

РОЛЬ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПЛЕНОК В ФОРМИРОВАНИИ ХРОНИЧЕСКИХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ВО ВЛАГАЛИЩЕ И ЭНДОМЕТРИИ

© К.В. Шалепо, Т.Г. Михайленко, А.М. Савичева

ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург

Поступила в редакцию: 30.05.2016

Принята к печати: 01.08.2016

■ Проблемы микробных биопленок актуальны для всех областей медицины. При нарушении экосистемы влагалища формируется хорошо структурированная полимикробная пленка, покрывающая вагинальный эпителий и состоящая из анаэробных бактерий, что приводит к рецидивирующему течению бактериального вагиноза. При восходящей инфекции и развитии хронического эндометрита бактериальные пленки выявляются в эндометрии. Образование биопленок бактериями мочеполовой системы приводит к нарушению репродуктивной функции женщин, к неудачным попыткам ЭКО, развитию осложнений и неблагоприятных исходов беременности. В статье представлен обзор литературы, касающийся причин образования бактериальных пленок, способов их выявления и лечения биопленкообразующих инфекций.

■ **Ключевые слова:** биопленка; «ключевые клетки»; полимикробная инфекция; матрикс биопленки; множественная лекарственная устойчивость.

THE ROLE OF BACTERIAL BIOFILMS IN THE DEVELOPMENT OF CHRONIC PATHOLOGICAL PROCESSES IN THE VAGINA AND ENDOMETRIUM

© K.V. Shalepo, T.G. Mihailenko, A.M. Savicheva

FSBSI "The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott", Saint Petersburg, Russia

For citation: Journal of Obstetrics and Women's Diseases. 2016;65(4):65-75

Received: 30.05.2016

Accepted: 01.08.2016

■ Microbial biofilms are a problem in many areas of medicine. When the vaginal ecological system is disturbed, well-structured polymicrobial biofilm, covering the vaginal epithelium and consisting of anaerobic bacteria, is formed, which may lead to the development of recurrent bacterial vaginosis. During an ascending infection and the development of chronic endometritis, bacterial biofilms are detected in the endometrium. Biofilms formed by bacteria residing in the urogenital tract of woman, may result in dysfunctions of the reproductive system, in-vitro fertilization failures, complications of pregnancy, adverse pregnancy outcomes. In the paper, literature data regarding causes of of biofilm formation, methods of detection and treatment of biofilm infections are reviewed.

■ **Keywords:** biofilm; "clue cells"; polymicrobial infection; biofilms matrix; multi-drug resistance.

Актуальность

Образование биопленок — устойчивых бактериальных или грибковых ассоциаций и окружающего их органического матрикса — представляет собой универсальный механизм формирования резистентности микроорганизмов к различным лечебным препаратам. Биопленки на слизистой оболочке влагалища блокируют воспалительный ответ женского организма, снижают активность иммунореактивных клеток, позволяя бактериям достигать высоких концентраций.

Нарушение экосистемы влагалища у женщин репродуктивного возраста является одной

из наиболее актуальных проблем в акушерско-гинекологической практике. Инфекция, как правило, вызывает дискомфорт во влагалище, неприятный запах, патологические выделения и раздражения вульвы. У женщин с бактериальным вагинозом (БВ) заболевание не всегда ограничивается только нижними отделами половых путей. Восходящая инфекция приводит к развитию воспалительных заболеваний шейки матки (цервицит), а также матки (эндометрит) и ее придатков (сальпингоофорит). У пациенток с БВ значительно повышена частота инфек-

ционных осложнений после выполнения некоторых гинекологических манипуляций (аборт, гистероскопия, лапароскопия). Неудачные попытки ЭКО наблюдаются чаще у женщин с сопутствующим БВ [1]. Также БВ является причиной осложнений и неблагоприятных исходов беременности (невынашивание беременности, хориоамнионит, рождение маловесных детей) и заболеваний послеродового периода [2–4]. В последнее время показано, что при БВ формируется хорошо структурированная полимикробная пленка, покрывающая вагинальный эпителий и состоящая из анаэробных бактерий, в том числе *Gardnerella vaginalis* [5]. Это, в свою очередь, может объяснить частые рецидивы нарушения микрофлоры влагалища, что связано с ростом антибиотикорезистентности анаэробных микроорганизмов [6, 7]. Несмотря на серьезные достижения в диагностике и лечении, этиология нарушений микрофлоры до сих пор остается недостаточно изученной. Бесспорной является лишь полимикробная природа этого состояния.

Микробные биопленки: состав и разнообразие

Давно замечено, что на границе двух сред (жидкость и твердое тело, жидкость и воздушная среда) формируются пленки из микроорганизмов. Микробная биопленка — структурированный консорциум бактериальных и/или грибковых клеток, окруженных полимерным матриксом собственного производства [8]. Считалось, что биопленки чаще всего образуются на поверхности естественных (зубная эмаль) или синтетических изделий медицинского назначения, таких как мочевые катетеры, эндотрахеальные трубки, ортопедические имплантаты, контактные линзы, внутриматочные спирали и хирургические нити, зубные протезы. Микробные биопленки могут вызывать патологические процессы в тканях организма и на поверхностях медицинских устройств, сопровождающиеся воспалительными реакциями организма. Инфекции, вызванные штаммами микробов, способных к образованию пленок, плохо поддаются лечению антимикробными препаратами и часто рецидивируют, несмотря на защитные механизмы пациента.

Микробные биопленки состоят из одиночных бактерий и их агрегатов, окруженных органическим матриксом. Они могут покрывать поверхность клеток макроорганизма, а могут находиться и в слизистом слое, выделяемом

клетками [9–12]. В матрикс биопленки могут быть интегрированы компоненты макроорганизма, такие как фибрин, иммуноглобулины или тромбоциты [13, 14]. Часть бактерий непосредственно взаимодействует с поверхностью эпителиальных клеток, часть — располагается в слизистом слое. Таким образом, в качестве биопленки следует рассматривать всю совокупность перечисленных выше клеточных и неклеточных элементов.

Следует отметить, что способность к образованию биопленок связана с наличием у бактерий различных поверхностных структур: пилей и полисахаридных капсул [15]. Следует указать, что в настоящее время большое внимание уделяется изучению генов и белков, необходимых для образования биопленок. Такие белки обнаружены у *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* [16].

По роли, которую играют биопленки в организме человека, их можно разделить на нормальные и патологические. Нормальные биопленки в организме человека представлены микробными сообществами, называемыми микрофлорой организма человека: микрофлора кожи, микрофлора ротовой полости, микрофлора влагалища, микрофлора кишечника и т. д. Патологические биопленки обычно вызывают хронические воспалительные процессы. Это могут быть хронические заболевания: отиты, синуситы, эндокардиты, хронические заболевания легких (муковисцидоз), возможна колонизация имплантированных устройств, микробные отложения на протезах и зубах, раневые инфекции. Биопленочные инфекции также выявлены при болезни Крона [17, 18] и бактериальном вагинозе [19, 20].

Для выявления биопленок используют такие материалы, как зубной налет и зубные импланты, образцы мочи, эякулята, отделяемое влагалища, биопсийные материалы из полости матки, образцы фекалий. По данным зарубежных авторов, при хронических заболеваниях легких, вызванных биопленкообразующими штаммами микроорганизмов, инфекция будет развиваться и в других органах, таких как придаточные пазухи носа, матка и фаллопиевы трубы [21, 22].

Биопленки могут состоять из одного вида микробов или быть полимикробными, а также содержать грибы [8–10]. Известно, что способность образовывать биопленки обладает более 90 % видов бактерий. Р. Watnick и R. Kolter (2000) называют биопленки «городом микробов» [23]. Следует отметить, что увеличение ве-

роятности формирования биопленки связано с увеличением количества условно-патогенных микроорганизмов в среде до 10×6 кое/мл [24].

В медицине биопленки впервые начал изучать N. Hoiby (2014) на примере *Pseudomonas spp.* у больных муковисцидозом. Он предположил, что агрегации *Pseudomonas* в мокроте хронических больных отличаются от одиночных планктонных форм, а входящий в состав клеточной стенки этих бактерий гликокаликс по структуре подобен гликокаликсу других бактерий, образующих биопленки [25]. Например, при рецидивирующих инфекциях верхних дыхательных путей встречаются штаммы *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*. Патогенные стафилококки являются возбудителями оппортунистических гнойно-воспалительных заболеваний, и некоторые штаммы способны формировать биопленки [26–28].

При урогенитальных инфекциях наиболее часто встречаются такие патогены, как *E. coli* (в 70 % случаев), *Klebsiella pneumoniae* (16 %), *Pseudomonas aeruginosa* (4 %), *Acinetobacter spp.* (2 %), *Staphylococcus aureus* (6 %) и *Enterococcus spp.* (2 %). Из них 60 % изолятов проявили способность к пленкообразованию. Среди изолятов *E. coli* в 63 % случаев были штаммы, способные образовывать биопленки [29]. При бактериальном вагинозе обычно встречаются полимикробные сообщества, образующие биопленки. Характерным представителем таких сообществ в 60–90 % случаев является *Atopobium vaginae* и *Gardnerella vaginalis* [7, 30, 31].

При хронических инфекциях ран биопленки развиваются в 60 % случаев. У пациентов с ортопедическими имплантатами в 0,5–2 % будут развиваться инфекции, связанные с биопленками, в течение первых двух лет после операции. У интубированных пациентов в 9–27 % случаев развиваются пневмонии, связанные с развитием биопленки на поверхности эндотрахеальной трубки [32]. Скорость колонизации биопленками мочевых катетеров — 10–14 дней после установки [5, 6].

При формировании биопленок ротовой полости важную роль играют *Streptococcus spp.*, *Actinomyces spp.*, *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Actinobacillus actinomycetiumcomitans* и *Treponema denticola*. В биопленках, образованных дрожжеподобными грибами рода *Candida*, наиболее часто встречаются такие виды, как *C. albicans* и *C. dubliniensis*.

Традиционно клинические лаборатории микробиологии культивируют чистые культуры планктонных форм микроорганизмов и тестируют их чувствительность к антибиотикам. Однако в последнее время образование биопленок в медицинской микробиологии стало рассматриваться как признак патогенности микроорганизмов, способных привести к хронизации процесса и повышенной антибиотикорезистентности. Этой способностью могут обладать некоторые штаммы известных бактерий. J.W. Costerton (1985) предположил, что свойства микроорганизмов в биопленках могут отличаться от свойств планктонных форм бактерий [33].

Роль биопленок в формировании патологических процессов во влагалище и эндометрии

В последнее время показано, что при бактериальном вагинозе формируется хорошо структурированная полимикробная пленка, покрывающая вагинальный эпителий и состоящая из анаэробных бактерий, в том числе *Gardnerella vaginalis* [5]. БВ является невоспалительным синдромом, характеризующимся снижением концентрации лактобацилл, продуцирующих перекись водорода и молочную кислоту, и повышением концентрации других микроорганизмов, в частности анаэробных грамотрицательных палочек в вагинальном микробиоценозе (включая *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella spp.*, *Porphyromonas spp.*, *Bacteroides spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mobiluncus spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Atopobium vaginae* и анаэробные грамположительных кокки) до 1000-кратного уровня выше нормы [34]. Эти анаэробные бактерии разлагают белки и преобразуют аминокислоты в амины. Амины повышают pH среды влагалища, что сопровождается выделением характерного «рыбного запаха». Сдвиги в составе вагинальной бактериальной микрофлоры хорошо изучены при исследовании вагинальных выделений. Максимальная плотность бактериальных клеток на поверхности эпителия была зафиксирована при pH от 5,0 до 6,0 [35]. Способность таких бактерий, как *A. vaginae*, *S. aureus*, *Ps. aeruginosa* и *G. vaginalis*, прикрепляться к поверхности эпителиальных клеток играет существенную роль в понимании патогенеза БВ. При этом выявляются так называемые «ключевые клетки» (один из основных критериев диагностики БВ) — поверхностные

эпителиальные клетки влагалища, покрытые многочисленными грамотрицательными и грамположительными бактериями. За счет наличия бактерий при микроскопических исследованиях такие клетки приобретают характерный «зернистый» вид.

Однако сведений о том, как различные бактериальные группы, характерные для БВ, взаимодействуют с вагинальными эпителиальными клетками, в нашем распоряжении еще очень мало, так как при микробиологических исследованиях выявляется очень ограниченное число видов [36]. В то же время микроорганизмы, связанные с БВ, часто являются компонентами нормальной микрофлоры влагалища, состав которой очень широк.

Чтобы определить роль БВ-ассоциированных бактерий при образовании биопленок, было проведено исследование клинических материалов от пациенток с бактериальным вагинозом, которое дало возможность охарактеризовать 30 видов бактерий [37]. Была оценена их вирулентность, включая адгезивную активность, способность индуцировать цитотоксические изменения в эпителиальных клетках и образовывать биопленки. Так как начальная адгезия является первым шагом в формировании биопленки [37], было определено, какие виды наиболее распространены на ранних стадиях развития БВ. Интересно, что только *G. vaginalis* и *M. hominis* обладали свойством адгезироваться в модели *in vitro* к клеткам линии HeLa. Это дало возможность предположить, что эти два вида могут играть важную роль в качестве первых колонизаторов при БВ [38]. Было также высказано предположение, что *G. vaginalis* конкурирует с вагинальными *Lactobacillus spp.* и дает возможность другим БВ-ассоциированным бактериям взаимодействовать и расти в биопленках [36].

Поскольку *G. vaginalis* является наиболее распространенным бактериальным видом в БВ-ассоциированных биопленках, большинство исследований сосредоточено на нем. В упомянутом выше исследовании *G. vaginalis* имела существенно более высокую вирулентность по сравнению с другими 29 видами микроорганизмов [38, 39]. Тем не менее эта бактерия может быть частью микробиоты влагалища у здоровых женщин [40, 41]. Следует также упомянуть, что вид *G. vaginalis* является весьма разнообразным таксоном, как фенотипически, так и генотипически [42, 43]. У него было выявлено 17 биотипов со специфическими био-

химическими свойствами. Полное секвенирование генома различных штаммов *G. vaginalis* выявило существенные различия между БВ-ассоциированными и БВ-неассоциированными штаммами [39].

В специальной литературе много споров, касающихся вклада *G. vaginalis* в этиологию бактериального вагиноза [44, 45]. При полимикробной инфекции различные виды микроорганизмов могут играть разные роли в инициации и развитии БВ. Теоретически ранний колонизатор в ходе адгезии к эпителию будет участвовать в начальных этапах формирования биопленки, в то время как поздние и/или вторичные колонизаторы будут способствовать ее «созреванию». Недавно было показано, что *A. vaginae* и *F. nucleatum*, обладающие по сравнению с *G. vaginalis* более низкой способностью к адгезии и вытеснению лактобацилл с поверхности эпителиальных клеток влагалища, тем не менее способны стимулировать образование последними биопленки [44]. Стимуляция образования биопленки одним организмом в присутствии другого была изучена при образовании биопленки в ротовой полости [46]. Недавно этот процесс продемонстрировали также при БВ, используя смешанные культуры *G. vaginalis*, *Mobiluncus mulieris*, *A. vaginae*, *Prevotella bivia* и *Fusobacterium nucleatum*, выделенные из влагалища [44]. Это позволило предположить, что некоторые виды бактерий могут играть важную роль при БВ в качестве вторичных патогенов. Тем не менее их роль в этом до конца не изучена.

Наличие биопленки может приводить к резистентности к лекарственным препаратам, неудачам терапии и рецидивам БВ [6]. Это можно объяснить тем, что в современных условиях изменились свойства микроорганизмов — их вирулентность и патогенность, перестроилась этиологическая структура инфекционных заболеваний, более того, изменились особенности реагирования на инфекционные агенты иммунной системы. В недавних работах было отмечено, что у 30 % женщин рецидив БВ встречается через три месяца, а у 50 % спустя полгода после терапии [47]. Поскольку состав микрофлоры при БВ напоминает состав микрофлоры перианальной области, то существует предположение о связи этих микробиоценозов, однако непосредственных подтверждений этому пока не найдено [48, 49].

Было также показано, что при рецидивирующем цистите *E. coli* диффузно приклеивается

к клеткам вагинального эпителия в концентрациях $10 \times 5-6$ [24]. При этом бактерии приобрели нитчатую «колониальную» форму, чему приписывается их резистентность к бета-лактамам антибиотикам. Возможно также, что этот механизм позволяет увеличивать толщину клеточной стенки и не позволяет отделяться клеткам бактерий друг от друга [50].

Долгое время существовало мнение, что полость матки и верхние половые пути являются стерильными, но при недавнем исследовании маточных труб и эндометрия было показано, что биопленка может распространяться и на эти органы [22]. Сначала полагали, что это связано с контаминацией образцов микрофлорой из влагалища, но высокий уровень колонизации микроорганизмами эндометрия был обнаружен в образцах, полученных при гистерэктомии у небеременных женщин и у пациенток в послеродовом периоде [51], что сводит к минимуму риск загрязнения образца [22, 49]. Было документально подтверждено, что у женщин, имеющих в анамнезе БВ после аборта, была обнаружена биопленка, покрывающая эндометрий [22]. Бактериальная колонизация полости матки напрямую связана с преждевременными родами и хориоамнионитом, воспалительными заболеваниями органов малого таза. Инфекции верхних половых путей, как правило, развиваются при распространении бактерий из нижних отделов мочеполовой системы. Физический барьер из слизи в шейке матки, высокие концентрации антимикробных белков, воспалительных цитокинов, иммуноглобулинов и ферментов в слизистой пробке, как полагают, обеспечивает защиту против распространения бактерий в полость матки здоровой женщины.

Тем не менее радиоактивно меченный альбумин, помещенный во влагалище, регистрировался в полости матки уже через 2 минуты после введения. Это показывает, что жидкость и частицы движутся между влагалищем и полостью матки относительно свободно [52].

Кроме того, обнаружение бактерий в верхних половых путях не связано со значительной воспалительной иммунной реакцией, так как бактериальные концентрации в эндометрии значительно ниже, чем во влагалище. Присутствие низкого количества бактерий в полости матки не является патологией [53].

У женщин при воспалительных заболеваниях органов малого таза часто обнаруживаются анаэробные грамотрицательные палочки

и смешанные сообщества бактерий в полости матки и маточных трубах. Три четверти женщин с диагнозом хронического эндометрита при гистероскопии имеют положительные результаты на наличие микроорганизмов в полости матки, причем эти микроорганизмы отличаются от микроорганизмов, выявленных во влагалище (только в 32 % случаев бактерии, обнаруженные во влагалище, были такими же, как в эндометрии) [54]. Патологические процессы в эндометрии могут развиваться только при высокой концентрации бактерий в полости матки, в присутствии смешанной бактериальной микрофлоры и при наличии вирулентных штаммов. Таким образом, эти данные указывают на то, что полость матки не является стерильной у большинства женщин, перенесших гистерэктомию по поводу доброкачественных новообразований [53]. W.W. Andrews и др. (2006) показали, что у небеременных женщин с бессимптомным БВ в полости матки были выявлены микроорганизмы. Они нашли последовательную и значимую связь между бактериальным вагинозом и повышением частоты внутриматочной колонизации бактериальными вагиноз-ассоциированными микроорганизмами и обнаружили связь между бактериальным вагинозом и увеличением частоты рака эндометрия при наличии микроорганизмов, ассоциированных с БВ [49].

Диагностика инфекций, ассоциированных с биопленкообразующими микроорганизмами

Группой экспертов разработаны общие клинические и лабораторные критерии диагностики инфекций, вызванных биопленкообразующими микроорганизмами [32].

Клинические признаки инфекции

- Классические, но, как правило, вялотекущая воспалительная реакция, покраснение, боль, потеря функции, а иногда и субфебрильная температура.
- В анамнезе условия, предрасполагающие к развитию биопленочной инфекции (например, имплантированное устройство).
- Наличие инфекционного процесса продолжительностью более семи дней (устойчивость бактерий к антибиотикам).
- В анамнезе отказ пациента от антибиотикотерапии и/или рецидив заболевания.

Микробиологическая диагностика [32]

При микроскопическом исследовании клинических образцов из очага инфекции для обнаружения биопленки требуется подтверждение

наличия воспалительного процесса, обнаружение лейкоцитов и агрегатов микроорганизмов, встроенных в матрикс собственного производства, отличный от окружающей ткани или продуктов секреции клеток макроорганизма, и указывающих на воспаление. Микроскопический анализ может быть выполнен с помощью обычной световой микроскопии и стандартных методов окрашивания, в том числе по Граму, при котором окрашиваются как ткань или слизь, так и лейкоциты, бактерии и матрикс биопленки. Такие методы, как конфокальная лазерная сканирующая микроскопия и сканирующая электронная микроскопия, являются наиболее подходящими методами, чтобы выявить биопленки при биопсии, но они не доступны для обычной диагностической работы в клинической лаборатории.

При использовании метода амплификации нуклеиновых кислот (МАНК) с выявлением патогенных микроорганизмов требуется проведение бактериологического исследования для выделения чистых культур микроорганизмов и идентификации культуры патогенного микроорганизма с использованием системы MALDI-TOF.

Как упомянуто выше, микроорганизмы, связанные с БВ, часто являются компонентом нормальной микрофлоры влагалища, и диапазон определяемых микроорганизмов слишком велик для оценки истинного патогена. Как правило, в большинстве лабораторий определяют только аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы. Культивирование облигатных анаэробов и микроаэрофилов требует специального оборудования и выполняется в ходе научных исследований.

Существуют практические трудности при получении адекватного клинического материала для анализа. Часто биопленкообразующие инфекции представляют собой сложную смесь, контаминированную планктонными патогенами, что затрудняет выделение пленкообразующего агента. Выделение микроорганизмов из биопленки может быть достигнуто путем получения мазков-отпечатков (и микроскопического исследования окрашенных по Граму препаратов) — метод Maki и вортиксирования или обработкой ультразвуком (метод Brun Buisson). Если биопленка находится на поверхности инородного тела, в кости или клапане сердца, полученный биоматериал может быть подвергнут гомогенизации. Некоторые микроорганизмы в биопленке могут быть жизне-

способными, но плохо культивируемыми или некультивируемыми при использовании стандартных методов. В ротовой полости, носоглотке, кишечнике, на коже, на слизистых, где присутствует большое количество представителей физиологической микрофлоры, следует учитывать возможность контаминации образца как микробами нормальной флоры, так и транзиторными формами. При использовании МАНК для плохо культивируемых и некультивируемых бактерий следует параллельно применять метод микроскопии для выявления структур биопленки и агрегатов микроорганизмов, чтобы отличить планктонные формы микробов от биопленочных.

Решением проблемы количественной оценки микробного пейзажа в отношении основных условно-патогенных труднокультивируемых и некультивируемых микроорганизмов является метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Метод позволяет не только выявить основные бактерии, входящие в состав микробиоценоза мочеполовых органов, но и определить количество микроорганизмов, его составляющих. Также впервые появилась возможность расчета доли конкретного микроорганизма относительно суммы всех выявленных бактерий, что позволяет более точно определить этиологическую роль условно-патогенного микроорганизма в развитии патологии. Таким образом, появился инструмент для проведения комплексной оценки микрофлоры мочеполовых органов [55].

Идентификация и локализация микроорганизмов, образующих биопленку в клинических образцах, может быть проведена с помощью видоспецифической флуоресценции при гибридизации зондов и флуоресцентной микроскопии (FISH, метод флуоресцентной гибридизации *in situ*). Обычные методы культивирования или методы, основанные на ПЦР (16S-генной амплификации рРНК), не позволяют различать планктонные и биопленкообразующие бактерии.

А. Swidsinski и др. (2010) [30] недавно описали альтернативный метод диагностики БВ, основанный на флуоресцентной микроскопии. Этот метод сочетает возможности микроскопии с возможностями молекулярных методов, позволяя идентифицировать микроорганизмы на молекулярном уровне и определять его локализацию на поверхности клетки. Метод FISH для идентификации бактерий на основе 16s рРНК — это своего рода визуализация

на микроуровне. Он также позволяет выявлять агрегаты микроорганизмов биопленки из фекалий пациентов при патологических процессах в кишечнике, из вагинальных образцов и мочи при заболеваниях урогенитального тракта, из зубных отложений при патологии в ротовой полости и др.

Впервые в 1985 году G.D. Christensen предложил культивировать и изучать способность образовывать биопленки *Staphylococcus* на пластиковых планшетах [26]. В настоящее время для экспериментов *in vitro* планшетный метод используется для различных микроорганизмов. Для диагностики *in vivo* используется световая микроскопия, позволяющая обнаруживать агрегаты клеток с микроорганизмами («ключевые» клетки при бактериальном вагинозе).

Антибиотики и биопленки

Традиционно клинические микробиологические лаборатории специализируются на культивировании чистых культур планктонных форм микроорганизмов, тестируя их чувствительность к антибиотикам. Развитие представлений о биопленках, инициирующих хронические воспалительные процессы, в ходе которых приобретает повышенная антибиотикорезистентность образующих их микробов, изменило эту ситуацию. Данные изменения, в том числе основываются на представлениях Costerton (1985), который предположил, что свойства микроорганизмов в биопленках могут отличаться от свойств планктонных форм [33].

По данным некоторых исследователей, до 80 % микроорганизмов, способных образовывать биопленки при урогенитальных инфекциях, проявляют мультирезистентность к антибиотикам [29]. При хронических инфекциях ран в 60 % случаев будут развиваться биопленки, а следовательно, возрастает резистентность к лекарственным препаратам.

В этой связи лечение биопленкообразующих инфекций может быть направлено на подавление различных механизмов пленкообразования. В профилактических целях терапия должна быть направлена на подавление адгезии микроорганизмов к поверхности клеток и формирования матрикса. Кроме того, антимикробные препараты могут быть использованы для подавления размножения и расселения микроорганизмов, образующих биопленку, а также для интенсификации проникновения бактерицидных веществ внутрь сформированной биопленки.

Терапия подобных инфекций должна сочетать использование антимикробных и антибиопленочных препаратов [56]. Многообещающей стратегией может быть использование ферментов, которые способны растворять матрикс биопленки (например, ДНКаза и альгинат-лиаза), повышая восприимчивость ее микробов к антибиотикам [57]. Тем не менее нельзя использовать антибиопленочные препараты без антимикробных препаратов либо применять те из них, в эффективности которых нет уверенности. Доказано, что использование пропитанных антибиотиком (ванкомицин, гентамицин, тобрамицин) материалов позволяет снизить риск развития биопленкоассоциированных инфекций при протезировании [57]. Для профилактики возможно использование антисептиков, таких как нитрофура, фурацилин и хлоргексидин [57]. Для профилактики биопленок грибковых инфекций наиболее перспективным является использование амфотерицина В, этанола или эхинокандинов [57].

Активность N-ацетилцистеина (флуимуцила) против биопленок связана с тем, что это соединение нарушает адгезию бактерий к поверхности тканей, разрушает внеклеточные полисахариды биопленок, а также тормозит их синтез бактериями, что в опытах *in vivo* было подтверждено результатами сканирующей электронной микроскопии [58]. В последнее время изучается способность антибиотиков проникать в биопленки. Установлено, что ампициллин плохо проникает в биопленки, сформированные *Klebsiella pneumoniae* и *Enterococcus faecalis*. Плохое проникновение показал амоксициллин. Напротив, антибиотики из группы фторхинолонов хорошо проникают в биопленки. Они хорошо проходят через липидный слой бактерий, а также матрикс и способны действовать на основных возбудителей инфекций урогенитального тракта [59].

Наиболее активным по отношению к сформированным биопленкам оказался левофлоксацин. При этом максимальную активность он показал на штаммах клебсиелл, кишечной палочки, псевдомонад, стафилококка и энтеробактера [59].

Проведенные В.В. Тецем и др. (2008) исследования показали, что фторхинолоны действуют как на формирующиеся, так и на уже сформированные биопленки возбудителей урологических инфекций. Способность левофлоксацина проникать через липидобелковую поверхностную оболочку биопленок и действо-

вать на находящиеся внутри бактерии крайне важна, поскольку к моменту начала лечения биопленки в организме человека уже сформированы. Следует учитывать, что использование антибиотиков, неспособных проникать в биопленку, может привести к формированию резистентности у микроорганизмов [59].

Исследования также показали, что на клинические проявления инфекционного процесса, вызванного развитием биопленки, оказывают влияние антибиотики, ограничивающие способность к расселению и размножению микроорганизмов биопленки [56].

Для отдельных видов биопленкообразующих микроорганизмов очень высокими является уровень устойчивости к обычным антибиотикам, используемым для лечения БВ. Например, бактерии более чувствительны к клиндамицину, чем к метронидазолу или тинидазолу [60, 62]. При исследовании инфекций урогенитального тракта было выявлено, что микроорганизмы, обладающие способностью к пленкообразованию, показали высокую чувствительность к препаратам из группы карбопенемов и аминогликозидов, но были устойчивы к налидиксовой кислоте, ампициллину, цефотаксиму и Ко-тримоксазолу (сульфаметоксазол + триметоприм). Также такие уропатогены устойчивы к антибиотикам группы хинолонов. Эти штаммы в большинстве случаев имеют множественную лекарственную устойчивость. В исследовании была показана значимая корреляция между образованием биопленки и множественной лекарственной устойчивостью [29].

При исследовании рецидивов бактериального вагиноза использование метронидазола привело к временному подавлению микроорганизмов в биопленке, которые, однако, быстро восстановили свою деятельность после прекращения лечения [6]. Подобно метронидазолу, моксифлоксацин подавляет рост бактерий, не устраняя их, что приводит к увеличению частоты рецидивов БВ на 40 % в течение 10–12 недель после окончания терапии вследствие образования биопленки *Gardnerella vaginalis* [7].

У более чем одной трети женщин использование октенидин дигидрохлорида привело к резистентности полимикробной биопленки, содержащей в своем составе *G. vaginalis* [21].

Без определения этиологического агента лечение БВ и хронического эндометрита основывается на общих рекомендациях, что может способствовать повышению устойчивости

к противомикробным препаратам [61]. Более 25 % положительных эндометриальных культур показали наличие энтеробактерий, которые часто устойчивы к наиболее широко используемым антибиотикам при воспалительных заболеваниях органов малого таза [54]. Важно отметить, что высокие темпы приобретения устойчивости к антибиотикам связаны с полимикробными биопленками [61]. Оба этих фактора — полимикробный состав микрофлоры и повышение резистентности микроорганизмов — необходимо учитывать при диагностике БВ. При планировании лечения следует подбирать препараты, влияющие на образование биопленки и способные проникать внутрь нее.

Развитие представлений о бактериальных пленках как полимикробной этиологии БВ на сегодняшний день не упростили нашего понимания этого сложного состояния, в частности причин замены физиологической микрофлоры на анаэробную микрофлору. Ясно, что последнее открытие имеет далекоидущие последствия для этиологии, эпидемиологии и лечения БВ. Дальнейшие исследования могут сосредоточиться на разработке и выявлении новых терапевтических агентов, которые бы были способны разрушить биопленку.

Литература

1. Wilson JD, Ralph SG, Rutherford AJ. Rates of bacterial vaginosis in women undergoing *in vitro* fertilisation for different types of infertility. *BJOG*. 2002;109:714-7. doi: 10.1111/j.1471-0528.2002.01297.x.
2. Oakeshott P, Hay P, Hay S, et al. Association between bacterial vaginosis or chlamydial infection and miscarriage before 16 weeks' gestation: prospective community based cohort study. *BMJ*. 2002;325:1334.
3. Leitich H, Kiss H. Asymptomatic bacterial vaginosis and intermediate flora as risk factors for adverse pregnancy outcome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2007;21:375-90. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2006.12.005.
4. Ralph SG, Rutherford AJ, Wilson JD. Influence of bacterial vaginosis on conception and miscarriage in the first trimester: cohort study. *BMJ*. 1999;319:220-3 doi: 10.1136/bmj.319.7204.220.
5. Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V, et al. Adherent biofilms in bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol*. 2005;106:1013-23. doi: 10.1097/01.AOG.0000183594.45524.d2.
6. Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V, et al. An adherent *Gardnerella vaginalis* biofilm persists on the vaginal epithelium after standard therapy with oral metronidazole. *Am J Obstet Gynecol*. 2008;198:97.e1-6.1. doi: 10.1016/j.ajog.2007.06.039.

7. Swidsinski A, Doerffel Y, Loening-Baucke V, et al. Response of *Gardnerella vaginalis* biofilm to 5 days of moxifloxacin treatment. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2010 Sep 27. doi: 10.1111/j.1574-695X.2010.00743.x.
8. Hall-Stoodley L, Stoodley P, Kathju S, et al. Towards diagnostic guidelines for biofilm-associated infections. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2012;65:127-145. doi: 10.1111/j.1574-695X.2012.00968.x
9. Lebeaux D, Chauhan A, Rendueles O, Beloin C. From *in vitro* to *in vivo* models of bacterial biofilm-related infections. *Pathogens*. 2013;2(2):288-356. doi: 10.3390/pathogens2020288.
10. Bjarnsholt T, Ciofu O, Molin S, et al. Applying insights from biofilm biology to drug development — can a new approach be developed? *Nat Rev Drug Discov*. 2013;Okt;12(10):791-808. doi: 10.1038/nrd4000.
11. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Kirsch S, Doerffel Y. Functional biostructure of colonic microbiota (central fermenting area, germinal stock area and separating mucus layer) in healthy subjects and patients with diarrhea treated with *Saccharomyces boulardii* Gastroentérologie Clinique et Biologique. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*. 2010;34;Sup1:S79-S92. doi: 10.1016/S0399-8320(10)70025-7.
12. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Shulz S, et al. Functional anatomy of the colonic bioreactor: Impact of antibiotics and *Saccharomyces boulardii* on bacterial composition in human fecal cylinders. *Systematic and Applied Microbiology*. 2016;39(1):67-75. doi: 10.1016/j.syapm.2015.11.002.
13. Taj Y, Essa F, Aziz F, Kazmi S. Study on biofilm-forming properties of clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dev Ctries*. 2012;14;6(5):403-9.
14. Чеботарь И.В. Биопленки *Staphylococcus aureus*: структурно-функциональные характеристики и взаимоотношения с нейтрофилами: дис. ... д-ра мед. наук. — М., 2013. [Chebotar' IV. Bioplenki *Staphylococcus aureus*: strukturno-funkcional'nye harakteristiki i vzaimootnosheniya s nejtrofilami. [dissertation] Moscow; 2013. (In Russ).]
15. Рыбальченко О.В., Бондаренко В.М., Орлова О.Г. Структура и функции бактериальных биопленок симбиотический и условно-патогенных бактерий // Верхневолжский медицинский журнал. — 2013. — Т. 11. — № 4. — С. 37–42. [Rybal'chenko OV, Bondarenko VM, Orlova OG. Structure and functions of bacterial biofilms of symbiotic and opportunistic bacteria. *Upper Volga Medical Journal*. 2013;11(4):37-42. (In Russ)]
16. Geoghegan JA, Corrigan RM, Gruszka DT, et al. Role of surface protein SasG in biofilm formation by *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*. 2010 Nov;192(21):5663-73. doi: 10.1128/JB.00628-10.
17. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Swidsinski S, Verstraelen H. Polymicrobial *Gardnerella* biofilm resists repeated intravaginal antiseptic treatment in a subset of women with bacterial vaginosis: a preliminary report. *Arch Gynecol Obstet*. 2015 Mar;291(3):605-9. doi: 10.1007/s00404-014-3484-1.
18. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005; 171:388-416. doi: 10.1164/rccm.200405-644ST.
19. Stickler DJ. Bacterial biofilms in patients with indwelling urinary catheters. *Nat Clin Pract Urol*. 2008;5:598-608. doi: 10.1038/ncpuro1231.
20. Hola V, Ruzicka F. The formation of poly-microbial biofilms on urinary catheters. In: P. Teneke (Ed.) Urinary tract infections. *InTech*. 2011:153-172.
21. Verstraelen H, Swidsinski A. The biofilm in bacterial vaginosis: implications for epidemiology, diagnosis and treatment. *Curr Opin Infect Dis*. 2013;Feb;26(1):86-9. doi: 10.1097/QCO.0b013e32835c20cd.
22. Swidsinski A, Verstraelen H, Loening-Baucke V, et al. Presence of a polymicrobial endometrial biofilm in patient with bacterial vaginosis. *PLoS One*. 2013;8(1). doi: 10.1371/journal.pone.0053997.
23. Watnick P, Kolter R. Biofilm, city of microbes. *J Bacteriol*. 2000 May;182(10):2675-9.
24. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Mendling W, et al. Positive effects of local therapy with a vaginal lactic acid gel on dysuria and E.coli bacteriuria question our current views on recurrent cystitis. *Arch Gynecol Obstet*. 2012 Jan;5. doi: 10.1007/s00404-011-2196-z.
25. Høiby N. A personal history of research on microbial biofilms and biofilm infections. *Pathog Dis*. 2014; 70:205-211. doi: 10.1111/2049-632X.12165.
26. Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ, et al. Adherence of coagulase-negative *staphylococci* to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of *staphylococci* to medical devices. *J Clin Microbiology*. 1985;22(6):996-1006.
27. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Herber A. Mucosal flora in Crohn's disease and ulcerative colitis — an overview. *J Physiol Pharmacol*. 2009 Dec;60Suppl 6:61-71.
28. Dörffel Y, Swidsinski A, Loening-Baucke V, et al. Common biostructure of the colonic microbiota in neuroendocrine tumors and Crohn's disease and the effect of therapy. *Inflamm Bowel Dis*. 2012 Sep;18(9):1663-71. doi: 10.1002/ibd.21923.
29. Subramanian P, Shanmugam N, Sivaraman U, et al. Antibiotic resistance pattern of biofilm-forming uropathogens isolated from catheterised patients in Pondicherry. *India Australas Med J*. 2012;5(7):344-8. doi: 10.4066/AMJ.2012.1193.
30. Swidsinski A, Doerffel Y, Loening-Baucke V, et al. *Gardnerella* biofilm involves females and males and is transmitted sexually. *Gynecol Obstet Invest*. 2010; 70:256-263. doi: 10.1159/000314015.

31. Hale LP, Swidsinski A, Mendling W. Bacteria associated with bacterial vaginosis. *N Engl J Med*. 2006;Jan 12;354(2):202-3. doi: 10.1056/NEJMc053336.
32. Høiby N, Bjarnsholt T, Moser C, Bassi GL, et al. ESCMID guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections. Ed by F. Allerberger. 2014; January 14, 2015.
33. Gristina AG, Costerton JW. Bacterial adherence to biomaterials and tissue. The significance of its role in clinical sepsis. *J Bone Joint Surg Am*. 1985;67: 264-273.
34. Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз. — М.: МИА, 2012. — 472 с. [Kira EF. Bakterial'nyj vaginoz. Moscow: MIA; 2012. (In Russ).]
35. Назарова В.В., Шалепо К.В., Менухова Ю.Н., Савичева А.М. Микрофлора влагалища женщин репродуктивного возраста при бактериальном вагинозе — соответствие критериям Amsel // Журнал акушерства и женских болезней. — 2016. — № 1. — С. 48–53. [Nazarova VV, Shalepo KV, Menuchova YN, Savicheva AM. Vaginal flora in bacterial vaginosis — the criteria Amsel. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2016;1:48-53. (In Russ).]
36. Patterson JL, Stull-Lane A, Girerd PH, Jefferson KK. Analysis of adherence, biofilm formation and cytotoxicity suggests a greater virulence potential of *Gardnerella vaginalis* relative to other bacterial-vaginosis-associated anaerobes. *Microbiology*. 2010;156:392-9. doi: 10.1099/mic.0.034280-0ю
37. Stanley NR, Lazazzera BA. Environmental signals and regulatory pathways that influence biofilm formation. *Mol Microbiol*. 2004;52:917-24. doi: 10.1111/j.1365-2958.2004.04036.x.
38. Alves P, Castro J, Sousa C, et al. *Gardnerella vaginalis* outcompetes 29 other bacterial species isolated from patients with bacterial vaginosis, using in an in vitro biofilm formation model. *J Infect Dis*. 2014 Aug 15;210(4):593-6. doi: 10.1093/infdis/jiu131.
39. Alves P, Sousa C, Cereija T, et al. Using an *in vitro* biofilm model to assess the virulence potential of Bacterial Vaginosis or non-Bacterial Vaginosis *Gardnerella vaginalis* isolates. *Sci Rep*. 2015;5:11640. doi: 10.1038/srep11640.
40. Aroutcheva AA, Simoes JA, Behbakht K, Faro S. *Gardnerella vaginalis* isolated from patients with bacterial vaginosis and from patients with healthy vaginal ecosystems. *Clin Infect Dis*. 2001;33:1022-1027. doi: 10.1086/323030.
41. Hickey RJ, Forney LJ. *Gardnerella vaginalis* does not always cause bacterial vaginosis. *J Infect Dis*. 2014; 210:1682-1683. doi: 10.1093/infdis/jiu303.
42. Benito R, Vazquez J, Berron S, et al. A modified scheme for biotyping *Gardnerella vaginalis*. *J Med Microbiol*. 1986;21:357-359. doi: 10.1099/00222615-21-4-357.
43. Piot P, et al. Biotypes of *Gardnerella vaginalis*. *J Clin Microbiol*. 1984;20:677-679.
44. Machado A, Jefferson K, Cerca N. Interactions between *Lactobacillus crispatus* and bacterial vaginosis (BV)-associated bacterial species in initial attachment and biofilm formation. *Int J Mol Sci*. 2013;14:12004-12. doi: 10.3390/ijms140612004.
45. Alves P, Castro J, et al. *Gardnerella vaginalis* outcompetes 29 other bacterial species Isolated from patients with bacterial vaginosis, using in an *In Vitro* biofilm formation model. *J Infect Dis*. 2014;210(4):593-596. doi: 10.1093/infdis/jiu131.
46. Do T, Devine D, Marsh PD. Oral biofilms: molecular analysis, challenges, and future prospects in dental diagnostics. *Clin Cosmet Investig Dent*. 2013;5:11. doi: 10.2147/CCIDE.S31005.
47. Jeanne M. Marrazzo, et al. Bacterial vaginosis: identifying research gaps proceedings of a workshop sponsored by DHHS/NIH/NIAID. *Sex Transm Dis*. 2010;37(12):734. doi: 10.1097/OLQ.0b013e3181fbbc95.
48. El Aila NA, Tency I, Saerens B, et al. Strong correspondence in bacterial loads between the vagina and rectum of pregnant women. *Res Microbiol*. 2011;162: 506-13. doi: 10.1016/j.resmic.2011.04.004.
49. Andrews WW, Hauth JC, Cliver SP, et al. Association of asymptomatic bacterial vaginosis with endometrial microbial colonization and plasma cell endometritis in nonpregnant women. *Am J Obstet Gynecol*. 2006; 195:1611-6. doi: 10.1016/j.ajog.2014.11.043.
50. Piette A, Fraipont C, Den Blaauwen T, et al. Structural determinants required to target penicillin-binding protein 3 to the septum of *Escherichia coli*. *J Bacteriol*. 2004;186:6110-6117. doi: 10.1128/JB.186.18.6110-6117.2004.
51. Duff P, Gibbs RS, Blanco JD, St Clair PJ. Endometrial culture techniques in puerperal patients. *Obstet Gynecol*. 1983;61:217-22.
52. Zervomanolakis I, Ott HW, Hadziomerovic D, et al. Physiology of upward transport in the human female genital tract. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2007 Apr;1101:1-20. doi: 10.1196/annals.1389.032.
53. Mitchell CM, Haick A, Nkworpara E, et al. Colonization of the upper genital tract by vaginal bacterial species in non-pregnant women. *Am J Obstet Gynecol*. 2015 May; 212(5):611.e1-11.e9. doi: 10.1016/j.ajog.2014.11.043.
54. Cicinelli E, De Ziegler D, Nicoletti R, et al. Chronic endometritis: correlation among hysteroscopic, histologic, and bacteriologic findings in a prospective trial with 2190 consecutive office hysteroscopies. *J Fertility and Sterility*. 2008;89(3):677-684. doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.03.074
55. Шалепо К.В., Назарова В.В., Менухова Ю.Н., и др. Оценка современных методов лабораторной диагностики бактериального вагиноза // Журнал акушерства и женских болезней. — 2014. — № 1. — С. 26–32. [Shalepo KV, Nazarova VV, Menuhova JN, et al. Assessment of current methods of laboratory diagnosis of bacterial vaginosis. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2014;1:26-32. (In Russ).]

56. Тец Г.В., Заславская Н.В., Артеменко Н.К., Тец В.В. Особенности совместного действия левофлоксацина и ДНКазы на биопленки возбудителей урогенитальных инфекций // Урология. — 2012. — № 1. — С. 21–24. [Tec GV, Zaslavskaja NV, Artemenko NK, Tec VV. Combined action of levofloxacin and DNAase on biofilms of urogenital infection pathogens. *Urologija*. 2012;1:21-24. (In Russ).]
57. Høiby N, Bjarnsholt T, Givskov M, et al. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *Int J Antimicrob Agents*. 2010 Apr;35(4):322-32. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2009.12.011.
58. Olofsson AC, Hermansson M, Elwing H. N-acetyl-L-cysteine affects growth, extracellular polysaccharide production, and bacterial biofilm formation on solid surfaces. *Appl Environ Microbiol*. 2003 Aug;69(8):4814-22. doi: 10.1128/AEM.69.8.4814-4822.2003.
59. Тец В.В., Заславская Н.В., Артеменко Н.К., Тец Г.В. Биопленки возбудителей уроинфекций и использование фторхинолонов // Consilium medicum. — 2008. — № 4. — С. 110–114. [Tec VV, Zaslavskaja NV, Artemenko NK, Tec GV. Bioplenki возбуdivitelej uroinfekcij i ispol'zovanie ftorhinolonov. *Consilium medicum*. 2008;4:110-4. (In Russ).]
60. Bradshaw CS, Morton AN, Hocking J, et al. High recurrence rates of bacterial vaginosis over the course of 12 months after oral metronidazole therapy and factors associated with recurrence. *J Infect Dis*. 2006;193:1478-86. doi: 10.1086/503780.
61. Stanley NR, Lazazzera BA. Environmental signals and regulatory pathways that influence biofilm formation. *Mol Microbiol*. 2004;52:917-24. doi: 10.1111/j.1365-2958.2004.04036.x.
62. Савичева А.М., Башмакова М.А., Шалепо К.В., и др. Опыт комбинированной терапии у больных с бактериальным вагинозом // Российский вестник акушера-гинеколога. — 2011. — № 3. — С. 69–73. [Savicheva AM, Bashmakova MA, Shalepo KV, et al. Experience with combination therapy in patients with bacterial vaginosis. *Rossijskij vestnik akushera-ginekologa*. 2011;3:69-73. (In Russ).]

■ Адреса авторов для переписки

Кира Валентиновна Шалепо — канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии, ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта» СЗО РАМН. **E-mail:** 2474151@mail.ru.

Татьяна Геннадьевна Михайленко — врач лаборатории микробиологии, ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта» СЗО РАМН. **E-mail:** iagmail@ott.ru.

Алевтина Михайловна Савичева — д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией микробиологии, ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта» СЗО РАМН. **E-mail:** savicheva@mail.ru.

Кира В. Шалепо — PhD, Senior Researcher, Laboratory of Microbiology. D.O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. **E-mail:** 2474151@mail.ru.

Tatiana G. Mihailenko — Bacteriologist, Laboratory of microbiology. D.O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. **E-mail:** iagmail@ott.ru.

Alevtina M. Savicheva — MD, Professor, Head of Laboratory of Microbiology. D.O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. **E-mail:** savicheva@mail.ru.