

# Молекулярно-генетическая характеристика микробиоты персистирующих биопленок урогенитального тракта у женщин с рецидивирующим течением бактериального вагиноза

К.А.Россоловская<sup>1</sup>, Н.С.Трифонова<sup>1</sup>, Р.А.Чилова<sup>1</sup>, М.Н.Болдырева<sup>2,3</sup>,  
М.А.Петруничева<sup>3</sup>, И.С.Галкина<sup>3</sup>, Е.Е.Брагина<sup>4,5</sup>, А.О.Морозов<sup>1</sup>, Л.Г.Спивак<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация;

<sup>2</sup>Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Российская Федерация;

<sup>3</sup>ООО «ДНК-Технология», Москва, Российская Федерация;

<sup>4</sup>Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Российская Федерация;

<sup>5</sup>Медико-генетический научный центр им. академика Н.П.Бочкова, Москва, Российская Федерация

Бактериальный вагиноз (БВ) ассоциирован с формированием полимикробных биопленок, играющих ключевую роль в патогенезе данного состояния и обеспечивающих устойчивость этиологических агентов к антимикробной терапии. Идентификация биопленок возможна благодаря методам прямой визуализации, однако их применение в рутинной практике ограничено. В связи с этим перспективным направлением является применение метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) как потенциального инструмента, позволяющего выявить различия в микробном пейзаже влагалища у женщин с биопленочным и небиопленочным БВ и определить наиболее патогномоничных для биопленок представителей микроорганизмов.

**Цель.** Сравнить микробный состав влагалища у женщин с биопленочным и небиопленочным БВ и определить молекулярно-генетические характеристики биопленок путем сопоставления данных трансмиссионной электронной микроскопии и ПЦР-РВ.

**Пациенты и методы.** Проведен сравнительный анализ микробного состава влагалища у пациенток с биопленочным и небиопленочным БВ с помощью метода ПЦР-РВ. Идентификация биопленок осуществлялась методом трансмиссионной электронной микроскопии.

**Результаты.** При сопоставлении результатов ПЦР-РВ как до, так и после терапии у пациенток с биопленочной формой БВ выявлялось устойчивое доминирование облигатных анаэробов над бактериями рода *Lactobacillus* в отличие от женщин без биопленок ( $p \leq 0,05$ ). Вместе с тем сравнительный анализ пациенток после терапии выявил широкое разнообразие условно-патогенных микроорганизмов в составе биопленок и значимые количества большинства облигатных анаэробов по сравнению с небиопленочной формой БВ. Значимой молекулярно-генетической характеристикой персистенции биопленок после лечения определен комплекс *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. (AUC = 0,841;  $p \leq 0,05$ ).

**Заключение.** Биопленки при БВ являются устойчивым резервуаром полимикробных ассоциаций. ПЦР-РВ (тест Фемофлор®16) может рассматриваться как перспективный метод непрямой диагностики персистенции биопленок урогенитального тракта в рутинной практике у женщин с рецидивирующим течением БВ.

**Ключевые слова:** бактериальный вагиноз, биопленки, микробный состав биопленок, молекулярно-генетические методы, полимеразная цепная реакция

**Для цитирования:** Россоловская К.А., Трифонова Н.С., Чилова Р.А., Болдырева М.Н., Петруничева М.А., Галкина И.С., Брагина Е.Е., Морозов А.О., Спивак Л.Г. Молекулярно-генетическая характеристика микробиоты персистирующих биопленок урогенитального тракта у женщин с рецидивирующим течением бактериального вагиноза. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2025; 24(5): 32–42. DOI: 10.20953/1726-1678-2025-5-32-42

**Для корреспонденции:**

Россоловская Ксения Антоновна, аспирант кафедры акушерства и гинекологии №1 Института клинической медицины им. Н.В.Склифосовского Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова (Сеченовский Университет)

Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2  
ORCID: 0000-0002-7026-1607; eLibrary SPIN: 4432-5748;  
Scopus Author ID: 58173754900

Статья поступила 04.09.2025, принята к печати 31.10.2025

**For correspondence:**

Ksenia A. Rossolovskaya, Postgraduate Student, Department of Obstetrics and Gynecology No 1, N.V.Skilifosovsky Institute of Clinical Medicine, I.M.Sеченov First Moscow State Medical University (Sechenov University)

Address: 8/2 Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russian Federation  
ORCID: 0000-0002-7026-1607; eLibrary SPIN: 4432-5748;  
Scopus Author ID: 58173754900

The article was received 04.09.2025, accepted for publication 31.10.2025

# Molecular genetic characteristics of the microbiota of persistent biofilms in the urogenital tract in women with recurrent bacterial vaginosis

K.A.Rossolovskaya<sup>1</sup>, N.S.Trifonova<sup>1</sup>, R.A.Chilova<sup>1</sup>, M.N.Boldyreva<sup>2,3</sup>,  
M.A.Petrunicheva<sup>3</sup>, I.S.Galkina<sup>3</sup>, E.E.Bragina<sup>4,5</sup>, A.O.Morozov<sup>1</sup>, L.G.Spivak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>I.M.Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation;

<sup>2</sup>National Research Center – Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russian Federation;

<sup>3</sup>DNA-Technology, LLC, Moscow, Russian Federation;

<sup>4</sup>Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation;

<sup>5</sup>N.P.Bochkov Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russian Federation

Bacterial vaginosis (BV) is associated with the formation of polymicrobial biofilms, which play a key role in the pathogenesis of this condition and ensure the resistance of etiological agents to antimicrobial therapy. Biofilms can be identified by direct visualization methods, but their application in everyday practice is limited. In this regard, a promising direction is the use of real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) as a potential tool for identifying differences in the vaginal microbiome in women with biofilm and non-biofilm BV and determining the microorganisms which are pathognomonic for biofilms.

**Objective.** To compare the composition of the vaginal microbiota in women with biofilm and non-biofilm BV and to determine the molecular genetic characteristics of biofilms by comparing the results of transmission electron microscopy (TEM) and Real-time PCR.

**Patients and methods.** A comparative analysis of the composition of the vaginal microbiota in patients with biofilm and non-biofilm BV was performed using Real-time PCR. Biofilms were identified by TEM.

**Results.** When comparing Real-time PCR results both before and after treatment, patients with biofilm BV showed a consistent predominance of obligate anaerobes over *Lactobacillus* bacteria, in contrast to women without biofilms ( $p \leq 0.05$ ). At the same time, a comparative analysis of patients after treatment revealed a wide variety of opportunistic microorganisms in the composition of biofilms and significant amounts of most obligate anaerobes compared to the non-biofilm form of BV. The significant molecular genetic characteristics of biofilm persistence after treatment were the complex of *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. ( $AUC=0.841$ ;  $p \leq 0.05$ ).

**Conclusion.** Biofilms in BV are a stable reservoir of polymicrobial associations. Real-time PCR (Femoflor®16 test) can be considered a promising method for indirect diagnosis of biofilm persistence in the urogenital tract of women with recurrent BV in everyday practice.

**Key words:** bacterial vaginosis, biofilms, microbial composition of biofilms, molecular genetic methods, Real-time PCR

**For citation:** Rossolovskaya K.A., Trifonova N.S., Chilova R.A., Boldyreva M.N., Petrunicheva M.A., Galkina I.S., Bragina E.E., Morozov A.O., Spivak L.G. Molecular genetic characteristics of the microbiota of persistent biofilms in the urogenital tract in women with recurrent bacterial vaginosis. *Vopr. ginekol. akus. perinatol. (Gynecology, Obstetrics and Perinatology)*. 2025; 24(5): 32–42. (In Russian). DOI: 10.20953/1726-1678-2025-5-32-42

**И**сследования, посвященные изучению влагалищного микробиома, выявляют значительные вариации в составе и количественном соотношении микроорганизмов при бактериальном вагинозе (БВ), указывая на полиэтиологическую природу данного состояния [1, 2]. Вместе с тем роль отдельных микроорганизмов в этом процессе остается недостаточно изученной [3]. Взаимодействие различных бактериальных видов в составе влагалищного микробного сообщества оказывает значительное влияние на патогенез БВ и его клинические проявления [4]. Усугубляющим фактором является образование на поверхности влагалищного эпителия биопленок, которые обеспечивают бактериям защиту от действия антимикробных препаратов и иммунного ответа организма и создают условия для синергетического взаимодействия и устойчивого сосуществования микроорганизмов [3, 5]. Известно, что бактерии в составе биопленки в 1000 раз более устойчивы к антибиотикотерапии по сравнению с планктонными формами вне зависимости от схемы терапии [6].

Прямая идентификация биопленки традиционными диагностическими методами (микроскопическое и микробиологическое исследования) не представляется возможной, однако реализуется с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), сканирующей (СЭМ) и трансмиссионной (ТЭМ) электронной микроскопии [7–9]. Метод ТЭМ является золотым стандартом электронной микроскопии и позволяет с высокой разрешающей способностью (до 0,1 нм) определить морфологию бактерий, обеспечить визуализацию биопленки, в т.ч. ее основного структурного компонента – внеклеточного матрикса [9]. Метод FISH позволяет не только оценить пространственную организацию биопленки, но и идентифицировать некоторые виды и/или группы бактерий, в частности *Gardnerella* spp. и *Famyhessia vaginalae* (ранее *Atopobium vaginalae*), благодаря флуоресцентно меченным зондам 16S рРНК [10]. Тем не менее визуализация биопленок данными методами не дает полного представления о микробном пейзаже влагалища при биопленочной и не-биопленочной форме БВ. Кроме того, применение данных

методов в рутинной клинической практике ограничено, что подчеркивает актуальность изучения и сравнительной оценки микробного состава влагалища с применением более доступных диагностических подходов.

Наиболее перспективным лабораторным методом, способным охарактеризовать микробный спектр биопленок за счет количественной оценки ключевых микроорганизмов, ассоциированных с их формированием, является полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (ПЦР-РВ), обладающая высокой чувствительностью и специфичностью [7]. Преимущества ПЦР-РВ включают возможность мультиплексного анализа, сокращение времени получения результатов, а также выявление трудно- и некультивируемых микроорганизмов, что обеспечивает более детальную и точную оценку микробиоты влагалища [7, 11].

**Цель** – сравнить микробный состав влагалища у женщин с биопленочным и небиопленочным БВ и определить молекулярно-генетические характеристики биопленок путем сопоставления данных ТЭМ и ПЦР-РВ.

## Пациенты и методы

В рамках клинического исследования «Изучение влияния бовгиалуронидазы азоксимера на возможность разрушения биопленок в урогенитальном тракте у пациенток с рецидивирующим бактериальным вагинозом» (ClinicalTrials № NCT06458543) в сравнительный анализ были включены женщины с бактериальным вагинозом, имеющие 3 и более его рецидива в анамнезе, в возрасте 18–45 лет, посетивших амбулаторные медицинские центры с июня 2024 г. по март 2025 г. и подписавшие информированное добровольное согласие. В исследование не включались пациентки, имеющие противопоказания к назначаемым препаратам и с диагностированными инфекциями, передаваемыми половым путем. Исследование выполнялось после одобрения локальным этическим комитетом на базе двух медицинских организаций: клинико-диагностического отделения Сеченовского центра материнства и детства Сеченовского Университета (г. Москва, выписка из протокола №17-23 от 05.10.2023) и ООО «Семейная поликлиника №4» (г. Королев, выписка из протокола №175 от 29.02.2024).

Визуализация биопленок проводилась методом ТЭМ на базе НИИ «ФХБ им. А.Н.Белозерского» МГУ (Москва). Образец биоматериала для исследования получали из заднебоковых сводов влагалища с помощью урогенитального зонда типа А2. Ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме UltraCut III (Reichert Jung Optische Werke AG, Австрия). Готовые образцы отсматривали на электронном микроскопе JEM-1014 (JEOL, Япония), снабженном камерой Orius SC1000W (Gatan, Япония). Под биопленкой понимали организованное микробное сообщество, окруженное внеклеточным матриксом, идентифицируемое по морфологическим критериям [5, 8].

Оценка микробного состава влагалища проводилась всем пациенткам с помощью мультиплексной количественной ПЦР-РВ (тест Фемофлор®16, «ДНК-Технология», Москва) на базе ООО «Научно-методический центр клинической лабораторной диагностики Ситилаб» (Москва, лицензия

№Л041-01137-77/00349073 от 03.06.2019). Материалом для исследования служил соскоб эпителия заднебоковых сводов влагалища, полученный с помощью зонда урогенитального типа А1. Выделение ДНК проводили с помощью набора реагентов «ПРОБА-ДНК-ПЛЮС». ПЦР-анализ выполняли с помощью детектирующего амплификатора «ДТрайм» («ДНК-Технология», Москва) в соответствии с инструкциями к набору реагентов. Тест Фемофлор®16 применялся для определения количества геномной ДНК (контроль взятия материала), общей бактериальной массы, отражающей суммарное количество бактерий в 1 мл образца вагинального отделяемого вне зависимости от жизнеспособности микроорганизмов и их требований к условиям культивирования, а также количественного содержания микроорганизмов. При расчетах были использованы относительные (%) значения показателей теста Фемофлор®16, полученные путем деления абсолютных количеств ( $10^n$ ) отдельных бактерий на сумму выявленных микроорганизмов. Этот показатель рассчитывается математически путем сложения абсолютных значений количества отдельных микроорганизмов.

Тест Фемофлор®16 и методика ТЭМ выполнялись дважды: при включении пациенток в исследование (диагностический этап, до лечения) и на 21-й день исследования после курса терапии (контрольный визит). В данном анализе схема терапии не учитывалась, поскольку целью работы было не сравнение эффективности различных методов лечения, а изучение молекулярно-генетических характеристик микробиоты биопленок урогенитального тракта у женщин с рецидивирующим течением БВ с помощью ПЦР-РВ (тест Фемофлор®16).

Для статистического анализа данных использовался пакет IBM SPSS Statistics 30, версия для Windows. Непараметрические данные представлены в виде медианы ( $Мe$ ), верхнего и нижнего квартилей ( $Q_1; Q_3$ ). Межгрупповые различия по относительным значениям (%) теста Фемофлор®16 оценивались с помощью U-критерия Манна–Уитни. Для сравнения качественных показателей (бинарные переменные) использован критерий  $\chi^2$  Пирсона. Микробная обсемененность фиксировалась при значении  $\geq 10^{3.0}$  ГЭ/мл (геномных эквивалентов на 1 мл биоматериала). Геномный эквивалент представляет собой объем генетического материала (ДНК) конкретного микроорганизма, присутствующего в исследуемом образце. Различия считались статистически значимыми при  $p \leq 0.05$ . Определение значимых бактериальных таксонов в составе биопленки с использованием метода ПЦР-РВ (тест Фемофлор®16) проводилось посредством ROC-анализа среди пациенток с биопленочным БВ до начала терапии и среди женщин с верифицированными методом ТЭМ биопленками после проведенного лечения.

## Результаты исследования и их обсуждение

В сравнительный анализ были включены 95 пациенток. На основании данных ТЭМ на диагностическом этапе (до лечения) были выявлены 64 (67,4%) пациентки с биопленочным БВ и 31 (32,6%) – с небиопленочным БВ. После лечения пациенток с биопленочным БВ методом ТЭМ иден-

Таблица 1. Разнообразие условно-патогенных микроорганизмов  
Table 1. Variety of opportunistic microorganisms (OMO)

| Показатель / Indicator                        | Разнообразие УПМ до лечения / Variety of OMO before treatment |                                       | Разнообразие УПМ после лечения / Variety of OMO after treatment |  |  |   |
|---|---|---------------------------------------|---|--|--|---|
|   | Все пациентки / All patients (n = 95)                         | Все пациентки / All patients (n = 95) | Биопленки разрушены / Biofilms are destroyed (n = 35)           | Биопленки отсутствовали до и после терапии / No biofilms present before and after treatment (n = 31) | Биопленки не обнаружены (суммарно) / No biofilms detected (total) (n = 66) | Биопленки обнаружены / Biofilms are detected (n = 29) |
| Медиана / Median                              | 7   | 3                                     | 2   | 2  | 2  | 6   |
| Минимум / Minimum                             | 1   | 0                                     | 0   | 0  | 0  | 0   |
| Максимум / Maximum                            | 13  | 13                                    | 10  | 12   | 12   | 13  |
| 25-й percentile / 25 <sup>th</sup> percentile | 4   | 1                                     | 0   | 1  | 1  | 3   |
| 50-й percentile / 50 <sup>th</sup> percentile | 7   | 3                                     | 2   | 2  | 2  | 6   |
| 75-й percentile / 75 <sup>th</sup> percentile | 9   | 6                                     | 5   | 4  | 4  | 8   |
| p-значение / p-value                          | 0,000*  |                                       | 0,629   |  | 0,007*   |   |

\*различия показателей статистически значимы при  $p \leq 0,05$ . Метод  $\chi^2$  Пирсона.

\*differences in indicators are statistically significant at  $p \leq 0,05$ . Pearson's chi-squared test was used.

тифицировали сохранение структуры биопленки у 29 (45,3%) и подтвердили факт разрушения биопленок в ходе лечения у 35 (54,7%) из 64 участниц исследования. Вместе с тем у всех пациенток с небиопленочным БВ ( $n = 31$ ) биопленки после лечения также не были идентифицированы ( $n = 31$ ). Таким образом, при контрольном обследовании (после лечения) пациенток с помощью метода ТЭМ биопленки были обнаружены у 29 (30,5%) и отсутствовали у 66 (69,5%) из 95 обследованных женщин (рис. 1).

Полимикробная природа БВ была подтверждена полученными в настоящем исследовании данными. Исходное медианное значение верифицированных с помощью ПЦР-РВ представителей условно-патогенной микрофлоры (УПМ) у всех пациенток ( $n = 95$ ) составляло 7 из 13 таксономических групп ( $Q_1 = 4$ ;  $Q_3 = 9$ ) (табл. 1). Наиболее распространеными облигатно-анаэробными микроорганизмами во влагалище женщин с рецидивирующим течением БВ, выявленным в концентрации  $\geq 10^{4,0}$  ГЭ/мл, были *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. (97%,  $n = 92$ ) и бактерии рода *Eubacterium* (92%,  $n = 87$ ), которые встречались у женщин как с небиопленочным, так и с биопленочным БВ примерно в равной степени: 94 и 98% для *G. vaginalis* + *P. bivia* + *Porphyromonas* spp. и 88 и 94% для *Eubacterium* spp. Другие облигатные анаэробы идентифицировались реже, но более чем в половине всех случаев (55–72%). *F. vaginalis* определялась у 47% женщин ( $n = 44$ ): у 31% женщин с небиопленочным БВ и у 53% – с биопленочным БВ. Наименьшая частота встречаемости была характерна для такой ассоциации как *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp. (35%,  $n = 33$ ). Стоит отметить, что, хотя исходная частота обнаружения всех условно-патогенных микроорганизмов у женщин с верифицированными биопленками была выше, чем у женщин без биопленок, статистически значимых различий между данными пациентками по разнообразию УПМ (на основе качественного анализа) на диагностическом этапе не было выявлено ( $p = 0,513$ ). Тем не менее, опираясь на данные количественного анализа относительных значений показателей теста Фемофлор®16 как наиболее достоверного способа оценки микробиома [1, 11, 12], удалось

подчеркнуть некоторые особенности микробного состава влагалища при биопленочной форме БВ.

Сравнительная оценка количественных результатов теста Фемофлор®16 до и после лечения у пациенток с верифицированными и отсутствующими биопленками урогенитального тракта показана в табл. 2. Контроль взятия материала был адекватным ( $\geq 10^4$  ГЭ/мл) у всех обследованных пациенток на каждом этапе обследования. На диагностическом этапе выявлены статистически значимые межгрупповые

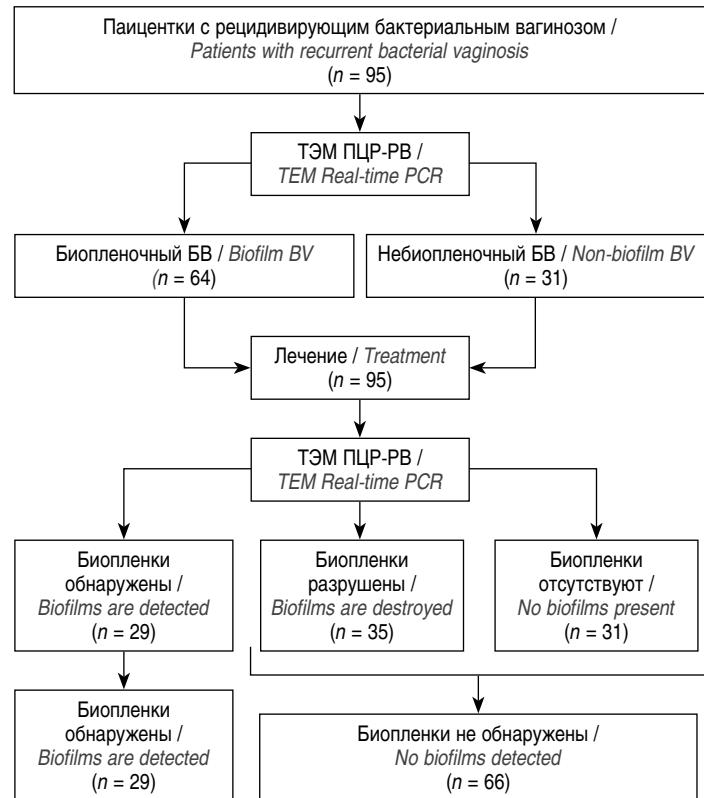


Рис. 1. Распределение пациентов в зависимости от наличия биопленок.

Fig. 1. Distribution of patients depending on the presence of biofilms.

Таблица 2. Сравнительная оценка абсолютных ( $10^n$ ) и относительных (%) показателей теста Фемофлор®16 у пациенток с небиопленочным и биопленочным бактериальным вагинозом до и после лечения

Table 2. Comparative assessment of absolute ( $10^n$ ) and relative (%) indicators of Femoflор®16 test in patients with non-biofilm and biofilm bacterial vaginosis before and after treatment

| Показатели теста Фемофлор®16 / Femoflор®16 test results                               | До лечения / Before treatment                        |  | p      | После лечения / After treatment                                     |   | p      |  |  |
|---|--|--|--------|---|---|--------|--|--|
|   | Медиана (25%; 75%) / Median (25%; 75%)               |  |        | Медиана (25%; 75%) / Median (25%; 75%)                              |   |        |  |  |
|   | Небиопленочный<br>БВ /<br>Non-biofilm BV<br>(n = 31) | Биопленочный<br>БВ /<br>Biofilm BV<br>(n = 64) |        | Биопленки<br>не обнаружены /<br>No biofilms<br>detected<br>(n = 66) | Биопленки<br>обнаружены /<br>Biofilms<br>are detected<br>(n = 29) |        |  |  |
| KBM, $10^n$ / Control sampling material, $10^n$                                       | 5,1 (4,7; 5,7)                                       | 5,4 (4,6; 5,7)                                 | 0,682  | 4,9 (4,3; 5,4)  | 5,3 (4,2; 5,8)  | 0,402  |  |  |
| ОБМ, $10^n$ / Total bacterial mass, $10^n$  | 7,2 (5,9; 7,7)                                       | 7,1 (6,4; 7,5)                                 | 0,827  | 6,4 (5,5; 7,1)  | 6,5 (6,2; 7,5)  | 0,242  |  |  |
| <i>Lactobacillus</i> spp., %  | 38,1 (1,3; 93,7)                                     | 6,8 (0,2; 27,6)                                | 0,007* | 99,7 (93,0; 100,0)  | 13,6 (0,1; 77,1)  | 0,000* |  |  |
| Сем. <i>Enterobacteriaceae</i> , %  | 0,0 (0,0; 0,0)                                       | 0,0 (0,0; 0,0)                                 | 0,741  | 0,0 (0,0; 0,0)  | 0,0 (0,0; 0,0)  | 0,911  |  |  |
| <i>Streptococcus</i> spp., %  | 0,0 (0,0; 0,0)                                       | 0,0 (0,0; 0,1)                                 | 0,070  | 0,0 (0,0; 0,0)  | 0,0 (0,0; 0,0)  | 0,949  |  |  |
| <i>Staphylococcus</i> spp., %   | 0,0 (0,0; 0,0)                                       | 0,0 (0,0; 0,0)                                 | 0,875  | 0,0 (0,0; 0,0)  | 0,0 (0,0; 0,0)  | 0,477  |  |  |
| Аэробы (ФА), % / Aerobes (facultative), %   | 0,0 (0,0; 0,0)                                       | 0,0 (0,0; 0,1)                                 | 0,496  | 0,0 (0,0; 0,2)  | 0,0 (0,0; 0,5)  | 0,916  |  |  |
| <i>Gardnerella vaginalis</i> + <i>Prevotella bivia</i> + <i>Porphyromonas</i> spp., % | 6,4 (1,2; 35,3)                                      | 29,4 (8,3; 55,5)                               | 0,049* | 0,0 (0,0; 0,2)  | 29,4 (0,6; 53,3)  | 0,000* |  |  |
| <i>Eubacterium</i> spp., %  | 11,9 (1,0; 30,0)                                     | 15,0 (3,2; 28,1)                               | 0,808  | 0,0 (0,0; 0,4)  | 7,1 (0,2; 29,2)   | 0,000* |  |  |
| <i>Sneathia</i> spp. + <i>Leptotrichia</i> spp. + <i>Fusobacterium</i> spp., %        | 0,0 (0,0; 0,9)                                       | 0,0 (0,0; 0,9)                                 | 0,618  | 0,0 (0,0; 0,0)  | 0,0 (0,0; 0,0)  | 0,211  |  |  |
| <i>Megasphaera</i> spp. + <i>Veillonella</i> spp. + <i>Dialister</i> spp., %          | 0,0 (0,0; 1,9)                                       | 0,4 (0,0; 4,0)                                 | 0,112  | 0,0 (0,0; 0,0)  | 0,1 (0,0; 4,3)  | 0,000* |  |  |
| <i>Lachnobacterium</i> spp. + <i>Clostridium</i> spp., %                              | 0,0 (0,0; 0,1)                                       | 0,0 (0,0; 0,2)                                 | 0,352  | 0,0 (0,0; 0,0)  | 0,0 (0,0; 0,3)  | 0,003* |  |  |
| <i>Mobiluncus</i> spp. + <i>Corinebacterium</i> spp., %                               | 0,0 (0,0; 0,0)                                       | 0,0 (0,0; 0,3)                                 | 0,138  | 0,0 (0,0; 0,0)  | 0,0 (0,0; 0,5)  | 0,023* |  |  |
| <i>Peptostreptococcus</i> spp., %   | 0,0 (0,0; 0,3)                                       | 0,0 (0,0; 0,4)                                 | 0,327  | 0,0 (0,0; 0,0)  | 0,0 (0,0; 0,2)  | 0,024* |  |  |
| <i>Atopobium vaginalae</i> , %  | 0,0 (0,0; 17,9)                                      | 1,0 (0,0; 31,2)                                | 0,108  | 0,0 (0,0; 0,0)  | 0,0 (0,0; 15,1)   | 0,001* |  |  |
| Анаэробы (OA), % / Aerobes (obligate), %  | 61,9 (5,9; 98,7)                                     | 92,6 (71,8; 99,8)                              | 0,011* | 0,1 (0,0; 2,0)  | 84,1 (13,1; 99,9)   | 0,000* |  |  |
| <i>Candida</i> spp. (1)   | 0,0 (0,0; 0,0)                                       | 0,0 (0,0; 0,0)                                 | 0,475  | 0,0 (0,0; 0,0)  | 0,0 (0,0; 1,6)  | 0,654  |  |  |
| <i>Mycoplasma hominis</i> (1)   | 0,0 (0,0; 0,0)                                       | 0,0 (0,0; 0,0)                                 | 0,956  | 0,0 (0,0; 0,0)  | 0,0 (0,0; 0,0)  | 0,636  |  |  |
| <i>Ureaplasma</i> spp. (1)  | 0,0 (0,0; 4,3)                                       | 0,0 (0,0; 4,3)                                 | 0,679  | 0,0 (0,0; 3,4)  | 0,0 (0,0; 3,8)  | 0,293  |  |  |

\* межгрупповые различия показателей статистически значимы при  $p \leq 0,05$  (U-критерий Манна–Уитни).

1 – В таблице приведены медианы и квартилы для абсолютных значений ( $10^n$ ). Для оценки межгрупповых различий использовались качественные значения (бинарные переменные), наличие микробной обсемененности (MC) фиксировалось при значениях  $\geq 104,0$ . Метод –  $\chi^2$  Пирсона.

\* intergroup differences in indicators are statistically significant at  $p \leq 0,05$  (Mann–Whitney U test).

1 – The table shows the medians and quartiles for absolute values ( $10^n$ ). Qualitative values (binary variables) were used to assess intergroup differences, and the presence of microbial contamination (MC) was recorded at  $\geq 104,0$ . Pearson's chi-squared test was used.

различия по относительным значениям *Lactobacillus* spp., *G. vaginalis* + *P. bivia* + *Porphyromonas* spp., а также общему содержанию облигатных анаэробов. Доля (%) бактерий рода *Lactobacillus* до лечения была выше у пациенток с небиопленочным БВ, чем у женщин с биопленочным БВ ( $Me = 38,1$  (1,3; 93,7) и  $Me = 6,8$  (0,2; 27,6) соответственно,  $p = 0,007$ ). Облигатные анаэробы, напротив, доминировали у пациенток с верифицированными биопленками по сравнению с участницами, у которых биопленки не визуализировались ( $Me = 92,6$  (71,8; 99,8) и  $Me = 61,9$  (5,9; 98,7) соответственно,  $p = 0,011$ ). Отмечена высокая концентрация таких микроорганизмов, как *G. vaginalis* + *P. bivia* + *Porphyromonas* spp. как у женщин с небиопленочным БВ, так и с биопленочным БВ ( $Me = 6,4$  (1,2; 35,3) и  $Me = 29,4$  (8,3; 55,5) соответственно), однако значение данного параметра было значимо выше у последних ( $p = 0,049$ ). Вместе с тем обращают на себя внимание большие количества бактерий рода *Eubacterium* и микроорганизмов вида *F. vaginalae* у всех обследованных пациенток, однако статистическая значимость межгрупповых различий по данным параметрам не была установлена ( $p > 0,05$ ).

После лечения проведена сравнительная оценка состава микробиома влагалища между женщинами с персистирующими ( $n = 29$ ), разрушенными в ходе терапии ( $n = 35$ ) и отсутствующими как до, так и после лечения ( $n = 31$ ) биопленками. При контрольном обследовании у пациенток с разру-

шенными в ходе лечения биопленками по сравнению с женщинами, у которых биопленки не обнаруживались ни до, ни после терапии, не отмечено статистически значимых различий по уровню *Lactobacillus* spp. ( $Me = 99,7$  (87,7; 100,0) и  $Me = 99,7$  (94,1; 100,0) соответственно,  $p = 0,974$ ) и суммарному количеству облигатных анаэробов ( $Me = 0,1$  (0,0; 2,7) и  $Me = 0,1$  (0,0; 1,2) соответственно,  $p = 0,765$ ) (рис. 2, 3). Относительные значения всех представителей облигатно-анаэробных бактерий и разнообразие УПМ у женщин с разрушенными в процессе лечения или отсутствующими на обоих этапах обследования биопленками не показали значимых различий ( $p > 0,05$ ). Таким образом, схожие молекулярно-генетические профили пациенток с разрушенными в ходе терапии ( $n = 35$ ) и отсутствующими как до, так и после терапии ( $n = 31$ ) биопленками позволили объединить данных женщин в одну группу ( $n = 66$ ) и сопоставить данные ПЦР-РВ у этих участниц исследования ( $n = 66$ ) с результатами молекулярно-генетического теста у женщин с выявленными после терапии биопленками ( $n = 29$ ).

Сравнительный качественный анализ разнообразия УПМ до и после терапии продемонстрировал статистически значимое ( $p = 0,000$ ) снижение гетерогенности таксономических групп микроорганизмов у всех пациенток (табл. 1). Вместе с тем медианное значение выявленных таксономических групп УПМ у женщин с выявленными биопленками ( $Me = 6$ ;  $Q_1 = 3$ ;  $Q_3 = 8$ ) было в 3 раза выше, чем у представительниц

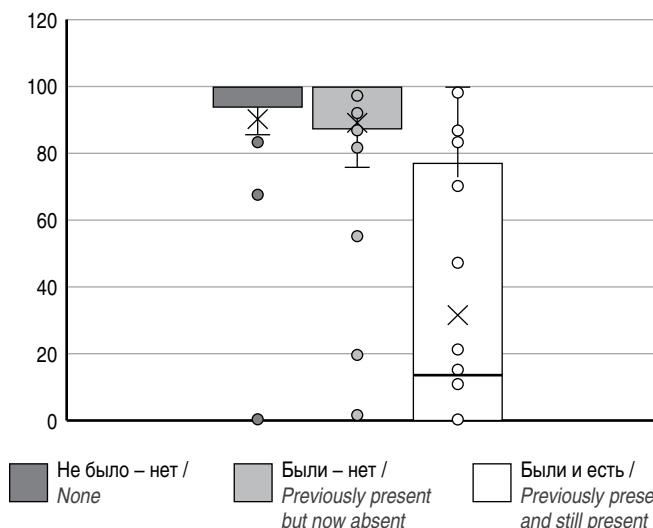


Рис. 2. Доля (%) *Lactobacillus* spp. у пациенток с отсутствующими (не было – нет), разрушенными (были – нет) и сохраняющимися (были и есть) биопленками во влагалище (после терапии).

Fig. 2. Proportion (%) of *Lactobacillus* spp. in patients with absent (none), destroyed (previously present but now absent) and persistent (previously present and still present) biofilms in the vagina (after treatment).

без биопленок ( $Me = 2$ ;  $Q_1 = 1$ ;  $Q_3 = 4$ ;  $p = 0,007$ ), что подтверждает роль биопленки как резервуара для сохранения широкого спектра микроорганизмов. Анализ количественных показателей теста Фемофлор®16 выявил значительное увеличение доли *Lactobacillus* spp. у пациенток с отсутствующими после лечения биопленками ( $Me = 99,7$ ;  $Q_1 = 93,0$ ;  $Q_3 = 100,0$ ;  $p = 0,000$ ), причем нормализация микрофлоры отмечена как у женщин с не обнаруженными ни до, ни после терапии биопленками ( $n = 31$ ), так и у пациенток с разрушенными в ходе лечения биопленками ( $n = 35$ ), о чем уже было сказано выше. Подобная тенденция не наблюдалась у пациенток с персистирующими после проведенного лечения биопленками вне зависимости от схемы терапии ( $Me = 13,6$ ;  $Q_1 = 0,1$ ;  $Q_3 = 77,1$ ;  $p = 0,000$ ). Общее количество облигатных анаэробов значимо преобладало у пациенток с верифицированными биопленками по сравнению со всеми ( $n = 66$ ) женщинами без биопленок ( $Me = 84,1$  (13,1; 99,9) и  $Me = 0,1$  (0,0; 2,0) соответственно,  $p = 0,000$ ). Вместе с тем, как было отмечено выше, доля (%) облигатных анаэробов во влагалище уменьшалась не только среди женщин с отсутствующими изначально и после лечения биопленками ( $n = 31$ ), но и у пациенток с разрушенными медикаментозно биопленками ( $n = 35$ ). У участниц с биопленками в отличие от пациенток без них отмечены высокие значения для всех представителей облигатно-анаэробной микрофлоры ( $p \leq 0,05$ ), за исключением параметра *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp., межгрупповые различия по которому не были статистически значимы ( $p > 0,05$ ). Вместе с тем у пациенток с разрушенными биопленками ( $n = 35$ ) по сравнению с женщинами с сохраняющимися после терапии биопленками были получены почти идентичные результаты, при которых все представители облигатных анаэробов, кроме *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp. ( $p = 0,291$ ) и

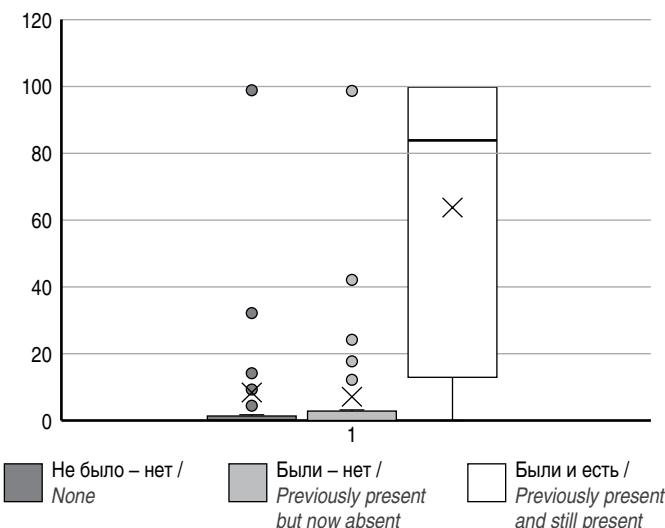


Рис. 3. Доля (%) облигатных анаэробов у пациенток с отсутствующими (не было – нет), разрушенными (были – нет) и сохраняющимися (были и есть) биопленками во влагалище (после терапии). /

Fig. 3. Proportion (%) of obligate anaerobes in patients with absent (none), destroyed (previously present but now absent) and persistent (previously present and still present) biofilms in the vagina (after treatment).

*Mobiluncus* spp. + *Corinebacterium* spp. ( $p = 0,075$ ), выявлялись в более высоких концентрациях, достигая статистической значимости ( $p < 0,05$ ). Наиболее высокие относительные количества при контролльном обследовании участниц с обнаруженными биопленками были характерны для *G. vaginalis* + *P. bivia* + *Porphyromonas* spp. ( $Me = 29,4$ ;  $Q_1 = 0,6$ ;  $Q_3 = 53,3$ ), *Eubacterium* spp. ( $Me = 7,1$ ;  $Q_1 = 0,2$ ;  $Q_3 = 29,2$ ) и *F. vaginiae* ( $Me = 0,0$ ;  $Q_1 = 0,0$ ;  $Q_3 = 15,1$ ) (табл. 2).

Таким образом, полученные результаты указывают на роль биопленки в поддержании устойчивости микробных ассоциаций даже после воздействия антимикробной терапии, в то время как эрадикация биопленки, напротив, способствует нормализации микробного состава влагалища и делает сопоставимыми данные ПЦР-РВ у этих женщин и пациенток, у которых биопленки всегда отсутствовали.

В ROC-анализ для определения молекулярно-генетических характеристик микробиоты биопленки до начала терапии и после проведенного лечения были включены все представители облигатно-анаэробных микроорганизмов, а также суммарный показатель общего содержания облигатных анаэробов, учитывая их характерную ассоциацию с БВ. На диагностическом этапе (до начала терапии) ROC-анализ показал низкое качество классификации биоплочечной формы БВ как на основе каждого из облигатно-микроорганизмов в отдельности, так и их суммарного показателя ( $p > 0,05$ ). Данный результат, вероятно, обусловлен одновременным присутствием микроорганизмов в составе как биоплочечных, так и планктонных форм, что было подтверждено данными ТЭМ. При повторном обследовании пациенток с выявленными биопленками (после лечения) наибольшее значение площади под ROC-кривой (AUC = 0,840;  $p = 0,000$ ) зафиксировано для общего содержания облигатных анаэробов (рис. 4, табл. 3). Сопоставимый показатель

Таблица 3. Площадь под ROC-кривой (после лечения)  
 Table 3. Area under the ROC curve (after treatment)

| Переменные результата проверки /<br>Test result variables                             | Область /<br>Area | Средне-<br>квадратичная<br>ошибка <sup>a</sup> /<br>Root mean<br>square error <sup>a</sup> | Асимптотическая<br>значимость<br>(р-значение) <sup>b</sup> /<br>Asymptotic significance<br>(p-value) <sup>b</sup> | Асимптотический<br>95%-й доверительный интервал /<br>Asymptotic 95% confidence interval | Нижняя граница /<br>Lower bound | Верхняя граница /<br>Upper bound |
|---|-------------------|--|---|---|---------------------------------|----------------------------------|
| <i>Gardnerella vaginalis</i> + <i>Prevotella bivia</i> + <i>Porphyromonas</i> spp., % | <b>0,839</b>      | 0,049  | <b>0,000*</b>   | 0,743   | 0,935                           |                                  |
| <i>Eubacterium</i> spp., %  | 0,785             | 0,056  | <b>0,000*</b>   | 0,676   | 0,895                           |                                  |
| <i>Sneathia</i> spp. + <i>Leptotrichia</i> spp. + <i>Fusobacterium</i> spp., %        | 0,539             | 0,066  | 0,553   | 0,409   | 0,669                           |                                  |
| <i>Megasphaera</i> spp. + <i>Veillonella</i> spp. + <i>Dialister</i> spp., %          | 0,689             | 0,064  | <b>0,003*</b>   | 0,563   | 0,814                           |                                  |
| <i>Lachnolacterium</i> spp. + <i>Clostridium</i> spp., %                              | 0,620             | 0,067  | 0,073   | 0,489   | 0,751                           |                                  |
| <i>Mobiluncus</i> spp. + <i>Corinebacterium</i> spp., %                               | 0,609             | 0,066  | 0,099   | 0,480   | 0,738                           |                                  |
| <i>Peptostreptococcus</i> spp., %   | 0,598             | 0,067  | 0,140   | 0,468   | 0,729                           |                                  |
| <i>Atopobium vaginalae</i> , %  | 0,638             | 0,067  | <b>0,039*</b>   | 0,507   | 0,770                           |                                  |
| Анаэробы (OA), % / Aerobes (Obligate anaerobes), %                                    | <b>0,840</b>      | 0,050  | <b>0,000*</b>   | 0,742   | 0,939                           |                                  |

<sup>a</sup> В соответствии с непараметрическим предположением.

<sup>b</sup> Нулевая гипотеза: = действительная площадь = 0,5.

\* различия показателей статистически значимы при  $p \leq 0,05$ .

<sup>a</sup> In accordance with the non-parametric test.

<sup>b</sup> Null hypothesis: = actual area = 0,5.

\* differences in indicators are statistically significant at  $p \leq 0,05$ .

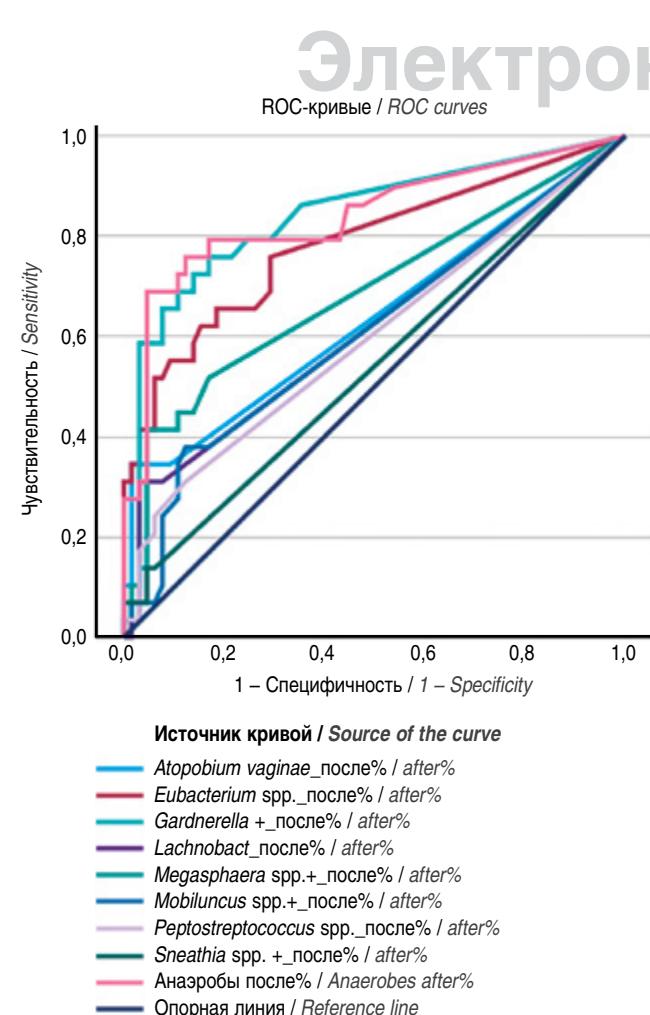


Рис. 4. ROC-кривые на основе показателей теста Фемофлор®16 для пациенток с биопленочным бактериальным вагинозом (после лечения).

Fig. 4. ROC curves based on Femoflор®16 test results for patients with biofilm bacterial vaginosis (after treatment).

получен для комплекса *G. vaginalis* + *P. bivia* + *Porphyromonas* spp. (AUC = 0,839;  $p = 0,000$ ). Практически идентичные значения данных показателей указывают на то, что именно комплекс *G. vaginalis* + *P. bivia* + *Porphyromonas* spp. формирует основу анаэробного биопленочного сообщества. Данный микробный кластер может рассматриваться как ключевой молекулярно-генетический индикатор персистенции биопленок или неполного устранения патогенной микрофлоры влагалища после терапии. Статистически значимыми оказались также такие таксоны, как *Eubacterium* spp. (AUC = 0,785;  $p = 0,000$ ), *Megasphaera* spp. + *Veillonella* spp. + *Dialister* spp. (AUC = 0,689;  $p = 0,003$ ) и *F. vaginalae* (AUC = 0,638;  $p = 0,039$ ). Полученные данные подтверждают полимикробный характер биопленок при БВ, в формировании которых участвуют многочисленные облигатно-анаэробные таксоны. Тем не менее комплекс *G. vaginalis* + *P. bivia* + *Porphyromonas* spp. представляет собой наиболее весомый структурный и количественный элемент, на долю которого приходится основной объем микробной биомассы в составе биопленок. В связи с этим при оценке терапевтической эффективности и косвенном определении сохранности биопленочных структур у пациенток с рецидивирующими течением БВ особую диагностическую ценность приобретает количественное определение данного комплекса методом ПЦР-РВ. Остальные облигатно-анаэробные микроорганизмы, хотя и обладают значимой ролью, по-видимому, выступают как сопутствующие компоненты биопленочного сообщества. Так, с помощью рангового корреляционного анализа Спирмена было установлено, что все микроорганизмы имеют положительную связь с комплексом *G. vaginalis* + *P. bivia* + *Porphyromonas* spp. ( $p \leq 0,05$ ), однако наибольшие значения коэффициента Спирмена были получены для группы облигатных анаэробов в целом (0,896) и таких таксономических групп, как: *Eubacterium* spp. (0,841) – сильная связь, *Megasphaera* spp. + *Veillonella* spp. + *Dialister* spp. (0,620), *F. vaginalae* (0,542) – умеренная сила связи. Слабую связь с *G. vaginalis* + *P. bivia* + *Porphyromonas* spp. имели только бактерии *Mobiluncus* spp. + *Corinebacterium* spp. (0,283).

Таблица 4. Площадь под ROC-кривой для *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. (после лечения)  
Table 4. Area under the ROC curve for *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. (after treatment)

| Переменные результата проверки / Test result variables                                | Область / Area | Средне-квадратичная ошибка <sup>a</sup> / Root mean square error <sup>a</sup> | Асимптотическая значимость (р-значение) <sup>b</sup> / Asymptotic significance (p-value) <sup>b</sup> | Асимптотический 95% доверительный интервал / Asymptotic 95% confidence interval |                               |
|---|----------------|---|---|---|-------------------------------|
|   |                |   |   | Нижняя граница / Lower bound  | Верхняя граница / Upper bound |
| <i>Gardnerella vaginalis</i> + <i>Prevotella bivia</i> + <i>Porphyromonas</i> spp., % | 0,841          | 0,049   | 0,000*  | 0,745   | 0,936                         |

<sup>a</sup> В соответствии с непараметрическим предположением.

<sup>b</sup> Нулевая гипотеза: = действительная площадь = 0,5.

\* различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ ).

<sup>a</sup> In accordance with the non-parametric test.

<sup>b</sup> Null hypothesis: = actual area = 0,5.

\* differences in indicators are statistically significant ( $p < 0,05$ ).

Учитывая близкие по значениям ROC-кривые для общего количества облигатных анаэробов и *G. vaginalis* + *P. bivia* + *Porphyromonas* spp. после лечения, комплекс с *G. vaginalis* был проанализирован отдельно от других показателей как потенциально оптимальная молекулярно-генетическая характеристика микробиоты персистирующих биопленок урогенитального тракта, обладающая высокой классифицирующей способностью (рис. 5, табл. 4). Результаты ROC-анализа показали, что площадь под кривой (AUC) для данного микробного комплекса составила 0,841 (95% ДИ: 0,745–0,936;  $p = 0,000$ ), что превысило тот же показатель, рассчитанный совместно с другими представителями облигатно-анаэробных микроорганизмов и общим количеством облигатных анаэробов (AUC = 0,839,  $p = 0,000$ ). Эти данные подтверждают, что выделение наиболее значимых таксонов из общей группы облигатных анаэробов повышает точность модели, и подчеркивают их ведущую роль в формировании и устойчивости биопленки на вагинальной слизистой.

Таким образом, результаты настоящего исследования отражают полимикробный характер БВ, при котором избыточный рост широкого спектра облигатно-анаэробных микроорганизмов, преимущественно *G. vaginalis* + *P. bivia* + *Porphyromonas* spp. (97%), вытесняет представителей нормоформы (*Lactobacillus* spp.), что находит отражение в работах других авторов [13, 14]. Преобладание облигатных анаэробов особенно выражено в ситуации биопленочного БВ, сопровождаясь более значимым подавлением количества *Lactobacillus* spp. ( $p = 0,007$ ). Схожие данные были получены Swidsinskii et al., которые отмечали, что у женщины с биопленочным БВ гетерогенность микробных таксонов и количественные значения бактерий (преимущественно бактерий рода *Gardnerella* и *F. vaginalae*) выше по сравнению с пациентками без биопленок [14]. Авторы также подчеркнули доминирование бактерий рода *Gardnerella* в структуре биопленки и ее ключевую роль в формировании этой структуры. За счет выраженной адгезивности и цитотоксичности к влагалищному эпителию *G. vaginalis* рассматривается в качестве его первичного колонизатора, ответственного за развитие дисбиотического состояния влагалища (БВ) и инициирующего образование биопленки [15]. Вместе с тем в литературе имеются данные о способности других микроорганизмов, ассоциированных с БВ, внедряться в состав предварительно сформированной биопленки и поддерживать ее структурную целостность, а также о тенденции большинства из этих бактерий к самостоятельному росту в виде биопле-

нок [16, 17]. Эти данные сопоставимы с результатами настоящей работы, в котором комплекс с *G. vaginalis* исходно был обнаружен почти у всех (98%) пациенток с биопленочным БВ, за исключением одной участницы, в количестве, статистически значимо превосходящем тот же показатель у женщин без биопленок ( $p = 0,049$ ). Наряду с *Gardnerella* обсуждается роль *F. vaginalae* (*A. vaginalae*) в патогенезе БВ, в т.ч. в ситуации его биопленочных форм. Так, например, в исследовании Hardy et al. *A. vaginalae* присутствовала в 54,1% образцов вагинальных биопленок, что сравнимо с результатами настоящего исследования, где данный микроорганизм исходно присутствовал у 53% пациенток с верифицированными биопленками [18]. Интересным результатом данной работы стало также выявление почти у всех обследованных пациенток (92%), в т.ч. у 94% представительниц с биопленочным БВ, бактерий рода *Eubacterium* spp., которые часто

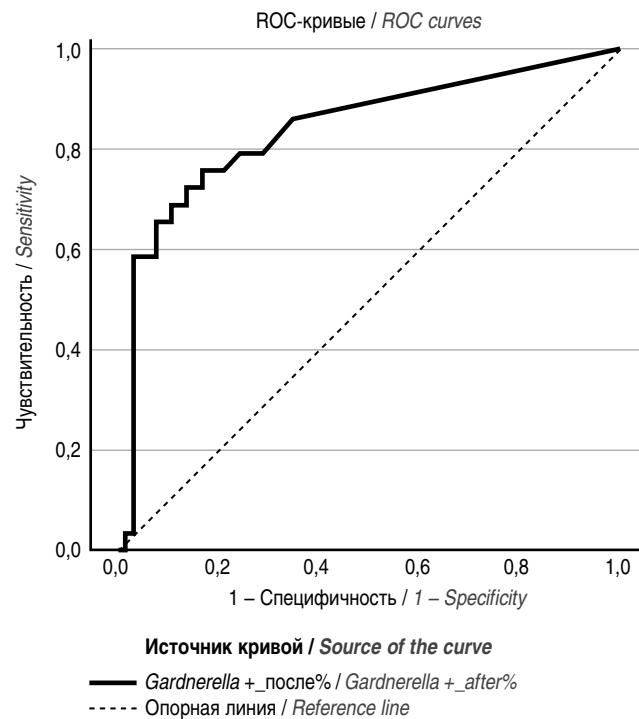


Рис. 5. ROC-кривая *G. vaginalis* + *P. bivia* + *Porphyromonas* spp. для пациенток с биопленочным бактериальным вагинозом (после лечения).

Fig. 5. ROC curve for *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. for patients with biofilm bacterial vaginosis (after treatment).

упоминаются в качестве представителей микробного состава влагалища в ситуации БВ другими авторами. Похожие данные были получены Назаровой и соавт., которые также отметили распространность данных бактерий у женщин с БВ, используя аналогичный метод идентификации бактерий (ПЦР-РВ, тест Фемофлор<sup>®16</sup>) [15]. Однако их потенциальная роль в образовании биопленки недостаточно изучена.

Разнообразие УПМ и концентрации облигатных анаэробов в группе женщин с верифицированными биопленками после терапии было значимо выше по сравнению с участниками, у которых данные структуры не визуализировались или были разрушены ( $p \leq 0,05$ ), что подтверждает роль биопленки в сохранении устойчивости и персистенции микробного профиля у пациенток с рецидивирующими течениями БВ и защитную функцию биопленки от воздействия антимикробных препаратов. Напротив, исходное отсутствие биопленки или ее целенаправленное разрушение путем медикаментозного воздействия обеспечивали успешную эрадикацию ассоциированных с БВ микроорганизмов, снижение общего количества анаэробов и нормализацию микробиома влагалища за счет увеличения доли *Lactobacillus* spp. ( $p \leq 0,05$ ). Таким образом, биопленка может быть рассмотрена в качестве резервуара, который не только снижает эффективность терапии, но и способствует развитию очередного эпизода БВ за счет сохранения остаточных этиологических агентов [19–21]. Так, например, в исследовании Swidsinski et al. было показано, что выявленная у 40% пациенток с БВ биопленка *Gardnerella* вновь присутствовала через 10–12 нед. после окончания курса терапии моксифлоксацином и успешного первоначального подавления ее роста [22]. Это, по мнению авторов, связано именно с реализацией персистирующей, но биохимически неактивной биопленки. Ввиду этого определение молекулярно-генетических характеристик микробиоты персистирующих биопленок урогенитального тракта женщин с БВ после проведенной терапии представляет собой наиболее актуальную задачу. По результатам настоящей работы присутствие *G. vaginalis* + *P. bivia* + *Porphyromonas* spp. после терапии является достоверным молекулярно-генетическим маркером персистенции биопленки на слизистой влагалища, тем не менее ее отсутствие не исключает сохранения остаточной биопленки, целостность которой может поддерживаться другими ассоциированными с БВ микроорганизмами. Определить исходные молекулярно-генетические характеристики биопленочной формы БВ (до лечения) в данном исследовании не представилось возможным, так как на диагностическом этапе с помощью метода ТЭМ отмечены не только адгезированные формы бактерий (в составе биопленки), но и планктоные микроорганизмы, что, вероятно, нивелирует различие между группами. После терапии диспергированные бактериальные клетки были эффективно устраниены, что позволило сконцентрироваться на оценке микробного профиля влагалища при биопленочной форме БВ.

Необходимы дополнительные исследования, сосредоточенные преимущественно на биопленочной форме БВ, с большим размером выборки. Кроме того, в данной работе не была учтена изолированная роль *G. vaginalis* как потенциально более чувствительного и специфичного маркера

наличия биопленок у женщин с БВ. Это станет возможно благодаря новому тесту Фемофлор<sup>®II</sup>, разработанному отечественной компанией «ДНК-Технология», и будет являться предметом наших последующих изучений. Тем не менее данное исследование позволило оценить молекулярно-генетические особенности микрофлоры с биопленочным и не-биопленочным БВ, а также различие микробного состава после лечения у женщин с отсутствующими или разрушенными медикаментозно и персистирующими биопленками.

## Заключение

Результаты проведенного исследования подтверждают патогенетическую роль биопленок в аспекте БВ, способствующих сохранению устойчивых микробных ассоциаций даже после проведенной антимикробной терапии [23]. Метод ПЦР-РВ является высокочувствительным и специфичным инструментом для диагностики БВ, в т.ч. в ситуации его биопленочных форм, позволяя оценить не только качественный состав микробиома влагалища, но и количественные показатели ключевых микроорганизмов, что имеет важное значение для подбора адекватной терапии. Молекулярные тесты, такие как Фемофлор<sup>®16</sup>, обеспечивают глубокое понимание микробной экологии влагалища и помогают выявлять молекулярно-генетические характеристики микробиоты персистирующих биопленок после проведенного курса лечения, что не представляется возможным с помощью микроскопического и микробиологического методов [24]. Данный диагностический метод может быть рассмотрен в качестве альтернативы специальным диагностическим методам, в частности ТЭМ, которая на сегодняшний день не доступна в рутинной клинической практике.

## Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

## Financial support

No financial support has been provided for this work.

## Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

## Информированное согласие

При проведении исследования было получено информированное согласие пациентов.

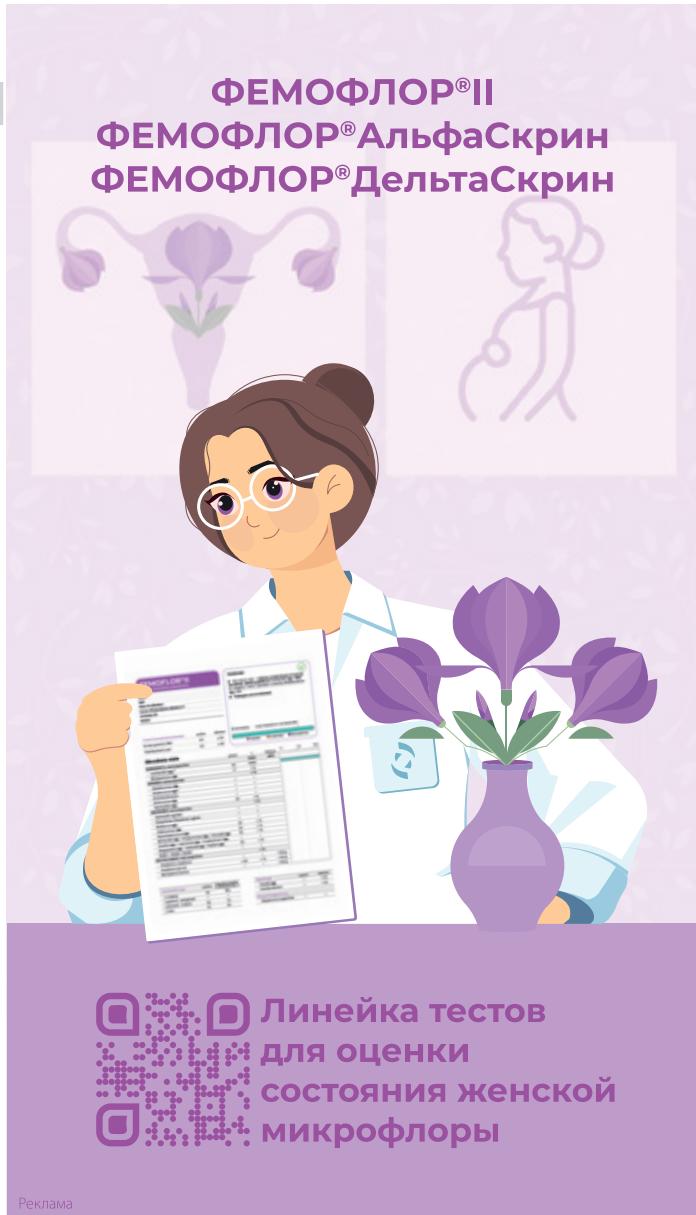
## Informed consent

Written informed consent was obtained from all participants prior to enrolment in the study.

## Литература / References

- Доброхотова ЮЭ, Боровкова ЕИ, Зайдиева ЗС, Романовская ВВ. Снижение частоты рецидивов бактериального вагиноза. Комплексное решение. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2022;21(2):33-40. / Dobrokhотова YuE, Borovkova EI, Zaydieva ZS, Romanovskaya VV. Reducing recurrence rates of bacterial vaginosis. Complex treatment approach. Vopr.

- ginekol. akus. perinatol. (Gynecology, Obstetrics and Perinatology). 2022;21(2): 33-40. DOI: 10.20953/1726-1678-2022-2-33-40 (In Russian).
2. Чилова РА, Проклова ГФ, Гончаренко НВ. Проблемы дифференциальной диагностики и лечения бактериального вагиноза. РМЖ. Мать и дитя. 2020; 3(1):39-43. / Chilova RA, Proklova GF, Goncharenko NV. Differential diagnosis and treatment for bacterial vaginosis. Russian Journal of Woman and Child Health. 2020;3(1):39-43. DOI: 10.32364/2618-8430-2020-3-1-39-43 (In Russian).
3. Abou Chakra L, Fenollar F, Diop K. Bacterial Vaginosis: What Do We Currently Know? Front Cell Infect Microbiol. 2022 Jan 18;11:672429. DOI: 10.3389/fcimb.2021.672429
4. Lev-Sagie A, De Seta F, Verstraeten H, Ventolini G, Lonnee-Hoffmann R, Vieira-Baptista P. The Vaginal Microbiome: II. Vaginal Dysbiotic Conditions. J Low Genit Tract Dis. 2022 Jan 1;26(1):79-84. DOI: 10.1097/LGT.0000000000000644
5. Россоловская КА, Трифонова НС, Гадаева ИВ, Спивак ЛГ. Биопленки бактериального вагиноза – мишень для терапевтического новаторства. Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф.Снегирёва. 2024;11(4):406-415. / Rossolovskaya KA, Trifonova NS, Gadaeva IV, Spivak LG. Bacterial vaginosis biofilms: a target for therapeutic innovation. V.F.Snegirev Archives of Obstetrics and Gynecology. 2024;11(4):406-415. DOI: 10.17816/aog633897 (In Russian).
6. Гашпар К, Ролу Ж, Серка Н, Палмейра-де-Оливейра Р, Мартинес-де-Оливейра Ж, Палмейра-де-Оливейра А. Эффективное разрушение биопленок *Gardnerella* spp. под влиянием деквалиния хлорида при бактериальном вагинозе. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2022;21(6):43-52. / Gaspar C, Rolo J, Cerca N, Palmeira-de-Oliveira R, Martinez-de-Oliveira J, Palmeira-de-Oliveira A. Dequalinium Chloride Effectively Disrupts Bacterial Vaginosis (BV) *Gardnerella* spp. Biofilms. Vopr. ginekol. akus. perinatol. (Gynecology, Obstetrics and Perinatology). 2022;21(6):43-52. DOI: 10.20953/1726-1678-2022-6-43-52 (In Russian).
7. Savicheva AM. Molecular Testing for the Diagnosis of Bacterial Vaginosis. Int J Mol Sci. 2023 Dec 28;25(1):449. DOI: 10.3390/ijms25010449
8. Россоловская КА, Трифонова НС, Ищенко АИ, Гадаева ИВ, Брагина ЕЕ, Болдырева МН, и др. Эффективность и безопасность ферментативного гидролиза в комплексном лечении бактериального вагиноза: предварительные результаты клинического исследования. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2025;24(2):88-96. / Rossolovskaya KA, Trifonova NS, Ishchenko AI, Gadaeva IV, Bragina EE, Boldyreva MN, et al. Efficacy and safety of enzymatic hydrolysis in the complex treatment of bacterial vaginosis: preliminary results of a clinical trial. Vopr. ginekol. akus. perinatol. (Gynecology, Obstetrics and Perinatology). 2025;24(2):88-96. DOI: 10.20953/1726-1678-2025-2-88-96 (In Russian).
9. Hannig C, Follo M, Hellwig E, Al-Ahmad A. Visualization of adherent microorganisms using different techniques. J Med Microbiol. 2010 Jan;59(Pt 1):1-7. DOI: 10.1099/jmm.0.015420-0
10. Swidsinski S, Moll WM, Swidsinski A. Bacterial Vaginosis – Vaginal Polymicrobial Biofilms and Dysbiosis. Dtsch Arztebl Int. 2023 May 19;120(20):347-354. DOI: 10.3238/ärztebl.m2023.0090
11. Соколова ТМ, Макаров КЮ, Кулешов ВМ, Киселева ТВ. Смешанный вагинит в современных условиях: особенности течения и терапии. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2024;23(5):89-96. / Sokolova TM, Makarov KYu, Kuleshov VM, Kiseleva TV. Mixed vaginitis in current conditions: characteristics of clinical course and therapy. Vopr. ginekol. akus. perinatol. (Gynecology, Obstetrics and Perinatology). 2024;23(5):89-96. DOI: 10.20953/1726-1678-2024-5-89-96 (In Russian).
12. Boldyreva M, Petrunicheva M, Ivanova A, Morozov A, Koroleva S, Moskvina Z, et al. Assessing urinary microbiota in chronic cystitis based on midstream urine sample. Urol Int. 2025 Jun 28:1-8. DOI: 10.1159/000547112
13. Jung HS, Ehlers MM, Lombaard H, Redelinghuys MJ, Kock MM. Etiology of bacterial vaginosis and polymicrobial biofilm formation. Crit Rev Microbiol. 2017 Nov;43(6):651-667. DOI: 10.1080/1040841X.2017.1291579
14. Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V, Ladhoff A, Swidsinski S, Hale LP, Lochs H. Adherent biofilms in bacterial vaginosis. Obstet Gynecol. 2005 Nov; 106(5 Pt 1):1013-23. DOI: 10.1097/01.AOG.0000183594.45524.d2
15. Назарова ВВ, Шипицына ЕВ, Шалепо КВ, Савичева АМ. Бактериальные сообщества, формирующие микробиоценосистему влагалища в норме и при бактериальном вагинозе. Журнал акушерства и женских болезней. 2017;66(6):30-43. / Nazarova VV, Shipitsyna EV, Shalepo KV, Savicheva AM. Bacterial communities forming the vaginal microecosystem in norm and in bacterial vaginosis. Journal of Obstetrics and Women's Diseases. 2017;66(6): 30-43. DOI: 10.17816/JOWD66630-43 (In Russian).
16. Alves P, Castro J, Sousa C, Cereja TB, Cerca N. *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
17. Castro J, Rosca AS, Muzny CA, Cerca N. *Atopobium vaginae* and *Prevotella bivia* Are Able to Incorporate and Influence Gene Expression in a Pre-Formed *Gardnerella vaginalis* Biofilm. Pathogens. 2021 Feb 20;10(2):247. DOI: 10.3390/pathogens10020247



18. Hardy L, Jespers V, Abdellati S, De Baetselier I, Mwambarangwe L, Musengamana V, et al. A fruitful alliance: the synergy between *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* in bacterial vaginosis-associated biofilm. *Sex Transm Infect*. 2016 Nov; 92(7):487-491. DOI: 10.1136/sextrans-2015-052475
19. Qin H, Liu Y, Zhai Z, Xiao B. Biofilm-Forming Capacity and Drug Resistance of Different *Gardnerella* Subgroups Associated with Bacterial Vaginosis. *Microorganisms*. 2023 Aug 30;11(9):2186. DOI: 10.3390/microorganisms11092186
20. Chen X, Lu Y, Chen T, Li R. The Female Vaginal Microbiome in Health and Bacterial Vaginosis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021 Apr 7;11:631972. DOI: 10.3389/fcimb.2021.631972
21. Muzny CA, Schwebke JR. Biofilms: An Underappreciated Mechanism of Treatment Failure and Recurrence in Vaginal Infections. *Clin Infect Dis*. 2015 Aug 15; 61(4):601-6. DOI: 10.1093/cid/civ353
22. Swidsinski A, Dörrfel Y, Loening-Baucke V, Schilling J, Mendling W. Response of *Gardnerella vaginalis* biofilm to 5 days of moxifloxacin treatment. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2011 Feb;61(1):41-6. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2010.00743.x
23. Ших ЕВ, Махова АА, Костин РК. Фармакотерапия бактериального вагиноза: антибиотики vs антисептики. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2023;22(4):112-120. / Shikh EV, Makhova AA, Kostin RK. Pharmacotherapy for bacterial vaginosis: antibiotics vs antiseptics. Vopr. ginekol. akus. perinatol. (Gynecology, Obstetrics and Perinatology). 2023;22(4):112-120. DOI: 10.20953/1726-1678-2023-4-112-120 (In Russian).
24. Олина АА, Савичева АМ, Будиловская ОВ, Метелева ТА. Конкурентные преимущества орнидазола в лечении бактериального вагиноза. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2025;24(4):166-173. / Olina AA, Savicheva AM, Budilovskaya OV, Meteleva TA. Competitive advantages of ornidazole in the treatment of bacterial vaginosis. Vopr. ginekol. akus. perinatol. (Gynecology, Obstetrics and Perinatology). 2025;24(4):166-173. DOI: 10.20953/1726-1678-2025-4-166-173 (In Russian).
- Петруничева Мария Антоновна, аналитик данных ООО «ДНК-Технология»  
Галкина Ирина Сергеевна, кандидат химических наук, директор  
по маркетингу ООО «ДНК-Технология»  
eLibrary SPIN: 3764-9541
- Брагина Елизавета Ефимовна, доктор биологических наук, профессор  
кафедры генетики болезней дыхательной системы Медико-генетического  
научного центра им. академика Н.П.Бочкова, отдел электронной  
микроскопии НИИ физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского  
Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова  
ORCID: 0000-0002-8422-4962
- Морозов Андрей Олегович, кандидат медицинских наук, старший научный  
сотрудник Института урологии и репродуктивного здоровья человека  
Первого Московского государственного медицинского университета  
им. И.М.Сеченова (Сеченовский Университет)  
ORCID: 0000-0001-6694-837X; eLibrary SPIN: 2331-3594;  
Scopus Author ID: 57196124876
- Спивак Леонид Григорьевич, доктор медицинских наук, профессор  
Института урологии и репродуктивного здоровья человека  
Первого Московского государственного медицинского университета  
им. И.М.Сеченова (Сеченовский Университет), председатель Совета  
Ассоциации специалистов консервативной терапии в урологии АСПЕКТ  
ORCID: 0000-0003-1575-6268; eLibrary SPIN: 5230-8811;  
Scopus Author ID: 57196177636

#### Information about co-authors:

Natalia S. Trifonova, MD, PhD, DSc, Professor, Department of Obstetrics and Gynecology No 1, N.V.Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, I.M.Sеченov First Moscow State Medical University (Sechenov University) ORCID: 0000-0002-2891-3421; eLibrary SPIN: 4753-5430

Raisa A. Chilova, MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology No 1, N.V.Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, I.M.Sеченov First Moscow State Medical University (Sechenov University) ORCID: 0000-0001-6331-3109; Scopus Author ID: 26027727100

Margarita N. Boldyreva, MD, PhD, DSc, Leading Researcher, National Research Center – Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia, Medical Adviser, DNA-Technology, LLC ORCID: 0000-0003-2641-3471; eLibrary SPIN: 9623-0970

Maria A. Petrunicheva, Data Analyst, DNA-Technology, LLC  
Irina S. Galkina, PhD in Chemical Sciences, Director for Marketing, DNA-Technology, LLC  
eLibrary SPIN: 3764-9541

Elizaveta E. Bragina, PhD, DSc in Biological Sciences, Professor, Department of Genetics of Respiratory Diseases, N.P.Bochkov Research Centre for Medical Genetics, Department of Electron Microscopy, A.N.Belozersky Research Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University ORCID: 0000-0002-8422-4962

Andrey O. Morozov, MD, PhD, Senior Researcher, Institute of Urology and Human Reproductive Health, I.M.Sеченov First Moscow State Medical University (Sechenov University) ORCID: 0000-0001-6694-837X; eLibrary SPIN: 2331-3594; Scopus Author ID: 57196124876

Leonid G. Spivak, MD, PhD, DSc, Professor, Institute of Urology and Human Reproductive Health, I.M.Sеченov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Chairman of the Council of the Association of Conservative Therapy Specialists in Urology "ASPECT" ORCID: 0000-0003-1575-6268; eLibrary SPIN: 5230-8811; Scopus Author ID: 57196177636

#### Информация о соавторах:

Трифонова Наталья Сибирская, доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии №1 Института клинической медицины им. Н.В.Склифосовского Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова (Сеченовский Университет) ORCID: 0000-0002-2891-3421; eLibrary SPIN: 4753-5430

Чилова Раиса Алексеевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии №1 Института клинической медицины им. Н.В.Склифосовского Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова (Сеченовский Университет) ORCID: 0000-0001-6331-3109; Scopus Author ID: 26027727100

Болдырева Маргарита Николаевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник Государственного научного центра «Института иммунологии» ФМБА России, медицинский директор ООО «ДНК-Технология» ORCID: 0000-0003-2641-3471; eLibrary SPIN: 9623-0970

## МЕЖДУНАРОДНАЯ МЕДИЦИНСКАЯ ПЕЧАТЬ

### ***Gardnerella vaginalis*, *Famyhessea vaginæ* и *Prevotella bivia* сильно влияют на транскриптом друг друга в биопленках, состоящих из трех видов**

В этой работе было показано, что присутствие в биопленке 3 различных бактерий, ассоциированных с БВ, влияло на транскриптом друг друга и позволило получить представление о молекулярных механизмах, которые повышают вирулентный потенциал полимикробных консорциумов.

*Sousa LGV, Novak J, França A, Muzny CA, Cerca N. Gardnerella vaginalis, Famyhessea vaginæ, and Prevotella bivia Strongly Influence Each Other's Transcriptome in Triple-Species Biofilms. Microb Ecol. 2024 Sep 19;87(1):117. DOI: 10.1007/s00248-024-02433-9*  
*University of Minho, Braga, Portugal;*  
*São Paulo State University (UNESP), Botucatu, Brazil*