УДК: 618.146-006.6-07-08

Н.А. Шмакова [1], Г.Н. Чистякова [1], И.В. Лаврентьева [2], И.Н. Кононова [3], И.И. Ремизова [1]

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЦЕНОЗА УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА ЖЕНЩИН С ВПЧ-АССОЦИИРОВАННЫМИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫМИ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫМИ ПОРАЖЕНИЯМИ ШЕЙКИ МАТКИ

[1] ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества», г. Екатеринбург, Российская Федерация;
[2] ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет», г. Екатеринбург, Российская Федерация;
[3] ООО Межрегиональный центр дополнительного профессионального образования, г. Екатеринбург, Российская Федерация

Резюме. ***Цель***. Выявить особенности микробиоценоза цервикального канала с видовой идентификацией лактобактерий у женщин с ВПЧ-ассоциированными плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями шейки матки. ***Материалы и методы***. Проведено обследование 80 пациенток репродуктивного возраста с ВПЧ-ассоциированными плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями шейки матки (SIL), не получавших на момент обследования местные и системные антибактериальные препараты. По результатам морфогистологического исследования биоптатов шейки матки данная когорта больных была разделена на две группы. В 1-ю группу включены 40 пациенток с CIN II и CIN III, что соответствует плоскоклеточным интраэпителиальным поражениям высокой степени (HSIL), 2-ю – 40 пациенток с CIN I, что соответствует плоскоклеточным интраэпителиальным поражениям низкой степени (LSIL). Группу сравнения (3-ю) составили 30 клинически здоровых женщин. Всем пациенткам было выполнено цитологическое исследование «жидкостным методом» по технологии BD SurePath, генотипирование вируса папилломы человека методом полимеразной цепной реакции (*6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59*), культуральное исследования микробиоценоза цервикального канала (методом MALDI — TOF масс-спектрометрия, в анализаторе VITEKMS), расширенная кольпоскопия. ***Заключение***. Установлено, что у всех женщин с ВПЧ-ассоциированными плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями шейки матки микрофлора цервикального канала характеризуется наличием *Gardnerella vaginalis*, а также снижением частоты обнаружения и количества лактобацилл, с присутствием факультативного анаэроба *Lactobacillus iners*. В структуре условно-патогенной микрофлоры продемонстрировано преобладание *Enterococcus faecalis* и *Escherichia coli* при HSIL, в то время как для LSIL — представителей группы энтерококков.

Ключевые слова: интраэпителиальная неоплазия шейки матки, папилломавирусная инфекция, дисбиоз

Конфликт интересов отсутствует.
Контактная информация автора, ответственного за переписку:
Шмакова Надежда Александровна
nadyushka.ru@yandex.ru
Дата поступления 25.09.2020 г.
Образец цитирования:
Шмакова Н.А., Чистякова Г.Н, Лаврентьева И.В., Кононова И.Н., Ремизова И.И. Микробиоценоз урогенитального тракта женщин с ВПЧ-ассоциированными плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями шейки матки. http://vestnikural.ru/article/1141. [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2020, Том 17, №3, с. 221–232, DOI: 10.22138/2500-0918-2020-17-3-221-232

В течение уже не одного десятилетия плоскоклеточные интраэпителиальные поражения шейки матки являются довольно распространенной патологией, занимая до 38,8% в структуре гинекологических заболеваний [1, 2, 3], при этом, согласно официальным данным, частота плоскоклеточных интраэпителиальных поражений низкой степени колеблется в пределах 1,5-7,7%, высокой — 0,4-1,5% в зависимости от популяции [3, 4, 5].

Неоспоримым является факт высокого риска прогрессирования SIL с развитием рака шейки матки (РШМ), заболеваемость которым в Российской Федерации по состоянию на 2018 г. составляет 124 случая на 100 тыс.

женщин в структуре онкопатологии. При этом среднегодовой темп прироста за последнее десятилетие — 2,06%, в то время как показатели смертности — 8,13 на 100 тыс. женщин в год, с регистрацией максимальных показателей в возрасте 15-39 лет [6]. Таким образом, в настоящее время пик заболеваемости не только SIL, но и РШМ приходится на репродуктивный возраст, демонстрируя тенденцию к «омоложению».

Накопленные данные позволяют утверждать, что основная роль в развитии SIL и далее их онкотрансформации, принадлежит вирусу папилломы человека (ВПЧ) [7, 8, 9]. При этом показатели мировой статистики свидетельствуют, что 9% всех новых случаев РШМ у женщин связаны именно с ВПЧ-инфекцией [10, 11].

Следует учитывать, что онкогенный потенциал ВПЧ реализуется лишь при наличии определенных условий в организме. При этом в роли конфаундинга могут выступать как соматические, так и иммунологические предикторы, способствующие изменению клеточной структуры цервикального эпителия [12].

Однако, в литературе имеются данные, что кроме ВПЧ в развитии предрака и рака шейки матки лежат гиперпластические процессы в цервикальном эпителии, торможение или снижение активности процессов апоптоза, эпигенетические мутации и дисбаланс метаболитов эстрогенов [13, 14].

В этой связи немаловажными являются данные литературы, свидетельствующие о тесной связи хронического воспаления шейки матки, вне зависимости от вирусной или бактериальной природы, с развитием и онкотрансформацией SIL [15, 16, 17, 18]. В результате этого возникает локальная тканевая гипоксия, приводящая к формированию оксидативного стресса, вызывая тем самым запуск эпигенетических мутаций [19]. Это в конечном итоге провоцирует пролиферативные процессы в цервикальном эпителии с высоким риском исхода в неопластический и безусловно определяет целесообразность оценки состава микрофлоры цервикального канала при ВПЧ-ассоциированных цервикальных интраэпителиальных неоплазиях.

Однако, несмотря на достаточно широкие знания в понимании нюансов механизма развития данного процесса, наблюдается недостаточная эффективность применяемой терапии, что приводит к прогрессированию или рецидивированию плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки после лечения [13, 20].

Таким образом, понимая эпидемиологическую обстановку, высокий риск онкотрансформации интраэпителиальных поражений шейки матки, нельзя не принять во внимание и другие факторы, участвующие в формировании данной патологии, что в свою очередь и актуализирует изучение особенностей микробиоценоза урогенитального тракта.

Цель исследования

Выявить особенности микробиоценоза цервикального канала с видовой идентификацией лактобактерий у женщин с ВПЧ-ассоциированными плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями шейки матки.

Материал и методы

Выполнено обследование 80 пациенток с ВПЧ-ассоциированными плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями шейки матки, которые в зависимости от степени неопластического процесса были разделены на две группы. В 1 группу включены 40 пациенток с CIN II и CIN III, что соответствует плоскоклеточным интраэпителиальным поражениям высокой степени (HSIL), во 2 группу — 40 пациенток с CIN I, что соответствует плоскоклеточным интраэпителиальным поражениям низкой степени (LSIL). Группу сравнения (3-ю) составили 30 условно здоровых женщин. Средний возраст пациенток в 1-й, 2-й и 3-й группах был сопоставим –30,3±0,97, 28,7±0,87 и в 3-й 29,3±1,16 лет, соответственно ($p>0,05$ во всех случаях). Критериями включения в исследование являлись: наличие ВПЧ-ассоциированных плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки, репродуктивный возраст женщин (18-45лет), отсутствие применения местных и системных антибактериальных препаратов в течение 1 месяца до исследования, письменное информированное согласие пациенток на участие в исследовании.

Всем пациенткам было выполнено цитологическое исследование «жидкостным методом» по технологии BD SurePath, генотипирование вируса папилломы человека методом полимеразной цепной реакции (*6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59*), микробиологическое (культуральное) исследование микробиоценоза цервикального канала на аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы с определением чувствительности к расширенному спектру антибиотиков и бактериофагам, а также оценкой видового состава лактобацилл (методом MALDI — TOF масс-спектрометрия, в анализаторе VITEKMS), расширенная кольпоскопия. Забор материала производился из цервикального канала зондом-тампоном с помещением в eSwab-контейнер, с общим временем хранения и транспортировки до лаборатории не более 24 часов. Результат выражался в КОЕ /образец.

Полученные в результате исследования данные обработаны с использованием таблицы Microsoft Excel 2010 и стандартных пакетов программ (SPSS 23.0, STATISTICA for Windows 10). Анализ статистической значимости различий качественных и количественных признаков проведен с помощью критерия χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса. Статистически значимыми принимались различия при $p\leq0,05$. Для оценки взаимосвязи между показателями определялся коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Учитывали корреляционные отношения

признаков, соответствующие только средней (0,7≥r≥0,5) и высокой (r≥0,7) степеням связи при уровне достоверности p≤0,05 — 0,00.

Результаты и обсуждение

При проведении расширенной кольпоскопии анализ типа зоны трансформации у обследованных пациенток выявил ряд особенностей. Значительно реже ЗТ 1 типа наблюдалась у пациенток HSIL (67,5%, 27 женщин) по сравнению с аналогичным показателем при LSIL (87,5%, 35 женщин). Выявленные показатели свидетельствовали о глубоком поражении шейки матки при незначительных видимых изменениях или практически неизмененном экзоцервиксе, что подтверждает его вспомогательное значение.

При оценке распространенности типов ВПЧ-инфекции у пациенток с SIL, вошедших в исследование, выявлено превалирование 16 генотипа. На втором месте обнаруживался 33 тип, что не противоречит общеизвестным данным. Более чем у 10% больных выявлялись генотипы вируса папилломы человека: 18, 31, 39, 45, 52. Частота обнаружения других типов была менее 10% (35, 51, 56, 58, 59 типы).

При проведении микробиологического исследования в структуре микробиоценоза цервикального канала при SIL преобладали условно-патогенные микроорганизмы в 82,5% и 80,0% в 1-й и 2-й группах, в сравнении с 10% женщин 3-й группы (χ^2=33,2 при p=0,001, χ^2=30,9 при p=0,001 соответственно). Практически у половины пациенток наличие условно-патогенной микрофлоры (УПМ) сочеталось с лактобактериями у 17 (42,5%) при HSIL и 20 (50%) при LSIL. Однако полное отсутствие каких-либо микроорганизмов диагностировано в 1-й группе у 7 (17,5%) и 2-й у 8 (20%) женщин.

Структура условно-патогенной микрофлоры была представлена следующим спектром микроорганизмов — *Enterococcus faecalis, Escherichia coli, Streptococcus agalactiae, Klebsiella pneumoniae, Streptococcus epidermidis, Candida albicans* (рис. 1).

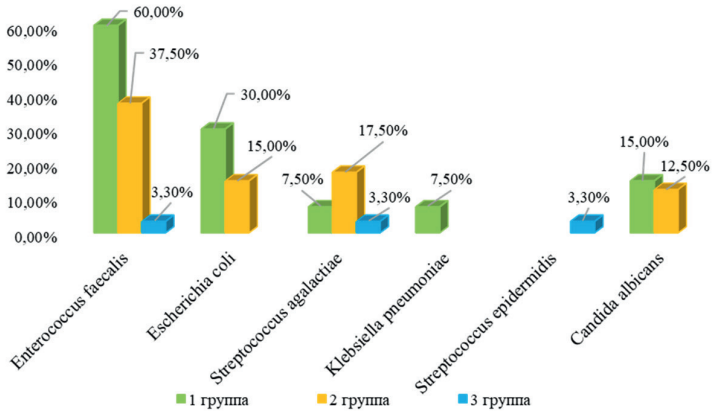


Рис. 1. Частота встречаемости условно-патогенных представителей микробиоценоза цервикального канала у обследованных пациенток

Характеристика условно-патогенных бактерий по частоте их встречаемости демонстрировала преобладание *Enterococcus faecalis* как при плоскоклеточных интраэпителиальных поражениях высокой 24 (60%) (4,9±0,16 lg КОЕ/образец), так и низкой степени 15 (37,5%) (4,7±0,15 lg КОЕ/образец), статистически значимо относительно группы сравнения (χ^2=21,6 при p=0,001, χ^2=9,5 при p=0,003 соответственно). *Escherichia coli* (4,9±0,16 lg КОЕ/образец) определялась у 12 (30%) пациенток с HSIL, что являлось значимым относительно здоровых женщин, где данный микроорганизм отсутствовал (χ^2=8,9 при p=0,003). У контингента больных с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями низкой степени данный представитель УПМ обнаруживался у каждой седьмой женщины 6 (15,0%), однако достоверных различий, как с группой сравнения (p=0,074), так и относительно HSIL (p=0,18) не выявлено. Streptococcus agalactiae регистрировался у 7 (17,5%) пациенток LSIL (3,4±0,36 lg КОЕ/образец) и 3 (7,5%) женщин с HSIL (2,3±0,15 lg КОЕ/образец), (p=0,14 при LSIL и p=0,82 при HSIL). Вариант ассоциации роста *Enterococcus faecalis* и *Escherichia coli* отмечался при плоскоклеточных интраэпителиальных поражениях высокой степени у 11 (27,5%) и низкой степени у 5 (12,5%) больных (p_{1-2}>0,05). *Klebsiella pneumonia* (3,7±0,34 lg КОЕ/образец), присутствовала только у пациенток с LSIL 3 (7,5%), а *Streptococcus epidermidis* у одной (3,3%) женщины из группы сравнения.

Обнаружение дрожжеподобных грибов рода *Candida albicans* отмечалось только у больных с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями вне зависимости от степени: в 1-й группе — 4,5±0,22 lg КОЕ/образец и 2-й — 4,6±0,24 lg КОЕ/образец, с частотой определения 15% и 12,5% случаев, против 0% в группе сравнения.

В составе цервикальной микрофлоры, у 37 пациенток с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями и у всех из группы сравнения присутствовали лактобациллы. Колонизация лактобактериями составила

в 1-й группе 2,9±0,08 lg КОЕ/образец, 2-й — 3,1±0,17 lg КОЕ/образец и 3-й — 6,3±0,09 lg КОЕ/образец, имея достоверные различия между собой ($p_{1-3, 2-3}$=0,00). Видовой состав лактобацилл был представлен: *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus crispatus, Lactobacillus gasseri, Lactobacillus jensenii, Lactobacillus iners* (рис. 2). Установлено, что у пациенток с SIL, вне зависимости от степени, факультативный анаэроб Lactobacillus iners регистрировался у 13 (27,5%) при HSIL и у 12 (30%) при LSIL, что являлось значимым относительно группы сравнения (χ^2=9,9 при p=0,002, χ^2=8,9 при p=0,003 соответственно), с ростом 6,1±0,09 lg КОЕ/образец и 5,1±0,24 lg КОЕ/образец соответственно. Частота встречаемости *Gardnerella vaginalis* в концентрации ≥10^4 КОЕ/образец не отличались от *L. iners*. Определена сильная положительная корреляционная связь между данными микроорганизмами (r=+0,84 при p=0,001). Пероксидпродуцирующие лактобациллы также присутствовали у исследуемого контингента больных, однако достоверно реже (10% и 20% в 1-й и 2-йгруппах, $p_{1-3, 2-3}$=0,001) и степень выраженности их колонизации была заметно ниже (10^2-10^3 КОЕ/образец) относительно группы сравнения (≥10^6 КОЕ/образец). Lactobacillus crispatus встречалась во всех группах, с преобладанием роста в группе сравнения (1-й — 2,3±0,33 lg КОЕ/образец, 2-й — 2,5±0,5 lg КОЕ/образец, 3-й — 6±0 lg КОЕ/образец, $p_{1-3, 2-3}$<0,0001), в то время как *Lactobacillus jensenii* (6,1±0,09 lg КОЕ/образец) и *Lactobacillus acidophilus* (5,3±0,32 lg КОЕ/образец) только у здоровых женщин. Полученные данные были значимыми относительно группы сравнения, где *Lactobacillus iners* не диагностирована и рост пероксидродуцирующих лактобактерий отмечался в пределах нормативных показателей (≥106 КОЕ/образец).

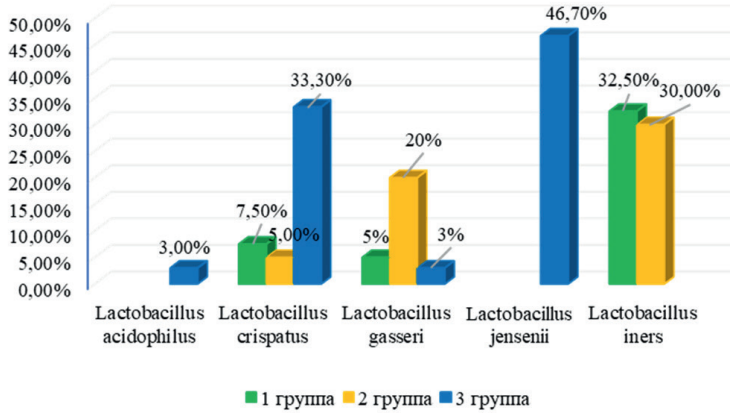


Рис. 2. Оценка видового состава лактобацилл

Таким образом, установлено, что у всех женщин с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями шейки матки наблюдались дисбиотические сдвиги цервикальной микрофлоры, характеризующиеся преобладанием роста условно-патогенных микроорганизмов вне зависимости от их количественного содержания, что подтверждает имеющиеся мнения о прогрессировании цервикального неопластического процесса на фоне нарушений цервико-вагинального микробиоценоза [17, 24].

В структуре условно-патогенной микрофлоры продемонстрировано преобладание *Enterococcus faecalis* и *Escherichia coli* при HSIL, в то время как для LSIL статистически значимым был рост только представителя группы энтерококков. Полученные результаты подтверждают связь хронического воспаления шейки матки, вне зависимости от вирусной или бактериальной природы, с развитием и онкотрансформацией SIL [15, 16, 17, 18]. Однако статистика по анализу УПМ данной локализации на сегодняшний день пока широко не представлена.

Более 10 лет в мире проводятся исследования, целью которых является поиск параллелей между ВПЧ-ассоциированными плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями шейки матки и нарушениями микробиоценоза урогенитального тракта. К настоящему времени, по результатам многочисленных мета-анализов, выявлена достаточно четкая связь с анаэробным дисбиозом, ассоциированным с *Gardnerella vaginalis.* При этом был доказан риск не только инфицирования, но и персистенции ПВИ и развития SIL [22, 23].

Особый интерес представляют результаты нашего исследования относительно видового состава лактобактерий. Кроме снижения частоты обнаружения и количества лактобацилл, выявлено статистически значимое присутствие *Lactobacillus iners*. Являясь факультативно анаэробной палочковидной бактерией, она проявляет агрессивные свойства, нетипичные для нормальной микрофлоры, разрушая клетки цервикального эпителия, что в свою очередь нарушает активацию Toll-подобных рецепторов (TLR) на их поверхности. При этом известно, что одна из функций лактофлоры — активация рецепторов TLR-1, 2, 6, 7, 8 эпителиальных клеток, распознающих как вирусы, так и бактерии для выработки провоспалительных цитокинов, контролирующих размножение нежелательной микрофлоры [11].

Выводы

1. В структуре условно-патогенной микрофлоры цервикального канала у женщин с ВПЧ-ассоциированными плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями шейки матки преобладают *Enterococcus faecalis* и *Escherichia coli.*

2. Отличительной особенностью микробиоценоза женщин с ВПЧ-ассоциированными плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями шейки матки является снижение частоты обнаружения и количества лактобацилл с присутствием факультативного анаэроба *Lactobacillus iners*.

Таким образом, выявленные нарушения цервикального микробиоценоза определяют необходимость дальнейшего более детального изучения данного вопроса, включая идентификацию видового состава лактобактерий у пациенток с SIL.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аксель Е. М. Заболеваемость и смертность от злокачественных новообразований органов женской репродуктивной системы в России. Онкогинекология. 2015; 1: 6 – 15.

2. Давыдов М. И., Максимович Д.И., Заридзе Д.Г. Динамика заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований в России. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2015; 26: 1–5.

3. Benard V.B, Castle P.E, Jenison SA. For the New Mexico HPV Pap Registry Steering Committee Population-Based Incidence Rates of Cervical Intraepithelial Neoplasia in the Human Papillomavirus Vaccine Era. JAMA Oncol. 2017; 3(6): 833-837.

4. Sanad A.S., Kamel H.H., Hasan M.M.. Prevalence of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) in patients attending Minia Maternity University Hospital. Arch Gynecol Obstet. 2014 Jun.; 289(6): 1211-1217.

5. Shahida S.M., Lipi L.B., Rifat J.A., Kutubi A., Haq K. [et al.] Prevalence of Cervical Intraepithelial Neoplasia in four Upazila of Dhaka Division. Mymensingh Med J. 2019 Jul.; 28(3): 655-656.

6. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). / А.Д. Каприн, В.В. Старинский, Г.В. Петрова, ред. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена - филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России; 2019.

7. Gravitt, P.E., Winer R.L. Natural History of HPV Infection across the Lifespan: Role of Viral Latency. Viruses. 2017; 9(267): 2-10.

8. Bird Y., Obidiya O., Mahmood R. [et al.] Human Papillomavirus Vaccination Uptake in Canada: A Systematic Review and Meta-analysis. International J Preventive Medicine. 2017; 14(8): 71.

9. Vargas – Hernández V. M., Vargas – Aguilar V. M, J. M. Tovar - Rodríguez J. M., Vargas – Hernández V. M. Primary cervical cancer screening. Cir Cir. 2015; 83(5): 448 - 453.

10. Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году. / А.Д. Каприн, В.В. Старинский, Г.В. Петрова, ред. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ НМИЦР; 2017.

11. Тихомиров А.Л., Сарсания С.И., Филатова Г.А. Вирус папилломы человека: от понимания иммунопатогенеза к рациональной тактике ведения. Гинекология. 2018. 20(3): 5–11.

12. Радзинский В.Е., Ордиянц И.М., Бебнева Т.Н. Борьба с ВПЧ: многие границы единой задачи. – М.: Редакция журнала StatusPraesens; 2018.

13. Ашрафян Л. А., Киселёв В. И., Алешикова О. И., Пономарева Ю. В. [и др.] Результаты консервативной терапии пациенток с цервикальной интраэпителиальной неоплазией I-II степени (CIN I-II). Акушерство и гинекология. 2015; 12.

14. Бебнева Т.Н., Муйжнек Е.Л., Роговская С.И., Киселев В.И., Ашрафян Л.А. Патогенетическое лечение неопластических процессов шейки матки: новые подходы. ДокторРу. 2016; 3: 9-14.

15. Белокриницкая Т.Е., Фролова Н.И., Тарбаева Д.А. [и др.] Ассоциации генитальных инфекций и вируса папилломы человека как конфаундинг-факторы цервикальной интраэпителиальной неоплазии. ДокторРу. 2015; 2(12): 14–17.

16. Краснопольский В.И., Зароченцева Н.В, Микаелян А.В [и др.] Роль папилломавирусной инфекции в патологии беременности и исходе для новорожденного (современные представления). Российский вестник акушера-гинеколога. 2016; 16(2): 30 – 36.

17. Пестрикова Т.Ю., Панфилова Ю.О. Чувствительность патогенной микрофлоры цервикального канала к антибактериальным препаратам у пациенток с хроническим цервицитом и ВПЧ. Гинекология. 2015; 7(1): 18 – 21.

18. Reid G., Hons B.S. Modulating the Vaginal Microbiome: The Need for a Bridge between Science and Practice. Semin Reprod Med. 2014; 32(1): 28–34.

19. Караулов А.В., Афанасьев С.С., Алёшкин В.А. Роль микробиоценозов и врожденного иммунитета в мукозальных защитных реакциях и развитии воспаления. Физиология и патология иммунной системы. Иммунофармакогеномика. Российский иммунологический журнал. 2013; 17(4): 3-10.

20. Шейка матки, влагалище, вульва. Физиология, патология, кольпоскопия, эстетическая коррекция: руководство для практикующих врачей. / С.И. Роговская, Е.В. Липова, ред. М.: изд-во журнала StatusPraesens; 2014.
21. Руководство по амбулаторно-поликлинической помощи в акушерстве и гинекологии. / В.Е. Радзинский, ред. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2016.
22. Буданов П.В., Чурганова А.А, Бахтияров К.Р. Папилломавирусная инфекция: эффективность лечения инозином пранобексом. Гинекология. 2015; 17(6): 56–59.
23. Рецидивы бак. вагиноза и лактофлора: от актуальной неоднозначности к практическим решениям. / В.Е. Радзинский, ред. М.: Status Praesens; 2013.
24. Kawai T., Akira S. Toll-like receptors and their crosstalk with otherinnate receptors in infection and immunity. Immunity. 2011; 34: 637–50.

Авторы
Шмакова Надежда Александровна
ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России
Аспирант, врач акушер-гинеколог первой категории
Российская Федерация, 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина,1
nadyushka.ru@yandex.ru

Чистякова Гузель Нуховна
ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России РФ
Доктор медицинских наук, профессор, руководитель отделения иммунологии, микробиологии, патоморфологии и цитодиагностики
Российская Федерация, 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина,1
7@niiomm.ru

Лаврентьева Инна Вадимовна
ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Кандидат медицинских наук, доцент, кафедра акушерства и гинекологии ФПК и ПП и педиатрического факультета
Российская Федерация, 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина,3
lavr6607@bk.ru

Кононова Ирина Николаевна
ООО «Межрегиональный центр дополнительного профессионального образования»
Доктор медицинских наук, заместитель директора
Российская Федерация, 620075, г. Екатеринбург, ул. Ленина, 52 / 3А
irkonmed@mail.ru

Ремизова Ирина Ивановна
ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России РФ
Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отделения иммунологии, микробиологии, патоморфологии и цитодиагностики
Российская Федерация, 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина,1
RemizovaII@yandex.ru

N.A. Shmakova [1], G.N. Chistjakova [1], I.V. Lavrent'eva [2], I.N. Kononova [3], I.I. Remizova [1]

PECULIARITIES OF MICROBIOCENOSIS OF THE UROGENITAL TRACT OF WOMEN WITH HPV-ASSOCIATED SQUAT CELLULAR INTRAEPITELIAL LESIONS OF THE UTERINE CERVIX

[1] FGBU «Ural research Institute for maternal and infant health», Yekaterinburg, Russian Federation;
[2] «Ural State Medical University», Yekaterinburg, Russian Federation;
[3] LLC interregional center of additional professional education, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. ***Objective***: To reveal the features of the microbiocenosis of the cervical canal with the species identification of lactobacilli in women with HPV-associated squamous intraepithelial lesions of the cervix. ***Materials and methods***: A survey of 80 patients of reproductive age with HPV-associated squamous intraepithelial lesions of the cervix (SIL), who had not received local and systemic antibacterial drugs at the time of the examination, was carried out. According to the results of morphohistological examination of cervical biopsies, this cohort of patients was divided into two groups. Group 1 included 40 patients with CIN II and CIN III, which corresponds to High-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL), group 2 — 40 patients with CIN I, which corresponds to Low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL). The comparison group (3rd) consisted of 30 clinically healthy women. All patients underwent a cytological study by the «liquid method» BD SurePath technology, genotyping of the human papillomavirus by the polymerase chain reaction method (*6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59*), cultural studies of the microbiocenosis of the cervical canal (by the MALDI method — TOF mass spectrometry, in the VITEKMS analyzer), extended colposcopy. ***Conclusion***. It was found that in all women with HPV-associated squamous intraepithelial lesions of the cervix, the microflora of the cervical canal is characterized by the presence of *Gardnerella vaginalis*, as well as a decrease in the detection rate and number of lactobacilli, with the presence of the facultative anaerobe Lactobacillus iners. In the structure of opportunistic microflora, the predominance of *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli* was demonstrated in HSIL, while for LSIL, representatives of the enterococcus group.

Keywords: intraepithelial neoplasia of the cervix, papillomavirus infection, dysbiosis

There is no conflict of interest.
Contact details of the corresponding author:
Shmakova Nadezhda Aleksandrovna
nadyushka.ru@yandex.ru
Received 25.09.2020
For citation:
Shmakova N.A., Chistjakova G.N., Lavrent'eva I.V., Kononova I.N., Remizov I.I.
Peculiarities of microbiocenosis of the urogenital tract of women with HPV-associated squat cellular intraepitelial lesions of the uterine cervix. Url: http://vestnikural.ru/article/1141. [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2020, Vol. 17, no. 3, pp. 221–232. DOI: 10.22138/2500-0918-2020-17-3-221-232 (In Russ)

For more than one decade, squamous intraepithelial lesions of the cervix have been a fairly common pathology, occupying up to 38.8% in the structure of gynecological diseases [1, 2, 3], while according to official data, the frequency of squamous intraepithelial lesions of a low degree ranges from 1, 5-7.7%, high — 0.4-1.5%, depending on the population [3, 4, 5].

The undeniable fact is the high risk of SIL progression with the development of cervical cancer (CC), the incidence of which in the Russian Federation as of 2018. is 124 cases per 100 thousand women in the structure of oncopathology. At the same time, the average annual growth rate over the last decade is 2.06%, while the mortality rate is 8.13 per 100 thousand women per year, with the maximum rates recorded at the age of 15-39 years [6]. Thus, at present, the peak incidence of not only SIL, but also cervical cancer occurs at reproductive age, showing a tendency towards "rejuvenation".

The accumulated data suggest that the main role in the development of SIL and further their oncotransformation belongs to the human papillomavirus (HPV) [7, 8, 9]. At the same time, world statistics show that 9% of all new cases of cervical cancer in women are associated with HPV infection [10, 11].

It should be borne in mind that the oncogenic potential of HPV is realized only in the presence of certain conditions in

the body. In this case, both somatic and immunological predictors that contribute to changes in the cellular structure of the cervical epithelium can act as confounding [12].

However, there is evidence in the literature that, in addition to HPV, the development of precancer and cervical cancer is associated with hyperplastic processes in the cervical epithelium, inhibition or decreased activity of apoptosis processes, epigenetic mutations and imbalance of estrogen metabolites [13, 14].

In this regard, literature data are important, indicating a close relationship between chronic inflammation of the cervix, regardless of viral or bacterial nature, with the development and oncotransformation of SIL [15, 16, 17, 18]. As a result, local tissue hypoxia occurs, leading to the formation of oxidative stress, thereby triggering the triggering of epigenetic mutations [19]. Ultimately, this provokes proliferative processes in the cervical epithelium with a high risk of outcome in the neoplastic and certainly determines the feasibility of assessing the composition of the microflora of the cervical canal in HPV-associated cervical intraepithelial neoplasias.

However, despite the fairly broad knowledge in understanding the nuances of the mechanism of development of this process, there is insufficient effectiveness of the therapy used, which leads to the progression or recurrence of squamous intraepithelial lesions of the cervix after treatment [13, 20].

Thus, understanding the epidemiological situation, the high risk of oncotransformation of intraepithelial lesions of the cervix, one cannot but take into account other factors involved in the formation of this pathology, which in turn actualizes the study of the features of the microbiocenosis of the urogenital tract.

Purpose of the study

To reveal the peculiarities of the microbiocenosis of the cervical canal with the species identification of lactobacilli in women with HPV-associated squamous intraepithelial lesions of the cervix.

Material and methods

A survey of 80 patients with HPV-associated squamous intraepithelial lesions of the cervix was performed, which, depending on the degree of the neoplastic process, were divided into two groups. Group 1 included 40 patients with CIN II and CIN III, which corresponds to high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL), group 2 — 40 patients with CIN I, which corresponds to low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL). The comparison group (3rd) consisted of 30 conventionally healthy women. The average age of patients in the 1st, 2nd and 3rd groups was comparable - 30.3±0.97, 28.7±0.87 and in the third 29.3±1.16 years, respectively ($p>0.05$ in all cases). The inclusion criteria for the study were: the presence of HPV-associated squamous cell intraepithelial lesions of the cervix, the reproductive age of women (18-45 years), the absence of the use of local and systemic antibacterial drugs within 1 month before the study, written informed consent of the patients to participate in the study.

All patients underwent a cytological study by the «liquid method» using the BD SurePath technology, genotyping of the human papillomavirus by the polymerase chain reaction method (*6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59*), microbiological (cultural) study of the microbiocenosis of the cervical canal for aerobic and facultative anaerobic microorganisms with the determination of sensitivity to an extended spectrum of antibiotics and bacteriophages, as well as an assessment of the species composition of lactobacilli (by the MALDI method - TOF mass spectrometry, in the VITEKMS analyzer), extended ... The material was taken from the cervical canal with a swab probe and placed in an eSwab container, with a total storage and transportation time to the laboratory of no more than 24 hours. The result was expressed in CFU / sample.

The data obtained as a result of the study were processed using a Microsoft Excel 2010 spreadsheet and standard software packages (SPSS 23.0, STATISTICA for Windows 10). The analysis of the statistical significance of differences in qualitative and quantitative features was carried out using the Pearson χ^2 test with Yates' correction. Differences were considered statistically significant at $p\leq0.05$. To assess the relationship between the indicators, the Spearman's rank correlation coefficient was determined. The correlation ratios of features were taken into account, corresponding only to the average ($0.7\geq r\geq0.5$) and high ($r\geq0.7$) degrees of connection at a confidence level of $p \leq 0.05$ - 0.00.

Results and discussion

During extended colposcopy, analysis of the type of transformation zone in the examined patients revealed a number of features. Significantly less often type 1 substitution therapy was observed in HSIL patients (67.5%, 27 women) compared to the same indicator in LSIL (87.5%, 35 women). The revealed indicators indicated a deep lesion of the cervix with insignificant visible changes or practically unchanged exocervix, which confirms its auxiliary value.

When assessing the prevalence of types of HPV infection in patients with SIL included in the study, the prevalence of genotype 16 was revealed. In second place, 33 types were found, which does not contradict well-known data. More than 10% of patients had human papillomavirus genotypes: *18, 31, 39, 45, 52*. The frequency of detection of other types was less than 10% (*35, 51, 56, 58, 59* types).

When conducting a microbiological study in the structure of the microbiocenosis of the cervical canal with SIL,

opportunistic microorganisms predominated in 82.5% and 80.0% in the 1st and 2nd groups, in comparison with 10% of women in the 3rd group (χ^2=33, 2 at p=0.001, χ^2=30.9 at p=0.001, respectively). In almost half of the patients, the presence of opportunistic microflora (UPM) was combined with lactobacilli in 17 (42.5%) patients with HSIL and 20 (50%) with LSIL. However, the complete absence of any microorganisms was diagnosed in the 1st group in 7 (17.5%) and the 2nd in 8 (20%) women.

The structure of opportunistic microflora was represented by the following spectrum of microorganisms — *Enterococcus faecalis, Escherichia coli, Streptococcus agalactiae, Klebsiella pneumoniae, Streptococcus epidermidis, Candida albicans* (Fig. 1)

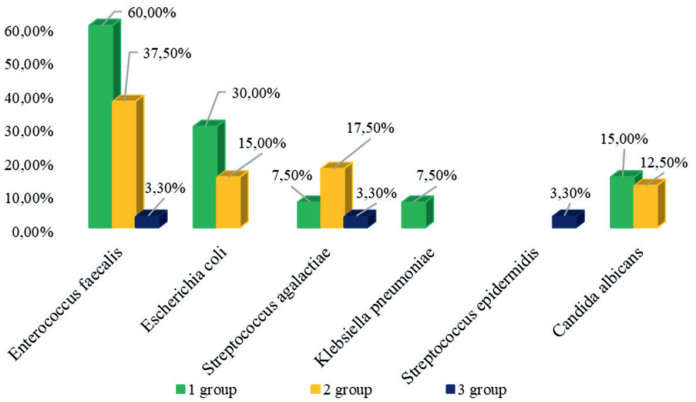


Fig. 1. Frequency of occurrence of opportunistic representatives of microbiocenosis of the cervical canal in the examined patients

The characteristic of opportunistic bacteria in terms of their frequency of occurrence demonstrated the predominance of Enterococcus faecalis, both in squamous intraepithelial lesions of high 24 (60%) (4.9±0.16 lg CFU / sample) and low degree 15 (37.5%) (4.7±0.15 lg CFU / sample), statistically significant relative to the comparison group (χ^2=21.6 at p=0.001, χ^2=9.5 at p=0.003, respectively). Escherichia coli (4.9±0.16 lg CFU / sample) was detected in 12 (30%) patients with HSIL, which was significant relative to healthy women, where this microorganism was absent (χ^2=8.9 at p=0.003). In the contingent of patients with low-grade squamous intraepithelial lesions, this representative of the UPM was found in every seventh woman 6 (15.0%), however, there were significant differences both with the comparison group (p=0.074) and with respect to HSIL (p=0.18) not found. Streptococcus agalactiae was recorded in 7 (17.5%) LSIL patients (3.4±0.36 lg CFU / sample) and 3 (7.5%) women with HSIL (2.3±0.15 lg CFU / sample), (p=0.14 with LSIL and p=0.82 with HSIL). A variant of the association between the growth of Enterococcus faecalis and Escherichia coli was observed in high-grade squamous intraepithelial lesions in 11 (27.5%) and low-grade in 5 (12.5%) patients (p_{1-2}>0.05). Klebsiella pneumonia (3.7±0.34 lg CFU / sample) was present only in patients with LSIL 3 (7.5%), and Streptococcus epidermidis in one (3.3%) woman from the comparison group.

Detection of yeast-like fungi of the genus Candida albicans was noted only in patients with squamous intraepithelial lesions, regardless of the degree: in group 1 — 4.5±0.22 lg CFU / sample and in group 2 — 4.6±0.24 lg CFU / sample, with a detection frequency of 15% and 12.5% of cases, versus 0% in the comparison group.

As part of the cervical microflora, 37 patients with squamous intraepithelial lesions and all of the comparison group had lactobacilli. Colonization with lactobacilli was 2.9±0.08 lg CFU / sample in group 1, 3.1±0.17 lg CFU / sample in group 2, and 6.3±0.09 lg CFU / sample in group 3. sample, having significant differences between themselves ($p_{1-3, 2-3}$=0.00). The species composition of lactobacilli was presented: Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus crispatus, Lactobacillus gasseri, Lactobacillus jensenii, Lactobacillus iners (Fig. 2). It was found that in patients with SIL, regardless of the degree, facultative anaerobic Lactobacillus iners was recorded in 13 (27.5%) with HSIL and 12 (30%) with LSIL, which was significant relative to the comparison group (χ^2=9.9 at p=0.002, χ^2=8.9 at p=0.003, respectively), with an increase of 6.1±0.09 lg CFU / sample and 5.1±0.24 lg CFU / sample, respectively. The incidence of *Gardnerella vaginalis* at a concentration of ≥10^4CFU / sample did not differ from *L. iners*. A strong positive correlation was determined between these microorganisms (r=+0.84 at p=0.001). Peroxide-producing lactobacilli were also present in the studied contingent of patients, however, significantly less frequently (10% and 20% in groups 1 and 2, $p_{1-3, 2-3}$=0.001) and the degree of their colonization was noticeably lower (10^2-10^3 CFU / sample) relative to the comparison group (≥106 CFU / sample). *Lactobacillus crispatus* was found in all groups, with a predominance of growth in the comparison group (1st — 2.3±0.33 lg CFU / sample, 2nd — 2.5±0.5 lg CFU / sample, 3rd — 6±0 lg CFU / sample, $p_{1-3, 2-3}$ <0.0001), while Lactobacillus jensenii (6.1±0.09 lg CFU / sample) and *Lactobacillus acidophilus* (5.3±0, 32 lg CFU / sample) only in healthy women. The data obtained were significant relative to the comparison group, where Lactobacillus iners was not diagnosed and the growth of peroxidizing lactobacilli was observed within the normative values (≥10^6 CFU / sample).

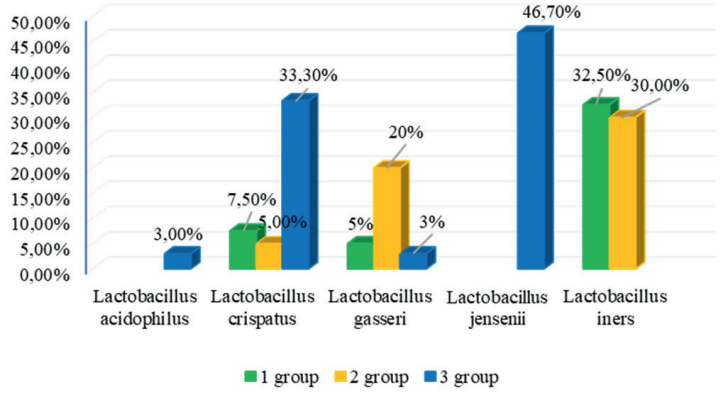


Fig. 2. Assessment of the species composition of lactobacilli

Thus, it was found that in all women with squamous intraepithelial lesions of the cervix, dysbiotic shifts in the cervical microflora were observed, characterized by the predominance of the growth of opportunistic microorganisms, regardless of their quantitative content, which confirms the existing opinions about the progression of the cervical neoplastic process against the background of violations of the cervico-vaginal microbiocenosis [17, 24].

In the structure of opportunistic microflora, the predominance of *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli* in HSIL was demonstrated, while for LSIL, the growth of only a representative of the enterococcus group was statistically significant. The results obtained confirm the relationship of chronic inflammation of the cervix, regardless of the viral or bacterial nature, with the development and oncotransformation of SIL [15, 16, 17, 18]. However, statistics on the analysis of the UPM of this localization are not yet widely presented.

For more than 10 years, research has been carried out in the world, the purpose of which is to find parallels between HPV-associated squamous cell intraepithelial lesions of the cervix and disorders of the microbiocenosis of the urogenital tract. To date, according to the results of numerous meta-analyzes, a fairly clear connection with anaerobic dysbiosis associated with Gardnerella vaginalis has been revealed. At the same time, the risk of not only infection, but also the persistence of PVI and the development of SIL has been proven [22, 23].

The results of our research on the species composition of lactobacilli are of particular interest. In addition to a decrease in the frequency of detection and the number of lactobacilli, a statistically significant presence of Lactobacillus iners was revealed. As a facultatively anaerobic rod-shaped bacterium, it exhibits aggressive properties, atypical for normal microflora, destroying the cells of the cervical epithelium, which in turn disrupts the activation of Toll-like receptors (TLR) on their surface. At the same time, it is known that one of the functions of lactoflora is the activation of receptors TLR-1, 2, 6, 7, 8 of epithelial cells that recognize both viruses and bacteria for the production of pro-inflammatory cytokines that control the reproduction of unwanted microflora [11].

Conclusions

1. *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli* predominate in the structure of the opportunistic microflora of the cervical canal in women with HPV-associated squamous intraepithelial lesions of the cervix.

2. A distinctive feature of the microbiocenosis of women with HPV-associated squamous intraepithelial lesions of the cervix is a decrease in the detection rate and the number of lactobacilli with the presence of the facultative anaerobe *Lactobacillus iners*.

Thus, the revealed violations of the cervical microbiocenosis determine the need for further more detailed study of this issue, including the identification of the species composition of lactobacilli in patients with SIL.

REFERENCES

1. Aksel E. M. Morbidity and mortality from malignant neoplasms of the female reproductive system in Russia. Oncogynecology=Onkoginekologiya. 2015, no.1, pp. 6–15, (In Russ.).

2. Davydov M. I., Maksimovich D.I., Zaridze D.G. Dynamics of morbidity and mortality from malignant neoplasms in Russia. Bulletin of the Russian Oncology Center N.N. Blokhin RAMS=Vestnik RONC zim. N.N.Bloxina RAMN. 2015, no.26, pp. 1–5, (In Russ.).

3. Benard V.B, Castle P.E, Jenison SA. For the New Mexico HPV Pap Registry Steering Committee Population-Based Incidence Rates of Cervical Intraepithelial Neoplasia in the Human Papillomavirus Vaccine Era. JAMA Oncol. 2017, Vol. 3(6), pp. 833-837.

DOI:10.1001/jamaoncol.2016.3609.

4. Sanad A.S., Kamel H.H., Hasan M.M.. Prevalence of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) in patients attending

Minia Maternity University Hospital. Arch Gynecol Obstet. 2014 Jun., Vol. 289(6), pp. 1211-1217.
DOI:10.1007/s00404-013-3109-0.

5. Shahida S.M., Lipi L.B., Rifat J.A.; et al. Prevalence of Cervical Intraepithelial Neoplasia in four Upazila of Dhaka Division. Mymensingh Med J. 2019 Jul., Vol. 28(3), pp. 655-656.

6. Kaprin A. D., Starinskij V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2018 (morbidity and mortality). Moscow: MNIOI im. P.A. Gercena filial FGBU «NMIRC» Minzdrava Rossii; 2019, (In Russ.).

7. Gravitt, P.E., Winer R.L. Natural History of HPV Infection across the Lifespan: Role of Viral Latency. Viruses. 2017, Vol. 9(267), pp. 2-10.
DOI:10.3390/v9100267.

8. Bird Y., Obidiya O., Mahmood R.; et al. Human Papillomavirus Vaccination Uptake in Canada: A Systematic Review and Meta-analysis. International J Preventive Medicine. 2017, Vol. 14(8), pp. 71.

9. Vargas – Hernández V. M., Vargas – Aguilar V. M, J. M. Tovar - Rodríguez J. M.; et al. Primary cervical cancer screening. Cir Cir. 2015, Vol. 83(5), pp. 448 - 453.

10. Kaprina A.D., Starinskogo V.V., Petrovoj G.V. The state of cancer care to the population of Russia in 2016. Moscow: MNIOI im. P.A.Gercena – filial FGBU NMICR; 2017, (In Russ.).

11. Tihomirov A.L., Sarsanija S.I., Filatova G.A. Human papillomavirus: from an understanding of immunopathogenesis to rational management tactics. Gynecology=Ginekologija. 2018, no. 20(3), pp. 5–11. (In Russ.).
DOI:10.26442/2079-5696_2018.3.5-11.

12. Radzinskij V.E., Ordijanc I.M., Bebneva T.N. The fight against HPV: many boundaries of a single issue. Moscow: Redakcija zhurnala StatusPraesens. 2018, (In Russ.).

13. Ashrafjan L. A., Kiseljov V. I., Aleshikova O. I.; et al. Results of conservative therapy in patients with grade III cervical intraepithelial neoplasia (CIN I-II). Obstetrics and gynecology=Akusherstvo i ginekologija. 2015, no.12, pp.103-109, (In Russ.).

14. Bebneva T.N., Mujzhnek E.L., Rogovskaja S.I.; et al. Pathogenetic treatment of neoplastic processes of the cervix: new approaches. DoktorRu. 2016, no. 3, pp.9-14, (In Russ.).

15. Belokrinickaja T.E., Frolova N.I., Tarbaeva D.A.; et al. Associations of genital infections and human papillomavirus as confounding factors of cervical intraepithelial neoplasia. DoctorRи=DoktorRu. 2015, no. 2(12), pp.14–1, (In Russ.).

16. Krasnopol'skij V.I., Zarochenceva N.V, Mikaeljan A.V.; et al. The role of human papillomavirus infection in the pathology of pregnancy and the outcome for the newborn (modern ideas). Russian Bulletin of Obstetrician Gynecologist=Rossijskij vestnik akushera-ginekologa. 2016, no.16(2), pp. 30 – 36, (In Russ.).
DOI:10.17116/rosakush201616230-36.

17. Pestrikova T.Ju., Panfilova Ju.O. Sensitivity of pathogenic microflora of the cervical canal to antibacterial drugs in patients with chronic cervicitis and HPV. Gynecology=Ginekologija. 2015, no. 7(1), pp.18–21, (In Russ.).
DOI:10.26442/2079-5831_17.1.18-21.

18. Reid G., Hons B.S. Modulating the Vaginal Microbiome: The Need for a Bridge between Science and Practice. Semin Reprod Med. 2014, Vol. 32(1), pp. 28–34.
DOI:10.1055/s-0033-1361820 .

19. Karaulov A.V., Afanas'ev S.S., Aljoshkin V.A. The role of microbiocenoses and innate immunity in mucosal protective reactions and the development of inflammation. Physiology and pathology of the immune system Immunofarmakogenomika. Russian Journal of Immunology=Rossijskij immunologicheskij zhurnal. 2013, no. 17(4), pp. 3-10, (In Russ.).

20. Rogovskaja S.I., Lipova E.V. Cervix, vagina, vulva. Physiology, pathology, colposcopy, aesthetic correction: a guide for practitioners. Moscow: izd-vo zhurnala StatusPraesens; 2014, (In Russ.).

21. Radzinskij V.E. Guidelines for outpatient care in obstetrics and gynecology. M.: GJeOTAR-Media; 2016, (In Russ.).

22. Budanov P.V., Churganova A.A, Bahtijarov K.R. Human papillomavirus infection: the effectiveness of the treatment with inosine pranobex. Gynecology=Ginekologija. 2015, no. 17(6), pp. 56–59, (In Russ.).
DOI:10.26442/2079-5696_17.6.56-59.

23. Radzinskij V.E. Relapses tank. vaginosis and lactoflora: from current ambiguity to practical solutions. Moscow: Status Praesens; 2013, (In Russ.).

24. Kawai T., Akira S. Toll-like receptors and their crosstalk with otherinnate receptors in infection and immunity. Immunity. 2011, Vol. 34, pp. 637–50.

Authors:
Nadezhda A. Shmakova
FSBI «Ural Research Institute of OMM» of the Ministry of Health of Russia
Postgraduate student, obstetrician-gynecologist of the first category
Rossijskaja Federacija, 620028, g. Ekaterinburg, ul. Repina,1
nadyushka.ru@yandex.ru

Guzel' N. Chistjakova
FSBI «SRI OMM» of the Ministry of Health of the Russian Federation
Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Immunology and Clinical Microbiology
Rossijskaja Federacija, 620028, g. Ekaterinburg, ul. Repina,1
7@niiomm.ru

Inna V. Lavrentieva
Ural state medical university Yekaterinburg, Russian Federation
PHD, MD, Department of obstetrics and gynecology faculty of continuing education, assistant Professor
Rossijskaja Federacija, 620028, g. Ekaterinburg, ul. Repina,3
lavr6607@bk.ru

Irina N. Kononova
LLC «Interregional Center for Continuing Professional Education»
Doctor of Medical Sciences, Deputy Director
Rossijskaja Federacija, 620075, g. Ekaterinburg, ul. Lenina, 52 / 3A
irkonmed@mail.ru

Irina I. Remizova .
FSBI «SRI OMM» of the Ministry of Health of the Russian Federation
Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Scientific Department of Immunology and Microbiology
Rossijskaja Federacija, 620028, g. Ekaterinburg, ul. Repina,1
RemizovaII@yandex.ru