент Спирмена	95% ДИ		Значение <i>p</i>
		Нижняя граница	Верхняя граница	
<i>L. crispatus</i> и <i>IL 1B</i>	-0,028	-0,205	0,150	
<i>L. crispatus</i> и <i>IL 10</i>	-0,070	-0,245	0,109	
<i>L. crispatus</i> и <i>IL 18</i>	0,260	0,087	0,417	<b>0,0027</b>
<i>L. crispatus</i> и <i>TNFA</i>	0,059	-0,118	0,233	
<i>L. crispatus</i> и <i>TLR4</i>	-0,018	-0,194	0,159	
<i>L. crispatus</i> и <i>GATA3</i>	0,235	0,061	0,395	<b>0,0070</b>
<i>L. crispatus</i> и <i>CD68</i>	0,229	0,055	0,390	<b>0,0085</b>

## ВЫВОДЫ

1. Использование молекулярно-биологических тестов позволило определить лидирующее место труднокультивируемого вида *L. iners* и показало, что вагинальный биотоп колонизируют до шести видов лактобацилл одновременно, но доминирующим, как правило, является один вид. Аналитическая чувствительность и специфичность тест-системы на основе ПЦР в реальном времени для видовой дифференциации лактобацилл составили 100%.

2. В популяции женщин репродуктивного возраста чаще доминируют виды *L. iners*, *L. crispatus*, *L. gasseri* и *L. jensenii*, в связи с чем представляется целесообразным дифференциация и количественное определение этих 4 видов. При доминировании в вагинальном биотопе *L. crispatus* состояние микробиоценоза наиболее стабильно, с доминированием *L. iners* и *L. gasseri* связаны риски развития дисбиотических процессов во влагалище.

3. Содержание вида *L. crispatus* в группе здоровых женщин достоверно выше, чем у женщин с БВ и АВ ( $p < 0,0001$ ). Преобладание *L. crispatus* коррелирует с более низким уровнем рН вагинального отделяемого и имеет значительную отрицательную корреляцию с кластером *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas* spp. ( $p < 0,0001$ ), что позволяет расценивать доминирование *L. crispatus* в микробиоте влагалища как надежный маркер защиты от БВ.

4. Изменение состава микробиоты влагалища, сопровождающиеся чрезмерным размножением УПМ, приводит к изменению профиля экспрессии мРНК цитокинов. Применение теста, основанного на ОТ-ПЦР для оценки локальной воспалительной реакции, имеющего высокие показатели чувствительности и специфичности (100% и 87,5%, соответственно), представляется наиболее информативным подходом. Для АВ диагностические параметры чувствительности и специфичности теста ОТ-ПЦР для оценки воспаления составили 100%.

5. Выявлены значительные различия в экспрессии мРНК цитокинов у женщин с вагинальными инфекциями по сравнению со здоровыми женщинами. Маркерами АВ явились повышенные уровни мРНК *IL1b*, *IL10* и *TLR4*; КВВ – повышенные уровни мРНК *IL1b* и *TLR4*; БВ – сниженные уровни мРНК *IL18* и *GATA3*. Данные иммунные маркеры могут быть использованы для дифференциальной диагностики вагинальных инфекций.

6. В образцах с доминированием *L. crispatus* уровни экспрессии мРНК генов *IL18*, *GATA3* и *CD68* повышены. Данное сочетание микробиологических и иммунологических маркеров является благоприятным прогностическим критерием стабильности физиологического микробиоценоза влагалища.

7. Не выявлена взаимосвязь между видами вагинальных лактобацилл и экспрессией мРНК генов врожденного иммунитета у женщин с вагинальными инфекциями.

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Для специалистов клинической лабораторной диагностики и клинических врачей акушеров-гинекологов, оказывающих специализированную помощь женщинам репродуктивного возраста:

1. Молекулярно-биологический тест на основе ПЦР в режиме реального времени для видовой дифференциации вагинальных лактобацилл («Типирование лактобактерий», ООО «НПО ДНК-Технология», Москва, Россия) рекомендуется в качестве высоко чувствительной (100%) и специфичной (100%) альтернативы культуральному методу выделения лактобацилл, особенно некультивируемых. Этот метод выявляет одновременно несколько видов лактобацилл, позволяет провести их дифференциацию, определить количество и существенно сократить время исследования.

2. Для оценки стабильности микробиоценоза влагалища рекомендуется количественное определение лактобацилл. При наличии в анамнезе вагинальных инфекций, а также акушерских и гинекологических осложнений имеет значение дифференциация лактобацилл до вида. Доминирование *L. crispatus* свидетельствует о стабильности вагинального микробиоценоза; при АВ и БВ наблюдается значительное снижение *L. crispatus*, *L. jensenii* и *L. vaginalis*, а для КВВ характерны преобладание *L. gasseri* и *L. vaginalis*.

3. Для объективной оценки локального воспалительного статуса рекомендуется использование теста на основе ОТ-ПЦР, позволяющего по профилю экспрессии мРНК генов врожденного иммунитета в отделяемом влагалища выявить наличие воспалительной реакции. Чувствительность и специфичность нового теста ИммуноКвантекс для оценки локальной воспалительной реакции во влагалище составили 100% и 87,5%, соответственно. При аэробном вагините чувствительность и специфичность теста ИммуноКвантэкс составляют 100%.

4. Метод ОТ-ПЦР для оценки воспалительной реакции выявляет изменение показателей врожденного иммунитета при дисбиотических нарушениях влагалищной микрофлоры, выражающееся в изменении профиля мРНК генов маркеров иммунного ответа, и рекомендован в случаях неэффективности проводимой терапии и высокой частоты рецидивирования БВ и других вагинальных инфекций, а также для дифференциальной диагностики различных вагинальных инфекций.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Необходимо дальнейшее изучение роли *L. iners* в составе микробиоты влагалища у женщин с физиологическим микробиоценозом и вагинальными инфекциями. Учитывая протективные свойства вида *L. crispatus*, перспективными представляются исследования по разработке пробиотических препаратов, содержащих данный вид лактобацилл. Применение валидированных нами тестов для видовой идентификации лактобацилл и оценки локального воспаления позволят исследовать особенности микробиоты влагалища при рецидивирующих случаях вагинальных инфекций и неудачах проводимой терапии, а также изучать механизмы возникновения осложнений, влияющих на женское репродуктивное здоровье.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

**Статьи в научных журналах и изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для опубликования основных результатов диссертационных работ по специальности 14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика**

1. **Будиловская О.В.**, Крысанова А.А., Шипицына Е.В., Переверзева Н.А., Воробьева Н.Е., Герасимова Е.Н., Григорьев А.Н., Савичева А.М. Диагностика вагинальных инфекций с учетом профиля лактобациллярной микрофлоры и локального иммунного ответа слизистой влагалища. Молекулярная медицина.-2020.-№3(18).-С. 56-64
2. **Будиловская О.В.**, Шипицына Е.В., Спасибова Е.В., Переверзева Н.А., Воробьева Н.Е., Цыпурдеева Н.Д., Григорьев А.Н., Савичева А.М. /Дифференциальная экспрессия генов местного иммунного ответа во влагалище: значение для диагностики вагинальных инфекций // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.*- 2019. Т. 168. №11, С. 588-592
3. **Будиловская О.В.**, Шипицына Е.В., Переверзева Н.А., Воробьева Н.Е., Спасибова Е.В., Григорьев А.Н., Савичева А.М. Сравнение методов оценки воспалительной реакции нижних отделов женского репродуктивного тракта. Журнал акушерства и женских болезней. 2018. Т. 67. № 5. С. 13-20.
4. **Будиловская О.В.**, Шипицына Е.В., Герасимова Е.Н., Сафронова М.М., Савичева А.М. Видовое разнообразие вагинальных лактобацилл в норме и при дисбиотических состояниях. Журнал акушерства и женских болезней. 2017. Т. 66. № 2. С. 24-32.
5. Шипицына Е.В., Хуснутдинова Т.А., Рыжкова О.С., Крысанова А.А., **Будиловская О.В.**, Рыбина Е.В., Воробьева Н.Е., Савичева А.М. Микробиологические, поведенческие и клинико-anamnestические предикторные факторы бактериального

вагиноза у женщин с выделениями из влагалища. Журнал акушерства и женских болезней. 2016. Т. 65. № 3. С. 32-42.

6. **Будиловская О.В.** Современные представления о лактобациллах влагалища женщин репродуктивного возраста. Журнал акушерства и женских болезней. 2016. Т. 65. № 4. С. 34-43.

7. Шипицына Е.В., Хуснутдинова Т.А., Рыжкова О.С., Крысанова А.А., **Будиловская О.В.**, Рыбина Е.В., Воробьева Н.Е., Савичева А.М., Гуцин А.Е. Сравнение эффективности диагностики бактериального вагиноза по клиническим признакам с результатами лабораторных исследований. Журнал акушерства и женских болезней. 2016. Т. 65. № 4. С. 76-82.

#### **Статьи в научных журналах, тезисы докладов в материалах конференций**

8. **Budilovskaya O.**, Shipitsina E., Spasibova E., Pereverzeva N., Vorobiova N., Tsyurdeeva N., Grigoryev A., Savicheva A. Differential expression of selected genes of local immune response in the vagina: implication for diagnosis of vaginal infections. Bull Exp Biol Med. 2020; Т. 168. №5. P. 646-650.

9. **Будиловская О.В.**, Крысанова А.А., Шипицына Е.В., Переверзева Н.А., Воробьева Н.Е., Герасимова Е.Н., Григорьев А.Н., Савичева А.М. Видовое разнообразие вагинальных лактобацилл и оценка мукозального иммунитета в диагностике вагинальных инфекций // Материалы Всероссийского конгресса по медицинской микробиологии, эпидемиологии, клинической микологии и иммунологии (XXIII Кашкинские чтения), СПб., 2020. – Проблемы медицинской микологии. Т.22 №3, с.55.

10. Shipitsyna E, Khusnutdinova T, **Budilovskaya O**, Krysanova A, Shalepo K, Savicheva A, Unemo M. /Bacterial vaginosis microflora is an age-independent risk factor for *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium* and *Trichomonas vaginalis* infections in a case-control study among low-risk women in St. Petersburg, Russia // *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2020

11. **Будиловская О.В.**, Шипицына Е.В., Савичева А.М. Лактобациллы влагалища в норме и при дисбиотических состояниях. В сборнике: Молекулярная диагностика 2017 сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. 2017. С. 360-361.

12. Савичева А.М., Шипицына Е.В., Хуснутдинова Т.А., Крысанова А.А., **Будиловская О.В.**, Рыбина Е.В., Воробьева Н.Е. /Преступный дуэт. Частота выявления *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae* у женщин с выделениями из влагалища и их связь с бактериальным вагинозом// *StatusPraesens*, 2016, №3 [32], с. 122-128.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

АВ – аэробный вагинит

БВ – бактериальный вагиноз

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ГЭ – геном-эквивалент

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИВ – индекс воспаления

ИППП – инфекции, передаваемые половым путем

КВВ – кандидозный вульвовагинит

МАНК – методы амплификации нуклеиновых кислот

ОБМ – общая бактериальная масса

ОТ-ПЦР – обратнo-транскриптазная полимеразная цепная реакция

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РНК – рибонуклеиновая кислота

УПМ – условно патогенные микроорганизмы

ЭК – эпителиальные клетки

ПМЯЛ – полиморфно-ядерные лейкоциты

IUSTI – International Union against Sexually Transmitted Infections (Европейский Международный союз по борьбе с инфекциями, передаваемыми половым путем)

MALDI TOF MS – Matrix-Assisted Laser Ionization Time Of Flight Mass-Spectrometry (Матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация времяпролетная масс-спектрометрия)