

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Россоловская Ксения Антоновна

**Оптимизация терапии бактериального вагиноза у женщин репродуктивного
возраста**

3.1.4. Акушерство и гинекология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Трифонова Наталья Сяитовна

Москва – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. БАКТЕРИАЛЬНЫЙ ВАГИНОЗ: ОТ ЭТИОПАТОГЕНЕЗА К СТРАТЕГИЯМ ЛЕЧЕНИЯ	14
1.1. Эпидемиология бактериального вагиноза, медико-социальное и экономическое значение проблемы	14
1.2. Микробиом влагалища: детерминанты стабильности и факторы дисбиоза.....	15
1.3. Бактериальный вагиноз сквозь призму времени	17
1.3.1. История изучения микробиома влагалища	17
1.3.2. Микробиологическая характеристика рода <i>Gardnerella</i>	20
1.3.3. Природа бактериального вагиноза.....	21
1.4. Биопленки: механизм формирования, патогенность, значение	27
1.5. Диагностика бактериального вагиноза: возможности и ограничения	31
1.6. Подходы к лечению бактериального вагиноза	35
1.6.1. Препараты 1-й линии терапии.....	35
1.6.2. Пробиотики и пребиотики	37
1.6.3. Подкисляющие агенты.....	39
1.6.4. Антисептики.....	41
1.6.5. Препараты на основе растительных экстрактов.....	42
1.6.6. Бактериофаги и эндолизины.....	43
1.6.7. Трансплантация вагинальной микробиоты.....	44
1.6.8. Ферментативные препараты	45
1.7. Резюме	48
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	51
2.1. Дизайн исследования	51
2.2. Информация о препарате	55
2.3. Характеристика обследованных пациенток.....	56
2.4. Методы исследований, использованные в работе.....	58
2.4.1. Жалобы и анамнез	58

2.4.2. Физикальное обследование	59
2.4.3. Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени	60
2.4.4. Трансмиссионная электронная микроскопия	64
2.4.5. Микроскопическое исследование	66
2.4.6. Микробиологическое исследование	67
2.5. Методы статистической обработки	68
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	70
3.1. Жалобы и анамнез	70
3.2. Данные объективного осмотра.....	76
3.3. Микроскопическое исследование	78
3.4. Микробиологическое исследование	81
3.5. Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени	85
3.6. Трансмиссионная электронная микроскопия	92
3.7. Анализ микробного состава влагалища при верифицированных и отсутствующих биопленках генитального тракта.....	96
3.8. Эффективность терапии и отдаленные результаты	103
3.9. Молекулярно-генетические особенности микробиоты биопленок у женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом	107
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	114
ВЫВОДЫ	126
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	128
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	129
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	130
ПРИЛОЖЕНИЕ А. Симптоматический опросник	157

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Среди многочисленных патологических состояний в акушерстве и гинекологии особое место занимают инфекционно-воспалительные и дисбиотические процессы [67]. Бактериальный вагиноз (далее – БВ), на долю которого приходится от 16 до 65% всех вульвовагинальных инфекций, представляет собой наиболее распространенный вариант невоспалительного нарушения экосистемы влагалища [67]. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) общемировая распространенность данного диагноза среди женщин репродуктивного возраста достигает 23-29% [235], что исчисляется десятками миллионов случаев [162].

Бактериальный вагиноз имеет характерные клинические проявления, но вместе с тем более чем в половине случаев (до 75%) протекает бессимптомно [23, 28, 67]. Результаты многолетнего изучения проблемы бактериального вагиноза с использованием современных клинических и лабораторных методов диагностики не позволяют в полной мере объяснить его этиологические и патогенетические особенности и добиться его стойкой ремиссии. Об этом свидетельствует высокий уровень рецидивирующего течения бактериального вагиноза, достигающий 75-80% в течение 8 месяцев наблюдения [43]. Несмотря на отсутствие существенного влияния на здоровье женщины, бактериальный вагиноз занимает важное место в структуре акушерско-гинекологической практики, в том числе как патологическое состояние с повышенным риском развития ряда серьезных осложнений [40, 54, 58, 67, 231]. Принимая во внимание высокую распространенность рецидивирующего течения бактериального вагиноза и ассоциированные с ним экономические и психоэмоциональные аспекты, данное состояние следует рассматривать как актуальную медико-социальную проблему [10, 31].

Одной из основных причин рецидивов бактериального вагиноза является способность микроорганизмов существовать в условиях полимикробных

биопленок, которые повышают устойчивость бактерий к антимикробным препаратам [32, 63, 136]. Основным вариантом терапии бактериального вагиноза – этиотропный, однако в условиях сформированной биопленки возможности подобной консервативной стратегии ограничены, что приводит к снижению результативности антимикробной терапии и росту уровня рецидивов [63, 112]. Таким образом, поиск эффективных терапевтических стратегий, учитывающих патогенетические особенности бактериального вагиноза, является актуальной задачей.

Степень разработанности темы исследования

Биопленочную форму бактериального вагиноза возможно выявить у 90% пациенток с данным диагнозом [43]. Существуют различные подходы к разрушению полимикробных биопленок в генитальном тракте, каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки: антибактериальные препараты и их комбинации, антисептики, органические кислоты, соли металлов, бактериофаги и их белки, микробные метаболиты и многие другие [6, 60]. Тем не менее, эффективные и доступные терапевтические стратегии по-прежнему не разработаны [89]. Одним из направлений воздействия может рассматриваться применение препаратов с ферментативной активностью, в частности бовгиалуронидазы азоксимера (далее – БА), действие которого направлено на основной компонент биопленок – внеклеточный матрикс [6, 60]. Имеются исследования по применению бовгиалуронидазы азоксимера при различных заболеваниях, однако отсутствуют данные, касающиеся изучения и обоснования эффективности его применения у женщин репродуктивного возраста с рецидивирующим течением бактериального вагиноза, что определяет актуальность работы [20, 21].

Высокий уровень рецидивов бактериального вагиноза и роль биопленок в данном процессе, определили также необходимость сосредоточить внимание на диагностике биопленочной формы бактериального вагиноза. Верификация

био пленок возможна благодаря специальным методам визуализации, в частности, методу трансмиссионной электронной микроскопии, который был использован в рамках данной работы (далее – ТЭМ) [18, 42, 49]. Вместе с тем, ограниченность метода ТЭМ в клинической практике усложняет рутинную верификацию диагноза и делает актуальной задачу изучения диагностических возможностей доступных лабораторных методов для выявления и мониторинга пациенток с био пленочной формой рецидивирующего бактериального вагиноза [42]. Наиболее подходящим инструментом для этого является метод полимеразной цепной реакции (далее – ПЦР) в режиме реального времени [42]. Данный метод обладает многочисленными преимуществами: короткий срок выполнения, высокие показатели производительности, чувствительности, специфичности и достоверности анализа, точная количественная идентификация микроорганизмов генитального тракта, в том числе трудно культивируемых бактерий, а также простота интерпретации полученных результатов [9, 41, 42, 177]. В литературе не упоминаются исследования, сосредоточенные на изучении молекулярно-генетических маркеров микробиоты био пленок генитального тракта.

Цель и задачи исследования

Цель:

Улучшить результаты лечения бактериального вагиноза у женщин репродуктивного возраста.

Задачи:

1. Изучить клинические и патогенетические особенности бактериального вагиноза у женщин репродуктивного возраста с рецидивирующим течением синдрома на современном этапе.
2. Сравнить состав микробиома влагалища у женщин репродуктивного возраста с рецидивирующим течением бактериального вагиноза в зависимости от наличия или отсутствия био пленок генитального тракта.

3. Сравнить эффективность комбинированной схемы лечения бактериального вагиноза, включающей применение бовгиалуронидазы азоксимера и метронидазола, по сравнению с монотерапией метронидазолом у женщин репродуктивного возраста с рецидивирующим течением синдрома.

4. Оценить антирецидивный потенциал комбинированной схемы лечения бактериального вагиноза, включающей применение бовгиалуронидазы азоксимера и метронидазола, по сравнению с монотерапией метронидазолом у женщин репродуктивного возраста с рецидивирующим течением синдрома

5. Оценить микробиологический профиль биопленок генитального тракта у пациенток репродуктивного возраста после лечения рецидивирующего бактериального вагиноза.

Научная новизна

В рамках диссертационной работы впервые разработана схема лечения бактериального вагиноза у женщин репродуктивного возраста с рецидивирующим течением синдрома, заключающаяся в добавлении препарата с ферментативной активностью – бовгиалуронидазы азоксимера – к стандартной антимикробной терапии метронидазолом. Данная комбинированная схема лечения повышает клиничко-лабораторную эффективность терапии, снижает частоту рецидивов в течение 6 месяцев наблюдения и увеличивает безрецидивный период.

По теме исследования подано заявление № 2025115150 от 03.06.2025 о государственной регистрации изобретения и выдачи патента на изобретение: «Способ лечения и профилактики бактериального вагиноза».

Изучен микробный состав влагалища у женщин репродуктивного возраста при биопленочной форме рецидивирующего бактериального вагиноза методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени и определены молекулярно-генетические маркеры персистирующих биопленок генитального тракта после лечения, что позволяет выделять группу пациенток, нуждающихся в более тщательном посттерапевтическом наблюдении.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные результаты исследования расширили представление о патогенетической роли и микробном составе биопленок генитального тракта у женщин репродуктивного возраста с рецидивирующим течением бактериального вагиноза и подтвердили связь между наличием биопленок генитального тракта и неэффективностью терапии, а также рецидивом бактериального вагиноза.

Обоснована целесообразность назначения женщинам с рецидивирующим течением бактериального вагиноза комбинированной схемы лечения, включающей применение препарата с ферментативной активностью (бовгиалуронидазы азоксимер) совместно со стандартной антимикробной терапией метронидазолом. Данный способ терапии позволяет улучшить результаты лечения, снизить частоту рецидивов бактериального вагиноза в течение 6 месяцев наблюдения и увеличить период ремиссии.

Доказано, что микробный состав влагалища у пациенток репродуктивного возраста с рецидивирующим течением бактериального вагиноза при верифицированных биопленках генитального тракта значительно отличается от микробиома женщин с рецидивирующим течением бактериального вагиноза без биопленок. Выявление после терапии молекулярно-генетических маркеров персистирующих биопленок генитального тракта с помощью метода ПЦР в режиме реального времени исключает необходимость рутинного выполнения трансмиссионной электронной микроскопии и позволяет формировать группу пациенток высокого риска развития рецидива бактериального вагиноза, нуждающихся в более тщательном посттерапевтическом наблюдении.

Методология и методы исследования

В рамках диссертационной работы проведено открытое, проспективное, двухцентровое, интервенционное исследование, направленное на оценку эффективности применения комбинированной терапии, включающей

бовгиалуронидазы азоксимер и метронидазол, по сравнению со стандартной схемой монотерапии метронидазолом у женщин репродуктивного возраста с рецидивирующим течением бактериального вагиноза.

Клинический материал собран на базе лечебно-диагностического отделения СЦМД ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и ООО «Семейная поликлиника №4».

Методологическая основа исследования базировалась на диалектическом подходе с использованием общенаучных и специальных методов научного познания. Объектом исследования являлись женщины репродуктивного возраста с установленным диагнозом «бактериальный вагиноз», имеющие 3 и более его рецидива в анамнезе, что связано с повышенным риском формирования полимикробных биопленок генитального тракта у данной когорты пациенток. Предмет исследования составили клинические и лабораторные показатели обследованных пациенток.

Все участницы проходили комплексное клинико-лабораторное обследование, включающее сбор жалоб и анамнеза, физикальный осмотр, а также лабораторную диагностику. Для оценки состава микробиома влагалища применялись микроскопическое, микробиологическое и молекулярно-генетическое исследования в лабораториях, обладающих соответствующими лицензионными разрешениями. ПЦР в режиме реального времени проводилась на базе ООО «Научно-методический центр клинической лабораторной диагностики Ситилаб». Для верификации биопленок на слизистой влагалища использовалась трансмиссионная электронная микроскопия, результаты которой анализировались на основе качественных морфологических критериев. ТЭМ выполнялась на базе НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ.

Формулирование целей и задач исследования опиралось на результаты анализа данных литературы отечественных и зарубежных авторов, отражающих современные представления об этиологии, патогенезе, диагностике и терапии бактериального вагиноза.

Анализ полученных данных осуществлялся с использованием современных методов математической статистики. Проект научной работы получил одобрение локального этического комитета ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России.

Личный вклад автора

Автором самостоятельно сформулированы цели и задачи диссертационной работы, разработан дизайн исследования на основе анализа данных отечественной и зарубежной литературы, посвященных современным представлениям о патогенезе, диагностике и лечении бактериального вагиноза.

С момента первого визита и на протяжении всего периода наблюдения автором лично осуществлялись ведение и клинико-лабораторное обследование всех вошедших в исследование пациенток с рецидивирующим течением бактериального вагиноза. Автором самостоятельно осуществлялся регулярный контроль соответствия критериям включения и невключения в исследование, учет назначенной схемы терапии и графика визитов, фиксация случаев рецидивов бактериального вагиноза. Автор принимал непосредственное участие в разработке протокола морфологической оценки образцов соскоба эпителия влагалища методом трансмиссионной электронной микроскопии, осуществлял просмотр и фотофиксацию микропрепаратов, сопоставление данных трансмиссионной электронной микроскопии с иными клинико-лабораторными результатами. Микроскопическое, микробиологическое и молекулярно-генетическое исследования непосредственно автором не проводились.

Автором лично проведены оформление медицинской документации, сбор и систематизация полученных данных, а также статистический анализ полученных результатов с использованием современных методов математической обработки данных. Автором собственноручно написаны текст диссертации и автореферат, подготовлены публикации по результатам проведенного исследования.

Положения, выносимые на защиту

1. Рецидивирующий бактериальный вагиноз у женщин репродуктивного возраста в 67,4% случаев характеризуется наличием биопленок генитального тракта.
2. Микробиом влагалища у женщин репродуктивного возраста с рецидивирующим течением бактериального вагиноза и верифицированными биопленками генитального тракта характеризуется более значимым преобладанием облигатно-анаэробных микроорганизмов и достоверно более низким уровнем *Lactobacillus spp.* по сравнению с микробным составом влагалища у женщин без биопленок.
3. Применение предложенной комбинированной схемы лечения, включающей бовгиалуронидазы азоксимер и метронидазол, повышает клинико-лабораторную эффективность лечения, снижает частоту рецидивов и увеличивает безрецидивный период.
4. Микробный комплекс *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas spp.* может быть рассмотрен в качестве молекулярно-генетического маркера персистенции биопленок генитального тракта с чувствительностью 75,9% и специфичностью 83,3%.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология. Результаты проведенного исследования соответствуют паспорту специальности, пункту 1 «Исследования по изучению эпидемиологии, этиологии, патогенеза гинекологических заболеваний» и пункту 4 «Разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики осложненного течения беременности и родов, гинекологических заболеваний».

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов исследования подтверждается репрезентативным объемом выборки, строгим соблюдением критериев включения, невключения в исследование и исключения из него, корректным анализом данных и интерпретацией полученных результатов, а также применением современных методов обработки полученных данных с помощью лицензионной программы IBM SPSS Statistics Base 30.0.

Материалы диссертационной работы были доложены и обсуждены на следующих научно-практических конференциях:

1) «Изучение влияния препарата Лонгидаза на возможность разрушения биопленок в эякуляте пациентов с ХП и связанных с ним нарушениями фертильности» / XXIV Конгресс Российского общества урологов, 12-14 сентября 2024 г., г. Екатеринбург.

2) «Перспективы применения бовгиалуронидазы азоксимера в комплексном лечении рецидивирующего бактериального вагиноза: смена парадигмы» / Научно-практическая конференция АСПЕКТ «Актуальные вопросы консервативной терапии», 14 декабря 2024 г., г. Казань.

3) «Биопленки урогенитального тракта. Почему столько внимания?» / Междисциплинарная научно-практическая конференция «АСПЕКТ – Гинекологи Дагестана», 24 октября 2025 г., г. Махачкала.

Апробация диссертационной работы состоялась на заседании кафедры акушерства и гинекологии №1 Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (протокол № 5 от 29 октября 2025 года).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 7 работ, в том числе 1 научная статья в журнале, включенном в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 2 публикации в научных изданиях, включенных в международную, индексируемую базу данных Scopus, 1 иная публикация по результатам исследования, 3 публикации в сборниках материалов всероссийских научных конференций.

Структура и объем диссертации

Текст диссертационной работы изложен на 157 страницах машинописного текста и состоит из введения, трех глав, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы, списка приложений. Список литературы содержит 237 источников, из них отечественных – 69, зарубежных – 168. Наглядный материал диссертации представлен 21 рисунком и 23 таблицами. В списке приложений содержится симптоматический опросник (Приложение А), разработанный на основе клинических рекомендаций Минздрава России «Бактериальный вагиноз».

ГЛАВА 1. БАКТЕРИАЛЬНЫЙ ВАГИНОЗ: ОТ ЭТИОПАТОГЕНЕЗА К СТРАТЕГИЯМ ЛЕЧЕНИЯ

1.1. Эпидемиология бактериального вагиноза, медико-социальное и экономическое значение проблемы

Бактериальный вагиноз остается наиболее распространенной причиной патологических выделений из влагалища среди женщин детородного возраста [56]. До 87% амбулаторных пациенток, обращающихся на прием с жалобами на вагинальные «бели», имеют данный диагноз [57]. Учитывая частое бессимптомное течение бактериального вагиноза, а также значительные расовые и межрегиональные различия, оценить его истинную распространенность не представляется возможным: по данным отечественной и мировой литературы, она широко варьирует и составляет 4-75% среди женского населения [12, 67, 71]. Известно, что бактериальный вагиноз чаще регистрируется среди жительниц африканских стран, особенно ее южных и восточных частей, по сравнению с представительницами Азии и Европы, а также у женщин негроидной (49-51%) и латиноамериканской (32-43%) рас вне зависимости от их географического распределения [12, 71, 96, 163]. Реже с проблемой бактериального вагиноза сталкиваются женщины европейской и азиатской этнических групп – 23% и 11% соответственно [12, 150]. Социально значимой является проблема выявления бактериального вагиноза до 30% случаев среди женщин репродуктивного возраста, чье здоровье особенно важно для демографического статуса [12, 162, 163].

Актуальность проблемы обусловлена также обширным спектром акушерской, гинекологической и иной патологии, ассоциированной с бактериальным вагинозом. Так, например, известно, что бактериальный вагиноз в 2 раза повышает риск заражения бактериальными (хламидиоз, микоплазмоз, трихомониаз, гонорея и др.) и вирусными (ВПЧ, ВПГ, ВИЧ и др.) ИППП [213]. Частота возникновения воспалительных заболеваний органов малого таза, в том числе после гинекологических вмешательств, у женщин с бактериальным

вагинозом выше в 1,53 раза [213]. Установлено, что бактериальный вагиноз влияет на течение и исход беременности, повышая частоту бесплодия в 3,32 раза, позднего выкидыша в 6,32 раза и преждевременных родов от 2 до 7 раз в зависимости от срока гестации [12, 119, 213]. Недооценена роль ассоциированных с бактериальным вагинозом микроорганизмов, преимущественно *Gardnerella vaginalis*, в развитии рецидивирующих инфекций мочевыводящих путей (РИМП). Главным возбудителем РИМП является *Escherichia coli*, однако исследования показали, что *Gardnerella vaginalis* способствует активации уропатогенной кишечной палочки и как следствие провоцирует развитие инфекции мочевыводящих путей [144, 170].

Затраты на лечение симптоматического бактериального вагиноза ложатся тяжелым бременем на экономику государства и исчисляются миллиардами долларов в год (4,8 миллиардов долларов), причем более чем половины расходов приходится на рецидивирующие случаи [12, 150]. Кроме того, расходы на лечение бактериального вагиноза втрое меньше бюджета, выделяемого на разрешение последствий бактериального вагиноза, среди которых учитывались преждевременные роды и случаи ВИЧ инфекции [150].

1.2. Микробиом влагалища: детерминанты стабильности и факторы дисбиоза

Вагинальный микробиом полиморфен и динамичен. Известно, что концентрации микроорганизмов в экосистеме влагалища женщин репродуктивного возраста достигает 10^{10} - 10^{11} КОЕ/мл [12, 220]. В норме во влагалище доминируют лактобактерии, которые за счет продукции органических кислот, пероксида водорода, бактериоцинов, экзополисахаридов, обеспечивают поддержание оптимального уровня кислотности влагалища, сохраняют здоровую среду генитального тракта женщины и препятствуют колонизации абсолютно и условно-патогенных микроорганизмов [17, 149]. Благодаря современным высокотехнологичным методам диагностики (в том числе ДНК-гибридации),

известно о существовании 6 групп *Lactobacillus*, 4 из которых определяются во влагалищной экосистеме: *L. delbrueckii* spp., *L. acidophilus* spp., *L. paracasei* spp., *L. salivarius* spp., а метод секвенирования 16S рибосомальной РНК выделило более 120 видов лактобацилл, среди которых доминирующими являются: *L. crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. vaginalis* и *L. acidophilus* [15, 48].

Помимо лактобактерий, важную роль в защите влагалища от патогенных микроорганизмов играет слизистая оболочка [30, 86, 149, 236]. Эпителиальный покров обеспечивает механическую барьерную функцию за счет слизи и ороговевающих клеток, что препятствует прикреплению и проникновению патогенов во влагалищный микробиом [86]. Кроме того, эпителиоциты способны продуцировать муцины и антимикробные пептиды, включая ингибитор секреторной лейкоцитарной протеазы, элафин, липокалин, В-дефензин [30]. Иммунную функцию также выполняют слизистые плазматические клетки, синтезирующие секреторные иммуноглобулины классов IgA и IgB, которые участвуют в нейтрализации чужеродных антигенов на слизистой поверхности влагалища [30].

Таким образом, микробиом влагалища находится в состоянии динамического равновесия, которое поддерживается взаимодействием транзитной и резидентной микрофлоры, а также местных защитных механизмов [34]. Данное равновесие может быть нарушено под воздействием внешних или внутренних факторов [34, 153]. К числу значимых относятся колебания гормонального фона, возрастные изменения, антропометрические характеристики, беременность, состояние иммунной системы, влияние микрофлоры кишечного биотопа, прием лекарственных препаратов, а также хронические процессы различного генеза и локализации [55, 110, 128, 175, 180, 222, 230]. В дополнение вагинальный микробиом уникален для каждого индивидуума и зависит от уровня сексуальной активности, расовой принадлежности, степени психоэмоционального перенапряжения, образа жизни женщины [85, 103, 126].

1.3. Бактериальный вагиноз сквозь призму времени

1.3.1. История изучения микробиома влагалища

Первые попытки изучить микробиом влагалища были предприняты в середине XIX века ввиду высокого уровня инфекционных осложнений в акушерстве и гинекологии, причину которых долгое время приписывали нарушению правил асептики и антисептики [12, 52]. Развитие лабораторных методов диагностики, в частности световой микроскопии, впервые позволило увидеть и оценить микробный состав влагалища и определить первопричины возникающих у женщин инфекционных состояний [12]. Установить присутствие микроорганизмов во влагалище, а также связь между бактериями и вагинальными инфекционными заболеваниями удалось в 1892 году А. Додерлейну, который не только обнаружил присутствие палочкообразных бацилл, но и культивировал их в питательном бульоне [164]. Исследователь обнаружил, что палочкообразная бацилла способствует закислению вагинальной среды за счет продукции молочной кислоты и оказывает антагонистическое действие на рост стафилококков, а ее отсутствие в вагинальной жидкости ассоциируется с послеродовой лихорадкой [164]. Эти фундаментальные открытия легли в основу современных представлений о первостепенной роли лактобактерий в поддержании здорового микробиома влагалища. За большой вклад А. Додерлейна в изучение влагалищного микробиома, бактерии, позднее классифицированные как род *Lactobacillus*, были названы в честь их первооткрывателя «палочки Додерлейна» [164]. Продолжая изучение открытых А. Додерлейном бактерий К. Шредер в 1921 году разработал систему оценки микробиоценоза влагалища [88]. На основании количественного соотношения лактобактерий и отличных от них микроорганизмов было выделено 3 степени вагинальной микрофлоры: здоровая микрофлора с преобладанием *Lactobacillus* spp. (степень I), частичное или полное замещение лактобацилл другими бактериями (степень II и III соответственно) [88]. Было высказано

предположение о том, что появление патологических выделений из влагалища обусловлено дефицитом лактофлоры [88].

До середины 50-х годов XX века этиологическая природа состояний, соответствующих III степени нарушения вагинального микробиоценоза, оставалась неустановленной [52]. Согласно постулатам Р. Коха, утверждавшим о наличии этиологической специфичности инфекционных заболеваний («один микроб – одна болезнь»), такие инфекционные процессы как гонорея и трихомониаз, относились врачами к группе «специфических вагинитов» [33]. В противоположность им, вагинальные инфекции, этиологическую природу которых нельзя связать с конкретным патогенным микроорганизмом относили к группе «неспецифических вагинитов» [52, 88]. Считалось, что клинические проявления неспецифического вагинита связаны с воздействием условно-патогенных микроорганизмов, в частности стафилококками, стрептококками, колиформными палочками, однако это утверждение ставилось под сомнение рядом авторов, которые считали, что подобные колонии микроорганизмов не могут вызывать идентичную симптоматику у пациенток [64]. Таким образом, до 1955 года не связанные с гноеродными бактериями и дрожжеподобными грибами воспалительные процессы во влагалище, сопровождающиеся обильными вагинальными выделениями с неприятным запахом, получили название «неспецифический вагинит» [52, 88]. Данный термин был пересмотрен после того как S. Leopold в 1953 году описал палочковидную бактерию в образцах отделяемого шейки матки у женщин и охарактеризовал ее морфологические особенности: грамтрицательный микроорганизм небольшого размера без капсулы, не способный к движению [12, 169]. По строению бактерия была наиболее близка к роду *Haemophilus*, к которому по мнению S. Leopold она и относилась [12]. Два года спустя, в 1955 г., H.L. Garden и C.D. Dukes углубились в изучение идентифицированного ранее S. Leopold микроорганизма и обнаружили его тропность к особым питательным средам: рост бактерии был получен только в чашке с 10% агаром, обогащенной овечьей кровью и помещенной в условия с пониженным насыщением кислорода [12, 142]. Данная культуральная особенность

микроорганизма позволила сохранить ее место в таксономической классификации: H.L. Garden и C.D. Dukes, также, как и их предшественник S. Leopold, отнесли бактерию к роду *Haemophilus* и дали ей название *Haemophilus vaginalis* [12, 142]. Неспецифический вагинит, сопровождающийся патологическими выделениями у женщин, у которых высеивалась *Haemophilus vaginalis*, с этого момента обозначался как «*Haemophilus vaginalis* вагинит» в честь его этиологического агента [12].

Таксономия описанного S. Leopold, H.L. Garden и C.D. Dukes микроорганизма (*Haemophilus vaginalis*) подверглась пересмотру в 1960-х годах благодаря последующим исследованиям [12, 237]. Так, например, было установлено, что *Haemophilus vaginalis* отличается от других представителей рода *Haemophilus* тем, что может давать положительную реакцию при окраске по Грамму и не нуждается в добавках гемина (фактор X) и никотинамидадениндинуклеотида (фактор V) для роста на питательных средах [237]. Данные особенности послужили причиной нового взгляда на таксономическое положение бактерии: род *Corynebacterium*, вид *Corynebacterium vaginale* [12]. Позже, в 1979 году, J.R. Greenwood и M.J. Pickett публикуют свою работу, где изучают палочковидную бактерию с применением различных методов, в том числе биохимических, электронно-микроскопических и метода гибридизации ДНК [145]. Авторы приводят доказательства, согласно которым *Corynebacterium vaginale*, или *Haemophilus vaginalis*, отличается от других представителей обоих родов: клеточная стенка не содержит арабинозу, что характерно для коринобактерий, а реакция на каталазу не была положительной [12]. Таким образом, авторы приходят к выводу, что описанная ранее S. Leopold, L. Garden и Charles D. Dukes бацилла не имеет ничего общего ни с одним из родов. Вопрос классификации недавно открытого возбудителя неспецифического вагинита оставался открытым. Годом позднее, в 1980 г., публикуется несколько крупных исследований [87, 146]. В своих публикациях J.R. Greenwood и M.J. Pickett (1980), а также группа авторов во главе с P. Piot (1980) отмечают уникальность микроорганизма и выносят предложение определить для бактерии новое

таксономическое положение [87, 146]. Бактерия была отнесена к роду *Gardnerella* и названа *Gardnerella vaginalis* [12].

По мере накопления знаний об этиологическом агенте (*Gardnerella vaginalis*) состояние, вызываемое данным микроорганизмом, также претерпевало многочисленные изменения: «неспецифический вагинит», «гемофильный вагинит», «коринобактериальный вагинит», «гарднереллезный вагинит» («гарднереллез»), «неспецифический вагиноз», «анаэробный вагиноз» [33]. В попытке внести определенность в терминологическую классификацию, S. Speigel в 1983 г. выступил с предложением ввести новый термин «бактериальный вагиноз», который наилучшим образом его характеризует [33]. На I Международном симпозиуме по вагинитам в Стокгольме L. Westrom и соавт. (1984) предложили выделить «бактериальный вагиноз» в отдельный синдром, что и было сделано, после чего термин прочно укрепился в медицинском сообществе и получил мировое признание [33].

1.3.2. Микробиологическая характеристика рода *Gardnerella*

При окрашивании по Граму *Gardnerella vaginalis* не укладывалась под критерии ни грамположительных, ни грамотрицательных микроорганизмов. Культуры, выращенные на питательных средах, были грамвариабельными [12, 87, 146]. Удалось оценить строение данной бактерии при помощи метода электронной микроскопии, однако полученные результаты были противоречивыми [130, 148, 199]. В то время как А. Рейн (1966) получает микрофотографии, убеждающие ученого в грамположительной природе *Gardnerella vaginalis*, исследователь В.С. Кризвелл (1971, 1972) в своих работах приходит к противоположному заключению: в составе клеточной стенки микроорганизма отсутствуют обязательные для грамположительных клеток рибит-тейхоевые кислоты, а ее строение соответствует эталонному штамму грамотрицательной бактерии *E. coli* [130, 148, 199]. Достичь единого мнения о морфологическом строении *Gardnerella* не удавалось на протяжении многих лет, однако сформировалось представление о специфичных

для нее свойства [186]. *Gardnerella vaginalis* – грамвариабельная, плеоморфная бактерия размерами не более 3 мкм (0,4 – 3 мкм), не имеет капсулу, не способна к движению, не образует споры [12, 186]. Электронная микроскопия позволила расширить представление о строении *Gardnerella vaginalis* [12, 206]. На поверхности бактерии с помощью данного метода были верифицированы структуры (фимбрии), которые способствовали адгезии микроорганизма к эпителиальным клеткам влагалища [12, 206]. Описаны также слущенные эпителиоциты, густо покрытые грамвариабельными микроорганизмами, или «ключевые клетки» [12, 206]. О них, или «клетках подсказок», ранее упоминали в своей работе Н.Л. Garden и С.Д. Dukes (1955), признавшие их ключевое значение в аспекте бактериального вагиноза [142]. Интересным наблюдением стало обнаружение с помощью микроскопического и культурального методов сцепленных между собой бактерий *Gardnerella vaginalis*, что объяснялось способностью данных микроорганизмов продуцировать экзополисахарид, нити которого «склеивали» бактерии [12, 216]. Таким образом, можно выделить основные особенности *Gardnerella vaginalis*: прихотливость к культурным средам роста, уникальность морфологической структуры и обилие факторов патогенности.

1.3.3. Природа бактериального вагиноза

Помимо пристального внимания исследователей к строению *Gardnerella vaginalis* важным для изучения был и остается вопрос этиологической роли данного микроорганизма в развитии бактериального вагиноза. В работе Н.Л. Garden и С.Д. Dukes (1955) сообщается о выявлении *Gardnerella vaginalis* в образцах вагинальных выделений у женщин с бактериальным вагинозом в 92% случаев и ее полном отсутствии у здоровых женщин, что убедило ученых о прямой этиологической роли *Gardnerella vaginalis* в инициации развития данного состояния [142]. Кроме того, в ходе эксперимента под руководством тех же авторов, пятнадцати здоровым женщинам, добровольно согласившимся на участие в исследовании, во влагалище были перенесены выделения от женщин с подтвержденным бактериальным

вагинозом [142]. У одиннадцати женщин была позднее диагностирована клиническая картина бактериального вагиноза, подтвержденная методами лабораторной диагностики, что говорит в пользу первостепенной роли *Gardnerella vaginalis* в развитии бактериального вагиноза. По мнению G.B. Hill с соавт. (1984) неправомерно устанавливать диагноз «бактериальный вагиноз» только на основании качественного определения *Gardnerella vaginalis* во влагалище [151]. Для этого необходима количественная оценка доли микроорганизмов в отделяемом нижних половых путей: лактобактерии преобладают во влагалище здоровых женщин, но не исключают присутствие *Gardnerella vaginalis* в более низких концентрациях, в то время как бактериальный вагиноз характеризуется доминированием *Gardnerella vaginalis* над нормофлорой [151]. В своем исследовании L. Cristiano с соавт. (1989) оценивали распространенность бактериального вагиноза среди женщин в возрасте от 16 до 78 лет [91]. Полученные авторами результатам продемонстрировали факт выявления *Gardnerella vaginalis* у 235 из 793 обследованных (29,6%), среди которых 88,3% женщин с верифицированным бактериальным вагинозом и 14,4% женщин без клиники данного состояния [91]. Это подтверждает выводы G.B. Hill (1984) и согласуется с современной концепцией этиологии бактериального вагиноза: *Gardnerella vaginalis* может колонизировать влагалище в норме и не вызывать клинической картины бактериального вагиноза [137, 151]. Выявление *Gardnerella vaginalis* у здоровых женщин послужило причиной углубленного исследования состава микробиома влагалища и изучения роли других микроорганизмов в генезе бактериального вагиноза. В 1983 году С.А. Spiegel с соавт. отметил, что во влагалище у женщин с бактериальным вагинозом выявляются не только *Gardnerella vaginalis*, но и другие анаэробы, среди которых *Bacteroides*, *Peptococcus* spp., *Eubacterium* spp. и другие микроорганизмы [138]. В 2005 году группа авторов во главе с D.N. Fredricks сообщила об идентификации методами амплификации нуклеиновых кислот от 9 до 17 разных фенотипов анаэробных микроорганизмов у женщин с бактериальным вагинозом, в том числе ранее не изученных бактерий, например *Megasphaera* и *Sneathia* [134]. M.J. Ferris с соавт. (2007), используя аналогичные методики, заявили

об уникальном для каждой пациентки наборе анаэробов [113]. Таким образом, по мере накопления знаний о *Gardnerella vaginalis* и о вызванном ей синдроме патологических выделений у женщин, формировались убедительные данные о полимикробной природе бактериального вагиноза [188, 225]. Тем не менее, признано, что *Gardnerella vaginalis* является наиболее специфичной для бактериального вагиноза бактерией, что подтверждается частотой ее выявления у женщин при данном состоянии практически в 100% случаев [42, 149]. Несмотря на очевидный вклад сопутствующей анаэробной флоры в развитие бактериального вагиноза, на сегодняшний день нет полного понимания их роли в данном процессе [37, 223].

В отсутствие единого представления о природе бактериального вагиноза были предприняты попытки изучить *Gardnerella vaginalis* на предмет внутривидовых различий, то есть появилось представление о наличии нескольких ее биотипов с разной степенью вирулентности [137]. Первоначальные попытки дифференцировать внутривидовое разнообразие *Gardnerella vaginalis* были реализованы путем биотипирования, которое основано на биохимических тестах: гидролизе гипсурата, активности липазы и бета-галактозидазы. Так, например, в 1984 году Р. Piot с соавт. с помощью данного метода впервые выявили неоднородность вида *Gardnerella vaginalis* и установили наличие восьми ее биотипов [97]. Исследователи в данной работе не установили этиологическую роль конкретного биотипа *Gardnerella vaginalis* в патогенезе бактериального вагиноза, однако описали несколько важных аспектов. Во-первых, у женщин во влагалище выявлялся не один, а несколько биотипов *Gardnerella vaginalis*. Во-вторых, выявленные до и после лечения биотипы были идентичны. В-третьих, было высказано предположение о половом пути передачи бактериального вагиноза, так как биотипы *Gardnerella vaginalis* во влагалищном отделяемом женщин и в отделяемом урогенитального тракта их половых партнеров соответствовали [97]. R. Venito с соавт. (1986) заявили о семнадцати биотипах *Gardnerella vaginalis*, выявленных у здоровых и страдающих бактериальным вагинозом женщин, при этом некоторые биотипы данной бактерии (2-й, 4-й, 5-й и 7-й) встречаются чаще

остальных [75]. Несколько позднее А.М. Briselden и S.L. Hillier (1990) описали 7 биотипов *Gardnerella vaginalis*, что отличает их выводы от сделанных ранее в работах Р. Piot с соавт. (1984) и R. Venito с соавт. (1986) [98]. Исследователи подчеркнули, что у женщин с бактериальным вагинозом чаще выявляются 1-й, 2-й, 3-й и 4-й биотипы *Gardnerella vaginalis*, а через две недели после лечения у 48% пациенток определялись новые биотипы, что изначально авторы связывали с реинфекцией от полового партнера [98]. Тем не менее, принимая во внимания факт защищенного полового контакта на этапе лечения, вариант полового механизма передачи *Gardnerella vaginalis* был исключен авторами и высказано мнение о вагинальной природе новых биотипов [98]. Генотипическая гетерогенность вида *Gardnerella vaginalis* впервые была определена А. Ingianni с соавт. (1997) с помощью рестрикционного анализа амплифицированной рибосомальной ДНК [143]. С помощью данного метода авторы заявили о наличии по крайней мере 3 генотипов *Gardnerella vaginalis*. В работе А. Ahmed с соавт. (2012) представлен сравнительный анализ полногеномных последовательностей 17 клинических изолятов *Gardnerella vaginalis*, полученных от женщин с бактериальным вагинозом и без него [106]. С помощью секвенирования геномов и последующего филогенетического анализа авторы выделили четыре четко разграниченных клада, свидетельствующих о наличии генетической дивергенции внутри рода *Gardnerella*, что позволило рассматривать их как геновары (genovars). Выявленные генетические клады отличались набором вирулентных факторов, что может определять разную степень патогенности отдельных подгрупп бактерий рода *Gardnerella* [106]. В продолжение работы А. Ahmed с соавт. (2012) в 2014 году S.V. Balashov с соавт. разработали и применили метод количественной ПЦР для идентификации, количественного определения и субтипирования бактерий рода *Gardnerella* непосредственно в клинических образцах вагинального отделяемого [156]. Однопробирочный мультиплексный ПЦР-тест был основан на амплификации кладоспецифичных генов микроорганизмов из рода *Gardnerella* и позволил идентифицировать 4 клада *Gardnerella* в некультивируемых вагинальных образцах. Данный метод стал значимым шагом к неинвазивной молекулярной

стратификации микрофлоры влагалища в клинической практике. В исследовании более поздних лет М. Vaneechoutte с соавт. (2019) на основе сравнительного геномного анализа провели таксономическую ревизию рода *Gardnerella*, предложив его разграничение на 13 геномных видов (*genomospecies*), а также выделили три новых вида – *Gardnerella swidsinskii*, *Gardnerella leopoldii*, *Gardnerella piotii* [122]. Для типизации использовались методы высокопроизводительного секвенирования геномов, расчет средних нуклеотидных последовательностей, цифровая ДНК-ДНК-гибридизация и MALDI-TOF масс-спектрометрия, что обеспечило высокую разрешающую способность при идентификации внутривидовых различий. Данное исследование заложило основу для современной классификации рода *Gardnerella* и позволило по-новому взглянуть на вклад *Gardnerella spp.* в патогенез бактериального вагиноза, учитывая различия в вирулентности и биологических свойствах между выделенными геномовидами.

Патогенность бактерий рода *Gardnerella* опосредована множеством факторов. Наиболее важные из них: высокий уровень адгезии к влагалищному эпителию, продукция вагинального гемолизина и сиалидазы, сохранение жизнедеятельности в средах с высоким окислительно-восстановительным потенциалом и способность к формированию биопленки [35, 46, 194, 195, 203]. Сиалидаза – фермент, действующий на гликопротеины, обогащенные остатками сиаловой кислоты, которые широко представлены на поверхности слизистой оболочки генитального тракта [35, 194]. Сиалидаза играет ключевую роль в жизнедеятельности *Gardnerella spp.*, обеспечивая микроорганизмы источником углерода за счет катаболизма сиаловой кислоты и способствуя адгезии бактерий к эпителиоцитам влагалища [194]. Кроме того, фермент оказывает влияние на локальные иммунные реакции и участвует в формировании биопленки, о чем подробнее будет сказано ниже. Отмечены значительные различия в экспрессии и активности сиалидазы между различными представителями рода [194]. Благодаря своей высокой специфичности, активность сиалидазы рассматривается как диагностический маркер бактериального вагиноза, что нашло применение в экспресс-тестах [194]. Однако, в работе Е. Shipitsyna с соавт. (2019) показано, что определение

совокупного количества всех клон *Gardnerella vaginalis* с помощью количественной ПЦР позволяет с большей точностью идентифицировать бактериальный вагиноз по сравнению с анализом одного патогенного гена сиалидазы [195]. Другой фактор патогенности, вагинолизин, является представителем семейства холестерол-зависимых цитолизинов, имеет высокую тропность к клеткам эпителия влагалища, нарушая их целостность и вызывая лизис клетки [46, 203]. В работах Ю.А. Панферовой (2019) и E. M. Garcia с соавт. (2021) и было отмечено, что хотя ген *vly*, кодирующий вагинолизин, присутствовал у всех анализируемых представителей рода *Gardnerella*, варибельность его нуклеотидных и аминокислотных последовательностей может обуславливать различия в патогенности между видами [46, 203]. Тем не менее, за последние годы было доказано, что именно *Gardnerella vaginalis* обладает большим потенциалом вирулентности, чем остальные представители ее рода [141].

Несмотря на обилие факторов патогенности и распространенность во влагалище бактерий рода *Gardnerella*, рассматривать бактериальный вагиноз как состояние, вызванное конкретным микроорганизмом, по мнению H.S. Jung с соавт. (2017), не следует [124]. Вместо этого исследователями предложено определять бактериальный вагиноз как полиэтиологический синдром, при котором происходит обильный рост условно-патогенных анаэробов: *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae* (*Fannyhessea vaginae*), *Prevotella* spp., *Mobiluncus* spp., *Sneathia* spp. и других микроорганизмов. Авторы в своем исследовании также отмечают возможность этих бактерий существовать в виде полимикробных биопленок и акцентируют внимание на иницирующую роль *Gardnerella vaginalis* в этом механизме. Это нашло подтверждение в работах N. Cerca (2019) и С.А. Muzny с соавт. (2019), которые пришли к выводу, что отдельные бактерии, в частности *Gardnerella vaginalis*, играют фундаментальную роль в пусковом механизме биопленочного бактериального вагиноза [83, 101].

1.4. Биопленки: механизм формирования, патогенность, значение

Известно, что более 70% инфекционных заболеваний человека сопровождается образованием биопленок, изучение которых вызывает значительный интерес у исследователей [61]. Обнаружил биопленку и внедрил данный термин американский исследователь J.W. Costerton еще в 1985 году [12, 152]. О присутствии биопленок во влагалище у женщин с бактериальным вагинозом впервые упомянули в своей работе группа авторов во главе с A. Swidsinski [73]. Биопленками принято считать сообщества родственных или неродственных микроорганизмов, ограниченных внеклеточным матриксом [12, 21, 61]. Основным компонентом биопленки является матрикс, в составе которого доминируют полисахариды (в том числе гиалуроновая кислота), доля которых достигает 40-95% массы биопленки [12, 61, 132]. Другие составляющие межклеточного вещества: белки, липиды, нуклеиновые кислоты, вода [12, 61, 132]. Известно, что количество бактерий в биопленках может составлять до 10^{11} КОЕ/мл [12, 57]. Биопленки значительно увеличивают выживаемость микроорганизмов и их устойчивость к воздействию агрессивных факторов по сравнению с планктонными формами бактерий [12, 21, 61, 132]. Для достижения бактериостатического и бактерицидного эффекта антибактериальных препаратов в условиях биопленки необходимы их концентрации тысячекратно превышающих минимальные ингибирующие концентрации [61, 197]. Подобная резистентность к агрессивному воздействию обеспечивается преимущественно внеклеточным матриксом, который ограничивает диффузию антимикробных препаратов вглубь биопленки, а также подавленной метаболической активностью бактерий внутри биопленки [12, 102, 204]. Микроорганизмы, входящие в состав биопленки, тесно взаимосвязаны между собой и являются единым целым за счет чувства кворума (quorum sensing) – явления, при котором высвобождаемые бактериями во внеклеточную среду различные сигнальные молекулы регулируют экспрессию генов во всей популяции микроорганизмов, входящих в состав биопленки [12, 93].

В работе Е.С. Березовской с соавт. (2013) описан механизм образования биопленок, который осуществляется за счет нескольких последовательных этапов: прикрепление микроорганизмов к эпителиоцитам влагалища, продукция бактериями полимерного матрикса и формирование зрелой структуры (необратимая стадия), дисперсия микробов с последующим появлением новых колоний [11]. Хотя не вызывает сомнений тот факт, что *Gardnerella vaginalis* участвует в формировании биопленки, однозначного понимания механизма ее влияния на этот процесс пока нет. По мнению Е. Marin с соавт. (2018) и F. Bonnardel с соавт. (2021) основная роль в этом процессе приписывается высокой адгезивной способности *Gardnerella vaginalis* [193, 227]. Ряд авторов во главе с F. Bonnardel (2021) описали наличие у *Gardnerella vaginalis* углеводов-подобных белков, в частности лектинов, обладающих высокой тропностью к гликозилированным компонентам вагинального эпителия [193]. Благодаря данным компонентам *Gardnerella vaginalis* образует устойчивую связь «вагинальная клетка-гарднерелла» [193]. Вместе с тем по данным других авторов в качестве основного фактора патогенности *Gardnerella vaginalis* указывается коллаген-связывающий белок, ответственный за адгезию бактерии к эпителиоцитам и формирование биопленки [12, 227]. Рассматривалась второстепенная роль *Gardnerella vaginalis* в процессе образования биопленки, то есть в поддержании целостности уже сформированной иными бактериями биопленки [12]. В попытке внести ясность в этот вопрос были произведена сравнительная оценка моделей биопленок: предварительно кондиционированной (где *Gardnerella vaginalis* образовывала раннюю биопленку) и конкурентной модели (где несколько бактерий, ассоциированных с бактериальным вагинозом, инкубировались совместно) [139]. Образованные биопленки структурно отличались друг от друга, однако было отмечено, что *Gardnerella vaginalis* являлась основным представителем бактериального состава биопленки, что еще раз подчеркивает значимость этого микроорганизма в процессе формирования биопленки [139]. Данные других авторов также приводят к выводу, что *Gardnerella vaginalis*, как главный колонизатор, создает основу для внедрения других микроорганизмов, что приводит к формированию

полимикробных биопленок [124]. Показано, что все штаммы *Gardnerella vaginalis* кодируют гены биосинтеза экзополисахарида, благодаря которому создаются условия для созревания биопленки и ее устойчивому состоянию [233].

Благодаря современным методам молекулярной диагностики установлено, что до 90% микробного состава биопленки приходится на *Gardnerella vaginalis* [12, 43]. Другим частым представителем структуры биопленки является *Fannyhessea vaginae* (ранее *Atorobium vaginae*), доля которой в биопленке может достигать 40% [12, 43]. Значение иных ассоциированных с бактериальным вагинозом микроорганизмов во влажной среде на образование биопленок изучена недостаточно, однако L. Hardy с соавт. (2016) отмечают важность их симбиоза в этом процессе [74]. В исследовании J. Castro с соавт. (2019) говорится о способности некоторых, но не всех представителей микробиома влагалища, повышать вирулентность *Gardnerella vaginalis*, участвовать в формировании биопленки и в увеличении ее биомассы [100]. Таким образом, для бактериального вагиноза характерно взаимодействие представителей условно-патогенной микрофлоры между собой и с эпителием влагалища [12, 202].

Известно, что биопленочная форма бактериального вагиноза может быть диагностирована у 90% женщин с патологическими выделениями из влагалища [12, 43, 57]. Несмотря на относительно недавнее признание биопленки как важного фактора патогенности микроорганизмов, она рассматривается одной из основных причин рецидивов бактериального вагиноза [174]. Под рецидивирующим принято понимать бактериальный вагиноз, частота обострений которого составляет 3 и более эпизодов в год, хотя мнения по этому вопросу в отечественной и зарубежной литературе неоднозначны [12, 28, 40, 57, 172]. По мнению M.S. Coudray и P. Madhivanan (2020) требуется четкая стандартизация данного определения [112]. Таким образом, с учетом значительной патогенетической роли биопленки в аспекте бактериального вагиноза, внимание исследователей направлено на изучение эффективности различных терапевтических средств в отношении ее эрадикации [77].

К другим причинам возникновения повторного эпизода бактериального вагиноза также можно отнести неэффективность реколонизации лактобактериями вагинального микробиома после завершения курса основного этапа терапии и реинфекцию (заражение от полового партнера) [70, 127]. Лактобактерии играют ключевую роль в поддержании гомеостаза влагалищного микробиома, обеспечивая барьерную защиту, поддерживая низкий окислительно-восстановительный потенциал влагалищной среды, продуцируя эндобиотики и бактериоцины, а также выполняя иммуномодулирующую функцию [15]. Доминирующими представителями лактобацилл во влагалище являются бактерии из группы *Lactobacillus acidophilus*: *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. jensenii*, *L. iners*. [15]. Считается, что у здоровых женщин преобладают *L. crispatus*, в то время как при бактериальном вагинозе чаще встречаются *L. iners* и *L. gasseri* [15, 210]. Хотя ряд исследователей считают, что *L. gasseri* также ассоциирована с более высоким риском развития дисбиотических процессов во влагалище, особое внимание как наиболее уязвимому виду уделяется виду *L. iners* [15-17]. Этот вид лактобактерий верифицирован в 1999 году, однако его значение во влагалище изучено недостаточно [16]. *L. iners* трудно культивируется на питательных средах, имеет изменчивые морфологические свойства, адаптируется к щелочным значениям кислотности влагалища и обладает отличными от других представителей группы патогенными свойствами [16]. Известно, что *L. iners* в отличие от *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. jensenii* продуцирует только L-молочную кислоту из-за отсутствия гена, кодирующего фермент D-лактатдегидрогеназу [181, 208]. Это может служить одной из причин низкой протективной функции вида *L. iners*, так как D-молочная кислота оказывает значительно более выраженное ингибирующее действие на патогенную флору по сравнению с L-молочной кислотой [133, 221]. Отмечено, что у *L. iners* отсутствуют молекулярные и клеточные механизмы для продукции перекиси водорода, что также не позволяет данному виду лактобактерий препятствовать анаэробной колонизации влагалища [16, 111, 221]. *L. iners* имеет высокое сродство к эпителиоцитам влагалища за счет продукции фибронектин-связывающего белка и также способна усиливать адгезию *Gardnerella vaginalis* к

эпителиальным клеткам [111]. Отмечено, что *L. iners* является единственным представителем лактобактерий, кодирующим инеролизин, который имеет сходство с вагинолизином *Gardnerella vaginalis* на 68,4% [111]. Данный цитолизин имеет повышенную экспрессию при бактериальном вагинозе и обеспечивает *L. iners* конкурентное преимущество в вагинальной среде по сравнению с другими представителями лактобактерий [111]. Таким образом, *L. iners* ассоциирована с повышенным риском развития бактериального вагиноза и его рецидивов [167]. Принципы доминирования того или иного вида лактобактерий во влагалищном микробиоме до конца не изучены и остаются предметом исследований, однако некоторые авторы говорят о роли генетической предрасположенности, этноса и межрегиональных различий [15, 111].

В исследовании А. Swidsinski с соавт. (2010) была продемонстрирована возможность полового пути передачи *Gardnerella vaginalis* в форме биопленки между партнерами, что по мнению авторов важно для профилактики рецидивов бактериального вагиноза [135]. На вопрос необходимости назначения терапии половым партнерам женщин с данным синдромом нет однозначного ответа. Проведенный J. Amsel-Guio с соавт. (2016) систематический обзор не выявил снижения частоты эпизодов бактериального вагиноза у пациенток после антибактериального лечения их половых партнеров по сравнению с плацебо [78]. Исследования последних лет, напротив, подчеркивают необходимость назначения терапии мужчинам, что позволяет снизить частоту рецидивов бактериального вагиноза у их партнерш [25, 171, 187].

1.5. Диагностика бактериального вагиноза: возможности и ограничения

Классические методы диагностики бактериального вагиноза (критерии Amsel или Nugent) являются наиболее распространенными способами верификации диагноза [13]. Клинико-лабораторные критерии Amsel (чувствительность 37-70%, специфичность 94-99%) имеют ряд недостатков, такие как субъективность оценки, отсутствие необходимого для исследования

диагностического материала (тест-полоски для определения рН влагалища и гидроксид калия не являются общедоступными), а также зависимость от наличия выделений, в то время как бессимптомное течение бактериального вагиноза может наблюдаться более чем в половине случаев [201]. Тем не менее критерии Amsel рассматриваются как быстрый, надежный и эффективный способ верификации диагноза [108, 116]. Система Nugent (чувствительность 89%, специфичность 83%) основана на микроскопической оценке морфотипов бактерий в нескольких полях зрения в окрашенном по Граму препарате: лактобацилл (от 0 до 4 баллов), *Gardnerella vaginalis* (от 0 до 4 баллов) и *Mobiluncus spp* (от 0 до 2 баллов) [201]. Суммированный балл интерпретируется как нормальная (0-3 балла) или промежуточная (4-6 балла) флора и бактериальный вагиноз (7 и более баллов). Метод является простым и экономически оправданным, но также имеет свои слабые стороны: отсутствие оценки «ключевых клеток», сложность для интерпретации в ряде случаев (при «промежуточном» результате) [201]. Кроме того, данный метод требует значительных временных затрат [201]. Упрощенным вариантом системы Нуджента является микроскопический метод Хэй-Амсона (чувствительность 98%, специфичность 96%) [201]. Он основан на качественной оценке морфотипов бактерий в окрашенном по Граму вагинальном материале, где 1 класс – доминирования лактобактериальной флоры, 2 класс – равное количество морфотипов лактобацилл и гарднерелл и 3 класс – преобладание гарднерелл [161]. Однако критерии Хэй-Амсона имеет те же недостатки, что и метод Нуджента [201]. В попытке найти оптимальный, беспристрастный, простой в исполнении и экономически оправданный метод диагностики бактериального вагиноза у женщин профессор А.М. Савичева (2023) предложила собственные критерии микроскопической оценки, которые наиболее точно определяют состояние вагинального биотопа, сводят к минимуму риски неправильной интерпретации врачом лабораторного заключения (чувствительность 98%, специфичность 96%) [201]. Критерии А.М. Савичевой позволяют определить состав клеток («ключевые» и «псевдоключевые» клетки), выявить морфотипы лактобацилл и их отношение к другим бактериям, оценить воспалительную реакцию на основании соотношения

лейкоцитов и эпителиальных клеток. Хотя критерии А.М. Савичевой пока не нашли широкого применения в диагностике бактериального вагиноза и других причин патологических выделений у женщин, они являются перспективным методом. Однако, микроскопические способы диагностики на сегодняшний день могут дать только приблизительную оценку микробиома влагалища и не направлены на верификацию биопленок [99, 179].

Еще одним методом диагностики бактериального вагиноза является бактериологический посев отделяемого из влагалища [201]. На сегодняшний день его применение ограничено, что связано со сложностями самого метода, значительными временными затратами и недостаточной информативностью в ситуации трудно культивируемых или некультивируемых таксонов бактерий и в условиях смешанного микробного состава [109, 201].

На смену бактериологическому исследованию пришел более точный и надежный метод молекулярной диагностики – тесты амплификации нуклеиновых кислот, такие как полимеразная цепная реакция (ПЦР) [201]. Его принцип основан на увеличении уникального для каждого микроорганизма набора нуклеотидной последовательности до миллиардов копий. Амплифицированный продукт впоследствии способен связываться с ДНК-зондами, специфичным для каждой бактерии, что подтверждает или опровергает присутствие искомого микроорганизма в образце [178]. Учитывая полимикробную природу бактериального вагиноза, в его диагностике наибольшее распространение получила мультиплексная ПЦР в режиме реального времени, позволяющая количественно определить несколько микроорганизмов в одном образце биоматериала без необходимости в постамплификационной детекции [4, 178]. Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени обладает, по сравнению с классическими методами диагностики, многочисленными преимуществами: короткий срок выполнения, высокие показатели производительности, чувствительности, специфичности и достоверности анализа, точная количественная идентификация микроорганизмов генитального тракта, в том числе трудно культивируемых бактерий, а также простота интерпретации

полученных результатов [9, 41, 42, 177]. Так, например, разработанный в Российской Федерации тест Фемофлор®16, обеспечивает возможность определить бактериальный вагиноз с чувствительностью 99% и специфичностью 93% обладает значительными преимуществами [201].

При этом описанные методы не способны диагностировать биопленочный бактериальный вагиноз [201]. Для выявления биопленок в образцах вагинальных мазков разработан цитогенетический метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), или метод рибосомальной гибридизации на месте (РиГинаМ), основанный на секвенировании гена 16S рибосомальной РНК [73]. Суть метода заключается в комплементарном связывании (гибридации) коротких меченых флуоресцентным красителем олигонуклеотидных зондов, выявленных для *Gardnerella* spp., *Fannyhessea vaginae* и некоторых видов лактобацилл, с рибосомальной РНК интактной клетки и их последующей визуализации под флуоресцентным микроскопом с набором специфических фильтров, которые могут применяться по отдельности или совместно [73]. С помощью данного метода также сформировался новый, однако еще не признанный, взгляд на понимание характерной для бактериального вагиноза «ключевой клетки». Под истинной «ключевой клеткой» предложено понимать эпителиальную клетку с адгезированными на ней *Gardnerella* spp., в то время как эпителиоциты, покрытые разнородными бактериальными группами, вторично захваченные из вагинального отделяемого в областях избыточного бактериального роста, являются «псевдоключевыми клетками» [104]. Безусловно, метод флуоресцентной гибридизации *in situ* является перспективным, наглядным и эффективным способом верификации биопленочного бактериального вагиноза, однако он не доступен в рутинных лабораторных условиях и применяется на сегодняшний день в научных целях [201]. Кроме того, метод требует приобретения дорогостоящего оборудования, что также может усложнить его внедрение в клиническую практику. Альтернативный способ визуализации биопленок – электронная микроскопия, которая стала уникальным инструментом для изучения микробного спектра и его разнообразия, а также для оценки ультраструктуры бактерий и их окружения. При

исследовании биопленочных форм существования микроорганизмов в большинстве случаев применяется сканирующая электронная микроскопия, обеспечивающая трехмерное изображение образца [176, 234]. Вместе с тем, золотым стандартом является трансмиссионная электронная микроскопия, позволяющая, благодаря высокому разрешению (до 0,1 нм), оценить не только морфологию микроорганизмов и их колоний, но и идентифицировать основной компонент биопленок – внеклеточный матрикс [147, 234]. Кроме того, трансмиссионная электронная микроскопия обеспечивает возможность наблюдать изменения матрикса в динамике – в процессе терапии [21, 49, 68]. Исследования с применением выше указанного метода, направленные на изучение биопленок в аспекте бактериального вагиноза, а также для оценки влияния различных терапевтических путей воздействия на ее структуру, осуществлялись только в условиях *in vitro* [66, 94, 159].

1.6. Подходы к лечению бактериального вагиноза

1.6.1. Препараты 1-й линии терапии

Распространенность биопленочного бактериального вагиноза в популяции, а также приобретенные благодаря такой форме существования свойства микроорганизмов, влияющих на качество лечения и способствующие развитию рецидивов, обосновывают актуальность задачи внедрения в клиническую практику эффективных медикаментозных средств, нацеленных на разрушение структуры биопленок [49, 77]. Существуют различные подходы к лечению бактериального вагиноза. Согласно клиническим рекомендациям Министерства здравоохранения Российской Федерации «Бактериальный вагиноз», руководству по лечению выделений из влагалища Европейского союза по борьбе с инфекциями, передающимися половым путем (IUSTI), руководствам Немецкого (DGGG), Австрийского (OEGGG) и Швейцарского (SGGG) обществ гинекологии и акушерства терапевтическим воздействием первой линии является применение

препаратов из группы 5-нитроимидазолов (метронидазол) или линкозамидов (клиндамицин), при этом лечение метронидазолом обладает наивысшей степенью убедительности и достоверности (IA) [18, 90]. Альтернативными антимикробными препаратами из группы 5-нитроимидазолов для лечения бактериального вагиноза являются тинидазол и секнидазол [90, 212]. По данным М.А.В. Petrina (2017) все производные нитроимидазола имеют схожую активность в отношении широкого спектра анаэробных микроорганизмов за исключением *Fannyhessea vaginae* (*Atorobium vaginae*), которая проявляет большую чувствительность к клиндамицину [212]. При этом авторами было показано, что клиндамицин в отличие от метронидазола, секнидазола и тинидазола обладает более выраженным эффектом на лактобактерии, что может способствовать рецидиву [212]. Эффективность монотерапии метронидазолом, по некоторым данным, сопоставима с показателями излечения при применении клиндамицина [160, 184]. Данные других авторов свидетельствуют о значительно более высокой чувствительности планктонных и биопленочных форм *Gardnerella vaginalis* к действию клиндамицина по сравнению с метронидазолом [95, 191]. Однако уровень рецидивов вне зависимости от применяемого препарата с антибактериальной активностью после окончания курса терапии составляет 30-70% в течение полугода [120].

Осложняет задачу проблема антибиотикорезистентности микроорганизмов, ассоциированных с бактериальным вагинозом [182]. Результаты исследования D.M. Knupp de Souza с соавт. (2016) показали, что бактерии рода *Gardnerella* обладают устойчивостью к метронидазолу [82]. В рандомизированном клиническом исследовании R.H. Veigi с соавт. (2004) была также обнаружена резистентность бактерий, ассоциированных с бактериальным вагинозом, к клиндамицину до и после лечения женщин в 17% и 53% случаев соответственно [80]. Благодаря секвенированию нового поколения стало возможным выявление генов резистентности к противомикробным препаратам (AMR) у микроорганизмов [81]. D.G. Bostwick с соавт. (2016) выявили присутствие генов устойчивости к метронидазолу и клиндамицину у ассоциированных с бактериальным вагинозом

бактерий и пришли к выводу, что присутствие данных генов существенно снижает эффективность терапии [81]. Кроме того, существует мнение, что назначение клиндамицина в качестве терапии первой линии при первом эпизоде бактериального вагиноза не рекомендовано, ввиду более быстрого развития к нему резистентности [65]. Следует отметить, что различий в показателях излечения бактериального вагиноза при применении системных или местных форм метронидазола и вагинального геля клиндамицина не наблюдается, в связи с чем стратегия поиска оптимального пути введения антибактериальных лекарственных средств для повышения эффективности терапии не оправдала возложенных на нее ожиданий [226]. Важно также отметить, что биопленки устойчивы к антимикробным препаратам и могут быть выявлены после окончания их применения [76, 90, 196].

1.6.2. Пробиотики и пребиотики

Рассматривается возможность применения двухэтапной терапии бактериального вагиноза, включающей назначение препарата, содержащего лактобактерии, после курса антимикробной терапии [27]. Данная схема направлена на профилактику рецидивов бактериального вагиноза и находит подтверждение своей эффективности в отечественной и зарубежной литературе [44, 53, 69, 198]. Протективная роль лактобактерий в вагинальной экосистеме действительно велика, однако зависима от видового состава лактобактерий [24]. Благодаря широкому спектру защитных свойств, было предложено применять системную и местную монотерапию лактобактериями (пробиотиками) для модуляции вагинальной микробиоты. В 2019 году С. Li с соавт. провели систематический обзор и метаанализ 14 рандомизированных клинических исследований, включающих 1372 пациентки с бактериальным вагинозом [192]. Авторы оценивали эффективность монотерапии пробиотиками по сравнению с плацебо и комбинированной терапией с антибактериальными препаратами. Было отмечено, что терапия пробиотиками эффективнее по сравнению с группой пациенток, не

получающих лечения, однако данное медикаментозное воздействие уступает комбинированной терапии. Хотя полученные исследователями результаты продемонстрировали эффективность пробиотиков в лечении бактериального вагиноза, авторы считают, что данная группа препаратов не может служить альтернативой антибактериальным средствам. В работе А. McMillan с соавт. (2011) показано, что *L. reuteri* и *L. rhamnosus* способны вызывать заметное разрушение структуры биопленки, сформированной *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae* в условиях *in vitro*. Однако, использованная исследователями методика окрашивания микроорганизмов не позволила оценить жизнеспособность клеток [117]. Позже Y. He с соавт. (2021) продемонстрировали, что *L. casei* и *L. rhamnosus* оказывают ингибирующий эффект на начальные этапы формирования биопленки *G. vaginalis* в условиях *in vitro* [168]. Таким образом, несмотря на наличие в литературе данных о некоторых положительных клинических исходах монотерапии пробиотиками, их эффективность в лечении и профилактике рецидивирующего бактериального вагиноза остается спорной [90, 129].

Альтернативным подходом к лечению бактериального вагиноза является применение пребиотиков - пищевых веществ, стимулирующих рост полезных микроорганизмов [224]. Группа авторов во главе с I. Coste (2012) провели рандомизированное исследование, в котором сравнивали эффективность вагинального геля, содержащего пребиотик и экстракт клевера лугового (*Trifolium pratense*) по сравнению с плацебо после стандартного лечения бактериального вагиноза метронидазолом [200]. Результаты, полученные на 16-й день после лечения, показали эффективность двухэтапной схемы терапии, однако достоверных различий в частоте рецидивов на 84-й день между пациентками обеих групп не наблюдалось [200]. В литературе обсуждается роль лактоферрина в лечении бактериального вагиноза [39, 79]. Лактоферрин – железосвязывающий гликопротеин с антимикробной активностью [39]. Механизм его действия основан на связывании железа, необходимого для роста почти всех микроорганизмов [79]. Имеются данные о способности лактоферрина оказывать прямое бактериоцидное действие на грамотрицательные и грамположительные бактерии, проявлять

активность против биопленки *Pseudomonas aeruginosa* в условиях *in vitro*, подавлять бактериальную адгезию [79]. В клиническом исследовании В.М. Зуев с соавт. (2018) пришли к выводу, что применение лактоферрина у пациенток с бактериальным вагинозом эффективно как в виде монотерапии, так и в составе комплексного лечения с антибактериальными или пробиотическими препаратами [39]. В работе А. Pino с соавт. (2022) доказан дозозависимый эффект бычьего лактоферрина в отношении *Gardnerella vaginalis* и его синергетическое действие с клиндамицином [79]. Несмотря на перспективы данного препарата в качестве средства лечения бактериального вагиноза, имеющиеся исследования не имитируют полимикробную среду влагалища, не учитывают присутствие биопленки, которая может усложнять биодоступность лактоферрина, и не учитывают вариабельность концентрации железа во влагалище в условиях реальной клинической практики [79].

1.6.3. Подкисляющие агенты

Имеются данные об эффективности терапии витамином С для профилактики бактериального вагиноза у женщин, предварительно получавших антибактериальную терапию клиндамицином или метронидазолом. В своем исследовании V.N. Krasnopolsky с соавт. (2013) отметили, что применение аскорбиновой кислоты в виде вагинальных таблеток в течение полугода после успешной терапии бактериального вагиноза снижает риск рецидива в два раза по сравнению с группой плацебо [121]. Наиболее часто в данной группе препаратов для лечения бактериального вагиноза применяется молочная кислота за счет ее антимикробной активности против бактерий, ассоциированных с БВ и ее благоприятного влияния на условия роста лактобактерий [165]. Благодаря своим свойствам молочная кислота рассматривается как самостоятельный метод лечения, а также используется в комплексе с другими группами препаратов [7, 166]. В исследовании А.Д. Минаковой с соавт. (2025) сравнивались результаты лечения пациенток с бактериальным вагинозом с применением 4-х схем: монотерапии

метаболитами лактобацилл или клиндамицином и двухэтапной терапии, предполагающей назначение молочной кислоты после курса клиндамицина или деквалиния хлорида [7]. Авторы отметили, что через 2 недели после завершения терапии лучший результат по критериям Amsel продемонстрировала двухэтапная схема, включающая применение клиндамицина и затем молочной кислоты (96,8%), в то время как монотерапия молочной кислотой продемонстрировала самый низкий уровень излечения среди пациенток (85,3%) по сравнению со всеми другими вариантами терапии. Через 3 месяца рецидивы чаще фиксировались у женщин, получающих только антибактериальный препарат (11,5%) и реже у женщин, применяющих клиндамицин и молочную кислоту (3,3%). Таким образом, авторы пришли к выводу о целесообразности применения двухэтапной терапии, включающей назначение молочной кислоты после курса клиндамицина или деквалиния хлорида [7]. В другой работе группы авторов под руководством L. Armstrong-Buisseret (2022) были сопоставлены результаты лечения пациенток с бактериальным вагинозом, получающих монотерапию пероральным метронидазолом в течение 7 дней по сравнению с женщинами, которым было назначено местное лечение гелем молочной кислоты в течение 1 недели [166]. Первоначальный ответ с разрешением симптомов бактериального вагиноза через 2 недели с большей частотой наблюдался при приеме метронидазола (70%), чем при использовании геля молочной кислоты (47%). При дальнейшем наблюдении в течение 6 месяцев авторы отметили, что ни одна из схем терапии не оправдала возложенных ожиданий в отношении снижения частоты рецидивов [166]. Таким образом, применение молочной кислоты в качестве основного средства лечения рецидивирующего бактериального вагиноза на сегодняшний день не представляется оправданным [90]. Это согласуется с данными систематического обзора E.L. Plummer с соавт. (2021), который отмечает необходимость проведения крупных рандомизированных исследований со строго регламентированными конечными точками и протоколом их оценки [165]. Применение подкисляющих агентов (молочной, аскорбиновой и других кислот) имеет риск повреждения слизистой оболочки при назначении их на длительный срок [50]. Кроме того,

недостаточно данных о влиянии препаратов данной группы на биопленки, которые рассматриваются в качестве одной из основных причин рецидивов бактериального вагиноза [26].

1.6.4. Антисептики

В терапии бактериального вагиноза применяются антисептики [89]. К данной группе относятся повидон-йод, перекись водорода, хлоргексидин, октенидин, деквалиния хлорид и многие другие [89]. Имеются данные об эффективности антисептиков в лечении биопленочного бактериального вагиноза. Так, например, А. Swidsinski с соавт. (2015) отметили первоначальную эффективность семидневного курса октенидина на 87,5%, которая проявлялась в отсутствии биопленки на эпителии влагалища по данным FISH [189]. Однако, полугодовой показатель рецидива бактериального вагиноза составил 66,6%, а эффективность повторного курса лечения данным препаратом значительно снизилась из-за развития бактериальной резистентности у значительной части женщин [189].

Хорошо изученным препаратом среди антисептиков является деквалиния хлорид, который, по мнению ряда авторов, демонстрирует высокую эффективность в лечении бактериального вагиноза как в виде монотерапии, так и в составе комплексных схем [6, 65, 228]. Так, например, группой исследователей под руководством V. Antoni (2022) было проведено ретроспективное исследование, в котором оценивались результаты 6-ти дневного местного лечения деквалиния хлоридом женщин с бактериальным вагинозом [115]. Было показано, что 84,8% пациенток через 4-6 недель после данного курса терапии не предъявляли характерных жалоб [115]. Кроме того, с помощью сканирующей электронной микроскопии производилась оценка возможности деквалиния хлорида в условиях *in vitro* разрушать биопленки, сформированные *Gardnerella spp.*, у пациенток с рецидивирующим бактериальным вагинозом и была отмечена его способность снижать не только биомассу, но и метаболическую активность биопленок [114]. Преимущество применения деквалиния хлорида также заключается в отсутствии

риска формирования резистентности бактерий к нему по сравнению, например, с антимикробными препаратами [65]. Таким образом, деквалиния хлорид может быть рассмотрен как эффективное средство для лечения бактериального вагиноза, однако необходимы дополнительные и более углубленные исследования его эффективности в отношении эрадикации полимикробных биопленок в клинической практике [114].

К препаратам с антисептическим эффектом можно также отнести борную кислоту, которая рассматривается как средство с бактериостатическим и потенциальным антибиопленочным действием [183, 211]. В исследовании S. Suraraneni с соавт. (2021) было показано, что борная кислота обладает большей эффективностью при использовании совместно с пероральным 5-нитроимидазолом, чем в виде монотерапии [211]. Оптимальная продолжительность местного лечения борной кислотой остается неизученной [183]. Кроме того, требуются дополнительные исследования, которые прояснят возможности борной кислоты в эрадикации биопленки в условиях клинической практики и ее роль в профилактике бактериального вагиноза [89].

1.6.5. Препараты на основе растительных экстрактов

Еще один метод лечения бактериального вагиноза – использование препаратов растительного происхождения [89]. Преимущество их применения заключается в профилактике развития устойчивости микроорганизмов к их воздействию, что отличает эту группу от антимикробных препаратов [219]. В исследовании Z. Razhohideh с соавт. (2018) проведена сравнительная оценка эффективности местной терапии экстрактом *Calendula officinalis* (Календула лекарственная) и метронидазолом у 80 женщин репродуктивного возраста с бактериальным вагинозом [219]. Через неделю после окончания 7-ми дневного курса терапии одним из препаратов у пациенток обеих групп отмечены отсутствие жалоб и нормализация балла по критериям Amsel. Таким образом, авторы пришли

к выводу, что лечение растительным препаратом на основе *Calendula officinalis* оказалось сопоставимым по эффективности с терапией метронидазолом.

В другой работе группа исследователей под руководством М. Masoudi (2017) пришли к выводу, что комбинированное лечение бактериального вагиноза препаратом, содержащим метронидазол и *Myrtus communis* (Мирт обыкновенный), является более эффективным подходом по сравнению с монотерапией метронидазолом [173]. Авторы также отметили, что рецидив в течение трех недель возник у 30% пациенток, пролеченных метронидазолом, в то время как у пациенток, получавших вагинальный гель с добавленным к метронидазолу растительным экстрактом, рецидив за тот же период времени не был зафиксирован [173].

Эффективность растительных препаратов на биопленки оценивалась в многочисленных исследованиях [158, 205]. Так, например, Р.С. Braga с соавт. (2010) показали, что тимол – молекула, содержащаяся в эфирном масле тимьяна, – оказывает ингибирующее действие как на вновь сформированные, так и на зрелые биопленки *Gardnerella vaginalis* в условиях *in vitro* [158]. Имеются данные о наличии ингибирующей активности растительного соединения *Tymbra Capitata* (Фимбра головчатая) на поливидовые культуры биопленок [205]. Данные исследования могут служить основанием для дальнейшего изучения антибиопленочной активности растительных препаратов в условиях *in vivo* и их рассмотрения в качестве терапевтической альтернативы антимикробным средствам для лечения бактериального вагиноза.

1.6.6. Бактериофаги и эндолизины

Развивающимся методом лечения бактериального вагиноза является применение бактериофагов – вирусов, инфицирующих чувствительные к ним микроорганизмы [5]. Репликация бактериофага внутри пораженной бактериальной клетки происходит за счет структурных компонентов бактерии, что приводит к ее разрушению и гибели, при этом фаговые частицы способны продолжать

лизировать гомологичные микроорганизмы [5]. Бактериофаги применяются как в виде монотерапии, так и в сочетании с антибактериальными средствами и способствуют повышению уровня излечения и снижению частоты рецидивов [22]. По мнению П.В. Буданова с соавт. (2015) комбинированная фаго-антибиотикотерапия эффективна в отношении элиминации биопленок, однако исследователи в своей работе не изучали данный механизм [14].

Имеются сведения об эффективности генетически модифицированных эндолизинов в разрушении биопленок [123]. Эндолизины – продуцируемые бактериофагами ферменты пептидогликангидролаз [36]. В своем исследовании С. Landlinger с соавт. (2021) сообщили, что созданный эндолизин РМ-477, специфичный для бактерий рода *Gardnerella*, снижает жизнеспособность данных клеток *in vitro* и проявляет активность в отношении сформированных штаммами *Gardnerella* биопленок в образцах вагинального отделяемого женщин с бактериальным вагинозом [123]. Годом позднее С. Landlinger с соавт. (2022) заявили об отсутствии устойчивости бактерий рода *Gardnerella* к специфическому эндолизину РМ-477 и его эффективности в эрадикации резистентных к метронидазолу бактерий данного рода [190]. Эндолизины также можно комбинировать с антибактериальными препаратами, так как их совместное применение оказывает синергетическое действие в отношении противомикробной активности [155]. Бактериофаги и эндолизины имеют большой терапевтический потенциал в аспекте рецидивирующего бактериального вагиноза, однако необходимо проведение клинических исследований для подтверждения их эффективности в условиях полимикробной среды влагалища [22, 190].

1.6.7. Трансплантация вагинальной микробиоты

Современным подходом к терапии рецидивирующего бактериального вагиноза является трансплантация вагинальной микробиоты (далее – ТВМ), которая нацелена на «оздоровление» состава микробиома влагалища путем прямой инокуляции вагинальных выделений от донора (женщина с нормофлорой) к

реципиенту (пациентка с бактериальным вагинозом) [207, 232]. В исследовании A. Lev-Sagie с соавт. (2019) представлены результаты лечения 5-ти женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом [232]. После ТВМ у 4-х из 5-ти женщин наблюдалось состояние длительной (21 месяц) ремиссии на основании клинико-лабораторных данных, однако 3-м из 4-х пациенток потребовалась повторная трансплантация, включая смену донора у одной из них [232]. ТВМ несет потенциальные риски и требует соблюдения строгих мер предосторожности [207]. Имеются данные о разработке синтетических бактериальных консорциумов и их трансплантации в эксперименте на мышинной модели бактериального вагиноза, вызванного *Gardnerella vaginalis* [214]. Авторы отметили эффективность данного метода, что проявлялось в подавлении роста *Gardnerella vaginalis*, уменьшении воспалительной реакции и восстановлении вагинального микробиома. Для внедрения ТВМ в качестве способа лечения бактериального вагиноза требуются дополнительные исследования, которые предоставят доказательства не только преимуществ данного метода по сравнению с традиционными схемами, но и его безопасности [207]. Необходима разработка единых подходов к отбору и скринингу подходящих доноров, сбору и хранению биоматериала [207].

1.6.8. Ферментативные препараты

Еще одним, наиболее перспективным подходом к лечению бактериального вагиноза является группа препаратов с ферментативной активностью [2, 3, 131]. В отличие от других лекарственных средств они нацелены не на микроорганизмы, а на основной компонент биопленок – матрикс – и могут быть использованы в составе комбинированных схем [2, 131]. Известно, что бактерии внутри биопленок способны продуцировать разнообразные внеклеточные ферменты, что облегчает их отсоединение от колонии микроорганизмов и обеспечивает распространение биопленок [131]. Таким образом, экзогенное добавление повышенных концентраций выделенных ферментов в среду роста биопленки может способствовать разрушению ее структуры и повышению восприимчивости

бактерий к действию бактерицидных препаратов [131]. Среди ферментов, обеспечивающих деградацию различных компонентов матрикса биопленок, выделяются следующие классы: протеазы, дезоксирибонуклеазы и гликозидгидролазы [131].

Протеазы – ферменты, воздействующие на внеклеточные белки [3]. Белки обеспечивают адгезию биопленок к влажной эпителию, а также являются способом коммуникации бактерий, то есть белки обеспечивают межклеточные и клеточно-поверхностные взаимодействия [185]. Имеются данные об эффективности протеаз в отношении биопленок [3, 131, 185, 215]. В исследовании D.R. Baidamshina с соавт. (2017) была выполнена обработка биопленок, сформированных *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis*, неспецифической протеазой растительного происхождения – фицином – в условиях *in vitro* [215]. Результаты исследования показали дозозависимый эффект: через сутки после обработки биопленки фицином ее толщина уменьшилась в два раза при концентрации вещества 10 мкг/мл и в шесть раз при стократном увеличении концентрации. Идентифицированы некоторые протеазы против биопленок, сформированных бактериями рода *Gardnerella*, а именно протеиназа К и трипсин [3]. Несмотря на эффективность протеаз в качестве антибиопленочных агентов, большая часть верифицированных белковых ферментов еще находится на стадии экспериментальных исследований [3].

Второй класс ферментов – дезоксирибонуклеазы (далее – ДНКазы) нацеленные на внеклеточную ДНК, интегрированную в матрикс биопленок [131]. Внеклеточная ДНК поддерживает структурную целостность экзополисахаридного каркаса, а также обеспечивает бактериальную адгезию и перенос генов внутри него [118, 131, 136]. В эксперименте S.R. Nymes с соавт. (2013) изучалась эффективность ДНКаз в отношении биопленок, сформированных *Gardnerella vaginalis*, в условиях *in vitro* и влияние данного класса ферментов на колонизацию влажной поверхности бактериями *Gardnerella vaginalis* на мышинной модели *in vivo* [118]. Авторами получены оптимистичные результаты: ДНКазы ингибируют образование биопленки и усиливают противомикробную активность метронидазола. Отмечено, что

ДНКазы также подавляют влагалищную колонизацию *Gardnerella vaginalis* более чем в 10 раз, однако авторы не смогли оценить влияние ферментов на устоявшиеся биопленки *in vivo*, что не позволяет сделать полноценный вывод об их эффективности в аспекте бактериального вагиноза. ДНКазы рассматриваются в качестве потенциальных антибиопленочных агентов в клинической практике, вместе с тем, как отмечено А.Е. Абатуровым (2020) существует риск приобретения устойчивости биопленок к действию данного класса ферментов после определенного времени существования биопленки [1]. Необходимо проведение клинических исследований, разработка оптимальных интравагинальных форм ДНКаз, их дозировки и графика применения [118].

Гликозидгидролазы представляют собой энзимы, гидролизующие гликозидные связи внутри экзополисахаридного матрикса, за счет чего происходит деструкция бактериальных биопленок [2]. Основными гликозидгидролазами, которые участвуют в диспергировании биопленки, являются: альфа-лизоцим, амилазы, дисперсин-В, целлюлазы, гиалуронидазы и многие другие [2]. Известно, что основным компонентом биопленки, составляющим до 95% ее состава, являются полисахариды, в том числе гиалуроновая кислота [61]. Гиалуронидазы разрушают гиалуроновую кислоту на моносахариды путем расщепления ее гликозидных связей, благодаря чему способствуют деградации биопленок [2, 154]. Данный фермент более 60 лет применяется в различных областях медицины и одобрен для использования в США и Европе [154]. Активность экзогенной гиалуронидазы в организме с течением времени снижается за счет антигиалуронидазной активности тканей и ее высокого метаболизма печенью и почками [154]. Вместе с тем, конъюгация гиалуронидазы с высокомолекулярным носителем (азоксимером бромидом) обеспечивает устойчивость фермента в организме [61]. В исследовании Е.Ю. Тризиной с соавт. (2020) показано, что применение лиофилизата бовгиалуронидазы азоксимера в условиях *in vitro* вдвое снижает биомассу матрикса биопленок, сформированных *Escherichia coli* и *Enterococcus faecalis*, и на 60% уменьшает матрикс биопленок *Staphylococcus aureus* [20]. В другой работе Е. Trizina с соавт. (2022) также отмечают, что

бонгиалуронидазы азоксимер повышает проницаемость биопленки для антибактериальных препаратов, которые реализуют свой бактерицидный эффект даже при сниженных концентрациях. Имеются данные о влиянии бонгиалуронидазы азоксимера на комбинированную грибково-бактериальную биопленку [218]. Кроме того, в исследовании Е.Е. Брагиной с соавт. (2023) доказана эффективность бонгиалуронидазы азоксимера в отношении бактериальных биопленок грамположительных и грамотрицательных бактерий в эякуляте пациентов с хронических простатитом [21]. Препарат способствовал исчезновению межклеточного матрикса биопленки и высвобождению из ее состава микроорганизмов, которые легко поддавались бактерицидному эффекту антибактериальных препаратов. При этом исследования с применением бонгиалуронидазы азоксимера в аспекте рецидивирующего бактериального вагиноза не проводились, однако представляют интерес для изучения.

1.7. Резюме

Таким образом, в настоящее время проблема бактериального вагиноза остается актуальной. Это подтверждается широкой распространенностью бактериального вагиноза среди женщин репродуктивного возраста, высоким уровнем его рецидивирующих форм, а также значительным числом публикаций, посвященных изучению этиологии, патогенеза и подходов к терапии данного состояния.

Известно, что одной из основных причин рецидивов бактериального вагиноза являются биопленки на эпителии влагалища, которые также повышают устойчивость микроорганизмов, входящих в их состав, к воздействию агрессивных факторов. С момента появления полимеразной цепной реакции появились убедительные доказательства в пользу полимикробной природы бактериального вагиноза. Бактерии рода *Gardnerella* рассматриваются в качестве иницирующих образование биопленок агентов, вместе с тем в ее составе могут быть обнаружены различные анаэробные микроорганизмы, колонизирующие влагалище. Несмотря

на признание патогенетической роли биопленок в аспекте рецидивирующего бактериального вагиноза, верифицировать их с помощью традиционных методов лабораторной диагностики на сегодняшний день не представляется возможным. Для решения этой задачи применяются специальные методы, такие как рибосомальная гибридизация на месте, а также электронная микроскопия, которые на сегодняшний день не доступны в рутинной практике и используются исключительно в научных целях. В литературе отсутствуют данные о применении метода трансмиссионной электронной микроскопии для изучения состояния биопленок у женщин с бактериальным вагинозом непосредственно в клинической практике до- и после лечения. Это особенно важно для оценки результативности терапии рецидивирующего бактериального вагиноза. Большинство исследований оценивают эффективность лечения тем или иным препаратом, опираясь на жалобы пациенток, клиническую картину бактериального вагиноза и результаты традиционных лабораторных методов исследования после лечения, не подтверждая факт эрадикации биопленок на эпителии влагалища.

Золотым стандартом лечения бактериального вагиноза является метронидазол. Данные о чувствительности бактерий к метронидазолу разнятся, однако бесспорным остается тот факт, что биопленки затрудняют доступ антимикробных средств к микроорганизмам, входящим в их состав, и таким образом снижают бактерицидное действие применяемых препаратов. Учитывая недавно опубликованные результаты успешной эрадикации биопленок в эякуляте урологических пациентов с хроническим простатитом с помощью бовгиалуронидазы азоксимера, сведения о его антибиопленочной эффективности в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, данный препарат был выбран в качестве вспомогательного средства для лечения рецидивирующего бактериального вагиноза у женщин репродуктивного возраста в дополнение к антимикробной терапии. Мишенью бовгиалуронидазы азоксимера является внеклеточный матрикс биопленок, в котором доля полисахаридов, в частности гиалуроновой кислоты, достигает 95% биомассы матрикса биопленок. Разрушение матрикса биопленок является ключевым моментом к переходу бактерий в

планктонное состояние, что делает их уязвимыми к действию антимикробных препаратов, в частности к метронидазолу. Таким образом, изучение антибиопленочной активности бовгиалуронидазы азоксимера у женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом в условиях клинической практики представляет собой актуальную и многообещающую задачу [6, 49, 51].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Дизайн исследования

Для решения поставленных задач проведено открытое, проспективное интервенционное сравнительное исследование в параллельных группах. Диссертационная работа выполнена на базе двух медицинских организаций:

1. Клинико-диагностическое отделение №1 Сеченовского центра материнства и детства, ФГАОУ ВО Первый Государственный Медицинский Университетет Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), г. Москва;
2. Гинекологическое отделение ООО «Семейная поликлиника №4», г. Королев.

Дизайн исследования состоял из 4 этапов и включал в себя 6 визитов пациенток:

- этап 1 – диагностический (визит 1);
- этап 2 – терапевтический (визит 2-3);
- этап 3 – период наблюдения (визит 4-6);
- этап 4 – сравнительный анализ микробного состава влагалища у вошедших в исследование женщин с верифицированными и отсутствующими биофленками во влагалище до и после лечения (Рисунок 1).

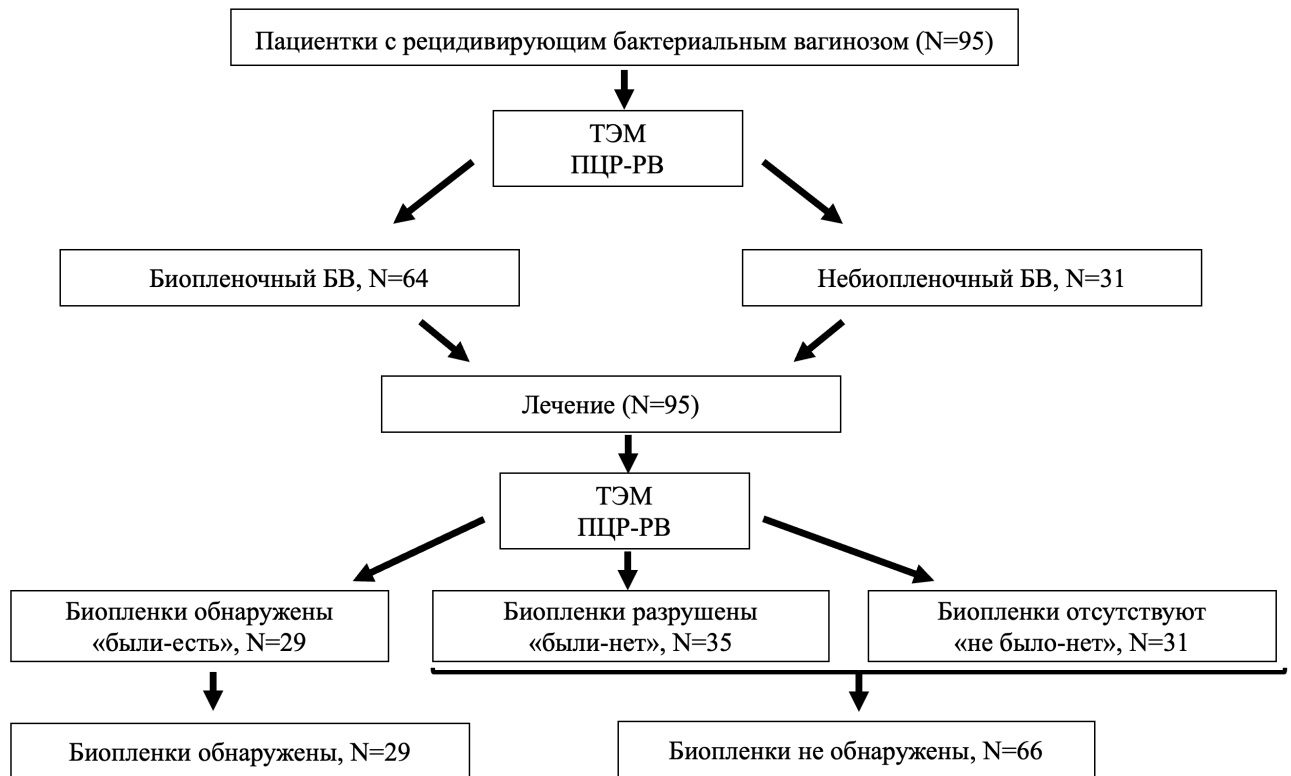


Рисунок 1 – Распределение пациенток для сравнительного анализа микробного профиля влагалища

При первом посещении после подписания информированного добровольного согласия проводились: сбор жалоб и анамнеза, заполнение симптоматического опросника (Приложение А), осмотр на гинекологическом кресле (в том числе визуальный осмотр анатомии и состояния наружных половых органов, осмотр влагалища и шейки матки в зеркалах, бимануальное влагалищное исследование), мочевого тест на беременность, кольпотест-рН, аминотест с 10% раствором гидроксида калия (КОН), предварительная оценка по критериям Amsel (без учета «ключевых клеток»), проверка соответствия критериям включения/невключения, забор соскоба эпителия влагалища для полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (далее – ПЦР-РВ) и трансмиссионной электронной микроскопии, получение образцов отделяемого из влагалища для микроскопического и бактериологического исследований [68].

На втором визите (7-й день исследования) выполнялись: интерпретация результатов лабораторных методов исследования, суммирование балла по шкале Amsel (с учетом «ключевых клеток»), оценка критериев

включения/невключения/исключения, равномерная (N=50 для обеих групп) распределение пациенток в системе Study Randomizer, назначение соответствующего курса терапии.

Всего в исследовании было выделено 2 группы в зависимости от назначаемой схемы терапии: группа I – контрольная (группа монотерапии), группа II – экспериментальная (группа комбинированного лечения). Пациентки контрольной группы (N=50) получали монотерапию пероральным метронидазолом по схеме: одна таблетка в дозировке 500 мг 2 раза в день в течение 7 дней (1-7 день исследования). Лечение в экспериментальной группе (N=50) проводилось метронидазолом по аналогичному режиму в комбинации с бовгиалуронидазы азоксимером, суппозитории вагинальные и ректальные, 3000 ME, по одному суппозиторию 1 раз в день через день во влагалище общим курсом №10 (1,3,5,7,9,11,13,15,17,19 день исследования). Для профилактики вульвовагинального кандидоза пациенткам обеих групп рекомендован прием препарата с действующим веществом флуконазол, по 1 таблетке (150 мг) внутрь на 1-й и 3-й день лечения метронидазолом.

Третий визит (на 21-й день исследования) проводился через 14 дней после окончания терапии метронидазолом для пациенток обеих групп и состоял из следующих этапов: оценка приверженности к терапии, регистрация нежелательных явлений, сбор жалоб, гинекологический осмотр, кольцо-тест-рН, аминотест, предварительная оценка по критериям Amsel (без учета «ключевых клеток»), повторный забор биоматериала для лабораторных методов исследований (ПЦР-РВ, ТЭМ, микроскопический и бактериологический анализ), оценка критериев исключения.

При четвертом визите (28-й день исследования) анализировались результаты проведенных лабораторных исследований, выполнялась оценка эффективности основного этапа терапии и необходимости изменения схемы лечения, проверка на предмет отсутствия критериев исключения. Пациенткам обеих групп назначен второй этап терапии: лиофилизированная культура лактобактерий *L. casei*, *rhamnosus*, *doderleini*, по 1 суппозиторию 1 раз в день вагинально в течение 14 дней.

Каждой пациентке, продолжающей наблюдение, была выдана упаковка кольпотест-рН, содержащей 5 индикаторных полосок для динамической экспресс-оценки кислотности влагалища с целью своевременного выявления нарушения микробиома влагалища.

Задачей посещения 5 (через 3 месяца) и 6 (через 6 месяцев) являлось, кроме общей оценки гинекологического статуса, подтверждение или исключение рецидива бактериального вагиноза на основании жалоб, осмотра, данных кольпотест-рН и аминотеста. При возникновении у пациенток любых жалоб или клинических проявлений проводился внеочередной визит. Точный период времени до момента рецидива бактериального вагиноза оценивалось с даты осмотра и забора биоматериала для контрольного лабораторного обследования пациентки (3 визит). Рецидив бактериального вагиноза при наличии жалоб пациентки или объективных данных (критерии Amsel) подтверждался с помощью метода ПЦР-РВ. На период лечения и наблюдения пациенткам рекомендован защищенный половой контакт с использованием механических средств контрацепции.

В Таблице 1 представлены этапы наблюдения и график визитов пациенток.

Таблица 1 – Этапы наблюдения и график визитов пациенток

Этапы наблюдения пациенток с БВ	Этап 1	Этап 2		Этап 3		
	Визиты					
	1 визит (1 день)	2 визит (7 день)	3 визит (21 день)	4 визит (28 день)	5 визит (3 мес.)	6 визит (6 мес.)
Подписание информированного согласия	X					
Сбор жалоб	X	X	X	X	X	X
Сбор анамнеза	X					
Заполнение симптоматического опросника	X		X			
Тест на беременность	X					
Гинекологический осмотр	X		X		X	X
Оценка по критериям Amsel	X		X		X	X
ПЦР-РВ	X		X			
ТЭМ	X		X			

Продолжение Таблицы 1

Этапы наблюдения пациенток с БВ	Этап 1	Этап 2		Этап 3		
	Визиты					
	1 визит (1 день)	2 визит (7 день)	3 визит (21 день)	4 визит (28 день)	5 визит (3 мес.)	6 визит (6 мес.)
Микроскопическое исследование	X		X			
Бактериологическое исследование	X		X			
Оценка соответствия критериям включения и невключения	X	X				
Оценка критериев исключения	X	X	X	X	X	X
Назначение терапии		X		X		
Оценка эффективности терапии				X		
Оценка приверженности терапии			X		X	
Оценка наличия рецидива				X	X	X
Регистрация нежелательных явлений			X	X	X	X

2.2. Информация о препарате

Бовгиалуронидазы азоксимер (далее – БА) представляет собой конъюгат гиалуронидазы с сополимером N-оксида 1,4-этиленпиперазина и (N-карбоксиметил)-1,4-этиленпиперазиний бромида. Выпускается в форме ректальных и вагинальных суппозиториях. Вспомогательное вещество: какао семян масло (масло какао) – до получения суппозитория массой 1,3 грамма. Регистрационный номер ГРЛС: ЛС-000632. Согласно инструкции, препарат обладает ферментативной (гиалуронидазной) активностью пролонгированного действия, а также хелатирующими, антиоксидантными, иммуномодулирующими и умеренно выраженными противовоспалительными свойствами. Бовгиалуронидазы азоксимер не имеет мутагенного, эмбриотоксического, тератогенного, канцерогенного действия, хорошо переносится пациентами и имеет широкий перечень показаний к назначению в гинекологической,

урологической, дерматовенерологической, пульмонологической и фтизиатрической областях медицины. Препарат также показан в качестве средства, повышающего биодоступность антибактериальной терапии. Бовгиалуронидазы азоксимер имеет низкую токсичность для клеток и тканей человека и имеет возможность комбинирования с антибактериальными препаратами.

2.3. Характеристика обследованных пациенток

В исследование включено 100 пациенток с диагнозом бактериальный вагиноз (код МКБ-10: N89).

Критерии включения пациенток в исследование:

- Наличие письменного информированного согласия пациентки на участие в исследовании;
- Женщины репродуктивного возраста от 18 до 45 лет;
- Рецидивирующее течение бактериального вагиноза;
- Наличие клинической картины бактериального вагиноза на основании жалоб и критериев Amsel;
- Отсутствие беременности и лактации.

Критерии невключения пациенток в исследование:

- Наличие ИППП (*Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium*), подтвержденные лабораторными методами исследований;
- Наличие противопоказаний к применению исследуемого препарата: злокачественные новообразования, повышенная индивидуальная чувствительность к препаратам с гиалуронидазной активностью, почечная недостаточность, легочные кровотечения в анамнезе;
- Острые или хронические заболевания в стадии обострения любой этиологии и локализации, способные повлиять на безопасность или результаты исследования;

- Диагностированные психические расстройства, которые могут ограничивать соблюдение протокола исследования или влиять на интерпретацию его результатов.

Критерии исключения пациенток из исследования:

- Отказ пациента от дальнейшего участия в исследовании.
- Отсутствие приверженности пациента к лечению.
- Беременность и лактация.
- Возникновение в ходе исследования состояний и заболеваний, относящихся к списку противопоказаний к применению изучаемого препарата.

Из терапевтического этапа (визит 3) выбыло 5 человек: 4 пациентки исключены по причине несоблюдения графика визитов, 1 по причине отсутствия приверженности к терапии. Таким образом, основной этап лечения завершило 48 женщин контрольной группы и 47 – экспериментальной (N=95). Из клинического исследования на этапе наблюдения в течение 6 месяцев выбыло 38 пациенток: по причине неэффективности – 29, по беременности – 6, по собственному желанию – 2, из-за плановой госпитализации по поводу сопутствующего заболевания – 1. Данные представлены в Таблице 2. Терапия бактериального вагиноза считалась неэффективной при сохранении жалоб пациентки, и/или оценке по критериям Amsel в 3-4 балла, и/или анаэробном дисбиозе умеренной или выраженной степени по данным ПЦР-РВ отделяемого из влагалища. В ситуации, когда у пациентки отсутствовала полная нормализация (абсолютный нормоценоз) вагинального микробиома по данным теста Фемофлор®16, однако наблюдалась тенденция к росту лактобактерий (переход из выраженного анаэробного дисбиоза в умеренный дисбиоз) и не наблюдалось субъективной и объективной симптоматики терапия расценивалась успешной.

Таблица 2 – Количество выбывших из исследования пациенток по группам

Причины исключения пациенток из исследования	Количество выбывших из исследования пациенток	
	I группа (М)	II группа (М+БА)
Терапевтический этап		
- несоблюдение графика визитов	1	3
- отсутствие приверженности к терапии	1	-
Общее количество выбывших из КИ пациенток	2	3
Количество пациенток, продолживших наблюдение	48	47
Этап наблюдения		
- неэффективность терапии	23	6
- беременность	1	5
- отказ пациентки от дальнейшего наблюдения	2	0
- госпитализация по поводу сопутствующего заболевания	0	1
Общее количество выбывших из КИ пациенток	26	12
Количество пациенток, продолживших наблюдение в КИ	22	35

2.4. Методы исследований, использованные в работе

2.4.1. Жалобы и анамнез

При первом визите и контрольном обследовании (визит 3) подробно собраны жалобы пациенток. Для удобства интерпретации данных на каждую пациентку был заполнен симптоматический опросник (Приложение А), составленный на основе клинических рекомендаций Министерства здравоохранения Российской Федерации «Бактериальный вагиноз» (2022). Особое внимание уделялось наиболее характерным для бактериального вагиноза клиническим проявлениям: наличие патологических вагинальных выделений, их цвет (белый, серый, серо-белый), консистенция (гомогенные/однородные, творожистые, водянистые), объем (обильные, умеренные, скудные, различные по интенсивности); присутствие неприятного рыбного запаха вагинальных выделений, дискомфорта во влагалище и в области наружных половых органов, а также болезненности при половом контакте (диспареуния) и при мочеиспускании (дизурия), зуда и/или жжения во влагалище.

На первом визите подробно изучался анамнез пациенток, а именно: акушерско-гинекологическая, урологическая и экстрагенитальная патология.

2.4.2. Физикальное обследование

Для оценки состояния наружных половых органов и слизистой оболочки влагалища, шейки матки и выявления объективных симптомов бактериального вагиноза все пациентки были осмотрены на гинекологическом кресле. С помощью одноразового стерильного зеркала Куско шейка матки обнажалась в зеркалах. Предварительный диагноз «бактериальный вагиноз» устанавливался на основании критериев Amsel (без учета «ключевых клеток» до получения результатов микроскопического анализа влагалищного отделяемого) в соответствии с клиническими рекомендациями Министерства здравоохранения Российской Федерации «Бактериальный вагиноз» (2022):

1. гомогенные беловато-серые выделения из половых путей, с неприятным «рыбным» запахом (1 балл);
2. pH влагалищных выделений выше 4,5 (1 балл);
3. положительный аминотест (1 балл);
4. выявление «ключевых» клеток при микроскопии влагалищных выделений (1 балл).

Для исключения беременности всем пациентками проводился мочевого экспресс-тест на беременность. Для определения pH (кислотности) отделяемого из влагалища применялась экспресс-диагностика с помощью полосок «Кольпотест pH» (ООО «Биосенсор АН», Россия). Индикаторная полоска представляет собой пластиковую подложку длиной 6 см, где на расстоянии 1-2 мм от края размещен сенсорный элемент – специальным образом обработанный pH-индикаторами фильтровальной материал из бумаги. Одна тест-полоска рассчитана на однократное определение pH. Метод оценки кислотности влагалища основан на взаимодействии ионов водорода, присутствующих в вагинальной жидкости, с индикатором pH. В зависимости от уровня pH вагинального отделяемого

изменяется окраска индикаторов. Окраска рН индикатора сравнивалась с эталоном на цветной шкале, расположенной непосредственно на упаковке, где каждый оттенок соответствовал значению кислотности. Нормальные показатели рН влагалищной жидкости находятся в пределах 3,7-4,5. Тест-полоска извлекалась из контейнера, далее с помощью зонда урогенитального типа В (ООО «Медицинские изделия, Россия») производился забор свободного отделяемого из заднего свода влагалища, которое наносилось на сенсорную панель полоски, полностью перекрывая поверхность сенсорного элемента. Через 10-15 секунд при хорошем освещении окраска тест-полоски сравнивалась с цветовой шкалой.

Для проведения аминотеста свободное отделяемое влагалища было забрано с помощью зонда урогенитального типа В (ООО «Медицинские изделия, Россия») и в равном объеме нанесено на сухое обезжиренное предметное стекло с 10% раствором гидроксида калия (КОН). Результат оценивали одновременно ввиду быстрого рассеивания летучих аминов. Положительным аминотест считался при появлении неприятного «рыбного» запаха как следствие выделения летучих аминов. Положительный аминотест и рН более 4,5 были основными клиническими критериями для предположения о наличии у пациентки бактериального вагиноза.

Перед проведением забора образцов биоматериала для лабораторных методов исследования бимануальное гинекологическое обследование не проводилось. Забор биоматериала проводился у женщин вне зависимости от фазы цикла за исключением дней менструации в следующем порядке: ПЦР в режиме реального времени, ТЭМ, микроскопическое и бактериологическое исследования.

2.4.3. Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени

Всем участницам исследования для верификации диагноза «бактериальный вагиноз» выполнялась полимеразная цепная реакция в режиме реального времени, которая позволяет произвести точную оценку состава микробиома влагалища и исключить субъективную составляющую в интерпретации результатов, с использованием теста Фемофлор®16 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Метод ПЦР в режиме реального времени включает следующие этапы: выделение генетического материала микроорганизмов из образца биоматериала (пробоподготовка) и амплификация ДНК бактерий в режиме реального времени. Для проведения теста Фемофлор®16 применялись детектирующие амплификаторы «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология, Россия) и комплекты для выделения ДНК из биологического материала: ПРОБА-НК-ПЛЮС (ООО «НПО ДНК-Технология, Россия). В смеси для амплификации находятся ДНК-зонды, в каждом из которых содержится флуоресцентная метка (Fam, Hex, Rox) и гаситель флуоресценции. Образование специфичного продукта приводит к разрушению ДНК-зонда, инаktivации гасителя флуоресценции и как следствие повышению уровня флуоресценции, который фиксируется детектирующим амплификатором. Использование нескольких флуоресцентных красителей в одной пробирке способствует одновременной регистрации результатов нескольких разных реакций амплификации. После завершения амплификации программа (программное обеспечение ДТматер, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) автоматически производит анализ результатов. При наличии в исследуемом образце ДНК исследуемых микроорганизмов в соответствующей строке отображается его количество в том числе в виде гистограммы, отражающей долю конкретного микроорганизма в микробиоме пациентки.

Методом ПЦР в режиме реального времени (тест Фемофлор®16) производилась количественная оценка геномной ДНК человека, отражающая контроль взятия материала (КВМ), общая бактериальная масса (ОБМ), а также идентификация следующих микроорганизмов:

1. Нормофлора: *Lactobacillus* spp. – род грамположительных анаэробных бактерий, основные представители вагинального микробиома, в норме доминируют над другими микробными сообществами.

2. Факультативные анаэробы (ФА) – относятся к нормофлоре влагалища, однако в высоких концентрациях могут вызывать гнойно-септические и воспалительные заболевания уrogenитального тракта. Семейство *Enterobacteriaceae* – грамотрицательные палочкообразные факультативно-

анаэробные микроорганизмы. Включает в себя множество родов, среди которых *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* и другие. *Streptococcus* spp. – род грамположительных, факультативно-анаэробных бактерий, который включает в себя бета-гемолитические стрептококки (*Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes* и др.) и альфа-гемолитические стрептококки (*Streptococcus anginosus*, *Streptococcus mitis* и др.). *Staphylococcus* spp. – род грамположительных каталазоотрицательных (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus saprophyticus*) и каталазоположительных (*Staphylococcus aureus*) факультативных анаэробов.

3. Облигатные анаэробы (ОА): *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas* spp., *Eubacterium* spp., *Sneathia* spp./*Leptotrichia* spp./*Fusobacterium* spp., *Megasphaera* spp./*Veillonella* spp./*Dialister* spp., *Lachnobacterium* spp./*Clostridium*s spp., *Mobiluncus* spp./*Corynebacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Atopobium vagina*. Представители данных таксономических групп наиболее часто ассоциированы с бактериальным вагинозом.

4. Дрожжеподобные грибы: *Candida* spp. – в норме присутствует во влагалище в низких титрах. Может стать причиной специфического воспалительного процесса (кандидозный вульвовагинит).

5. Условно-патогенные микоплазмы: *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma* (*urealyticum* + *parvum*). Роль данных микроорганизмов в генезе бактериального вагиноза четко не определена.

6. Патогенные микроорганизмы: *Mycoplasma genitalium*.

В лабораторных бланках теста Фемофлор®16 результаты показателей представлены в двух форматах: абсолютном (в виде десятичного логарифма концентрации ДНК микроорганизма в образце) и/или относительном (%). Абсолютные значения отражают микробную обсеменённость влагалища, относительные – определяют долю каждого из таксонов в общем количестве бактерий (ОБМ). Такие показатели теста Фемофлор®16 как КВМ, ОБМ, *Candida* spp., *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma* spp., *Mycoplasma genitalium* выражаются только в абсолютных значениях (lg ГЭ/мл – геном-эквивалентов на миллилитр

образца биоматериала). Геном-эквивалент представляет собой объем генетического материала (ДНК) конкретного микроорганизма, присутствующего в исследуемом образце.

При расчетах всех показателей теста Фемофлор®16 за исключением КВМ, ОБМ и условно-патогенных микоплазм, были использованы относительные (%) значения показателей, полученные путем деления абсолютных количеств отдельных бактерий на сумму выявленных микроорганизмов (СВМО). Этот показатель (СВМО) рассчитывается математически, путем сложения абсолютных значений количества отдельных микроорганизмов. Микробная обсемененность фиксировалась при значении $\geq 10^{3,0}$ ГЭ/мл (геномных эквивалентов на миллилитр биоматериала).

При анализе таких показателей теста Фемофлор®16 как КВМ, ОБМ и условно-патогенные микоплазмы использовались только абсолютные значения (lg ГЭ/мл). Микробная обсемененность условно-патогенных микоплазм учитывалась при значении $\geq 10^{4,0}$ ГЭ/мл.

Интерпретация результатов:

1. Абсолютный нормоценоз: *Lactobacillus* spp. более 80% от ОБМ; условно-патогенные микоплазмы (*Ureaplasma* spp., *Mycoplasma hominis*) и/или дрожжеподобные клетки (*Candida* spp.) не определяются либо присутствуют в количестве менее 10^4 ГЭ/образец.

2. Условный нормоценоз: *Lactobacillus* spp. более 80% от ОБМ; условно-патогенные микоплазмы (*Ureaplasma* spp., *Mycoplasma hominis*) и/или дрожжеподобные грибы (*Candida* spp.) не определяются либо присутствуют в количестве более 10^4 ГЭ/образец.

3. Умеренный дисбиоз: *Lactobacillus* spp. 20-80% от ОБМ.

4. Выраженный дисбиоз: *Lactobacillus* spp. менее 20% от ОБМ.

В зависимости от преобладания тех или иных бактерий определяется вид дисбиоза: анаэробный (облигатные анаэробны в количестве более 10%), аэробный (факультативные анаэробы в количестве более 10%), смешанный (облигатные анаэробны и факультативные анаэробы в количестве более 10%).

Получение соскобов эпителиальных клеток проводилось у женщин в первую или вторую фазу цикла. Для исследования применялся следующий расходный материал: зонд урогенитальный универсальный типа А1 (ООО «Медицинские изделия, Россия) и эппендорф с голубой транспортной средой (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Забор соскоба эпителия влагалища производился из заднебоковых сводов влагалища. Рабочую часть зонда с образцом биоматериала погружали в транспортную среду и вращали зонд в течение 10–15 секунд, избегая разбрызгивания раствора. После этого, удаляя избыток раствора о стенку пробирки, пробирку закрывали. Эппендорф маркировался клейким штрих кодом с уникальным регистрационным номером, соответствующему номеру на индивидуальном направлятельном бланке. В направлении были указаны ФИО пациентки, дата рождения, дата и время забора образца биоматериала и ФИО врача. Транспортировка и хранение образцов до начала анализа проводились при температуре от +2 °С до +8 °С. Исследование выполнялось на базе ООО «Научно-методический центр клинической лабораторной диагностики Ситилаб» (Москва, лицензия № Л041-01137-77/00349073 от 03.06.2019 г.).

2.4.4. Трансмиссионная электронная микроскопия

С целью визуализации биопленок, а также динамической оценки их структуры после курса терапии применялся метод трансмиссионной электронной микроскопии (далее – ТЭМ). Данный метод не преследовал задачу идентификации микроорганизмов, что производилось с помощью описанного ранее метода ПЦР-РВ. Морфологическая картина, при которой визуализировались скопления гетерогенных бактерий, плотно прилегающих друг к другу и объединенных между собой внеклеточным матриксом (межклеточным веществом) соответствовала биопленке. За ключевую клетку принимался эпителиоцит с адгезированными на нем микроорганизмами.

Перед получением образца биоматериала в сухой чистый эппендорф с помощью пипетки добавлялся буферный раствор до половины пробирки. Забор

материала для электронно-микроскопического исследования производился с помощью зонда урогенитального типа А2 (ООО «Медицинские изделия, Россия») однократным движением зонда по поверхности правого бокового, заднего и левого бокового сводов влагалища во избежание повреждения структуры биопленки. Место забора биоматериала для метода ТЭМ соответствовало локусам, из которых производилось взятие образцов для метода ПЦР-РВ. Полученный образец (соскоб эпителиальных клеток и свободное отделяемое влагалища) помещался в эппендорф с подготовленной средой. Транспортировка и хранение образцов до начала анализа проводились при температуре от +2 °С до +4 °С.

Исследование проводилось на базе НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ. Процесс пробоподготовки является сложным и длительным процессом. Фиксацию образцов проводили от 1 часа до 3 суток в холодильнике при температуре +4°С. С помощью центрифуги фиксированный биоматериал дважды в течение 5 минут отмывали 0,1М какодилатным буфером (рН = 7,2 - 7,4), после чего повторно фиксировали 1%-м водным раствором четырехокси осмия в вытяжном шкафу и на 1 час помещали в холодильник с температурным режимом +4°С. Следующим этапом является двукратная промывка биоматериала 50%-м этанолом по 5 мин путем центрифугирования и его последовательная дегидратация: 2%-м раствором уранилацетата на 70% этаноле в течение 12 часов; 96%-м этанолом на протяжении 30 минут; чистым этанолом – в 2 смены по 30 минут и ацетоном длительностью 30 мин. После завершения этапа промывки проводят пропитку материала эпоксидной смесью смолы-ацетона в соотношении 1 к 3 в течение 1 часа, далее тем же составом в отношении 1 к 1 на протяжении 1 часа и в пропорции 3 к 1 в течение 1 часа. На последнем этапе готовый биоматериал помещали в полипропиленовые капсулы и заливали жидкой эпоксидной смолой для обеспечения процесса полимеризации, которая осуществлялась в термостате в течение 24 часов при температуре 60°С. Ультратонкие срезы получали на микротоме UltraCut III («Reichert Jung Optische Werke AG», Австрия), докрашивали цитратом свинца («Serva», Германия) и осматривали с помощью электронного микроскопа JEM-1014 («JEOL», Япония), снабженного камерой «Orius SC1000W» («Gatan»).

2.4.5. Микроскопическое исследование

Микроскопическое исследование отражает состояние микробиома влагалища и позволяет оценить число лейкоцитов, присутствие ключевых клеток, морфологию микроорганизмов (палочковая, кокковая, смешанная и коккобациллярная флора), выявить грибковую флору (дрожжевые клетки, споры, мицелий), диплококки и трихомонады. Микроскопическое исследование отделяемого из влагалища выполнялись в лабораториях, имеющих надлежащий сертификат качества. Количество лейкоцитов во влагалище в лабораторных заключениях не имеет единых референсных значений. За верхнюю границу нормы принималось значение, равное 30 лейкоцитам в поле зрения. Значение показателя более 30 единиц в поле зрения считалось признаком воспалительного процесса.

Микроскопическое исследование вагинального отделяемого выполнено по методу светлого поля на микроскопе Olympus CX31 («Olympus Corporation», Япония). Окраска образцов производилась по Граму. Перед получением биоматериала у пациентки сухие обезжиренные предметные стекла были промаркированы, с указанием идентификационного номера участницы исследования, даты получения и места забора материала («V» - отделяемое из влагалища). На каждую пациентку заполнялся регистрационный лабораторный бланк для микроскопического исследования, где указывались ФИО, дата рождения, дата получения образца и ФИО ответственного за получение материала врача. Код диагноза в направлятельном бланке не указывался. После визуальной оценки слизистой влагалища стерильным универсальным урогенитальным зондом типа A1 (ООО «Медицинские изделия, Россия) производился забор материала из заднебоковых сводов влагалища с последующим нанесением вагинального отделяемого на участок предметного стекла. Полученный биологический материал фиксировался на воздухе в течение 5-10 минут, после чего предметное стекло помещалось в транспортировочный пенал и передавался в лабораторию в день забора биоматериала. Хранение и транспортировка материала осуществлялась при температуре от +2°C до +8 °C.

2.4.6. Микробиологическое исследование

Микробиологическое исследование направлено на идентификацию аэробных, факультативно-анаэробных микроорганизмов и грибов во влагалище при их выращивании на питательных средах. Данное исследование выполнялось с применением высококачественных питательных сред ведущих мировых производителей: энтерококкагар, стафилококкагар, агар ЭНДО-ГРМ (для энтеробактерий), Колумбийский агар (в том числе для *Gargnerella*), агар Сабуро (для выращивания дрожжевых и плесневых грибов). Идентификацию выделенных микроорганизмов проводили по технологии лазерной масс-спектрометрии («MALDI-TOF MS», Microflex LT, Bruker, Германия). В дополнение производилась оценка чувствительности микроорганизмов к различным лекарственным средствам диско-диффузионным методом при их диагностически значимом титре (10^4 КОЕ/титр и более). К анаэробам, вирусам, мицелийобразующим грибам и нормофлоре (лактобактерии) чувствительность к антибиотикам не определялась. Идентификация изолированного роста лактобактерий при выраженной клинической картине не исключала присутствия трудно культивируемой анаэробной флоры. Питательная среда для определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам – агар Мюллера-Хинтон II.

Забор биоматериала производился стерильным тампоном-зондом из заднего свода влагалища и помещался в пробирку с транспортной средой Эймса с древесным углем (ООО «МиниМед», Россия). Пробирки маркировались с указанием даты получения материала, идентификационного номера пациентки, даты ее рождения, лечебного учреждения, где производился забор материала и фамилией врача, ответственного за взятие биоматериала. Код диагноза в направляющий бланк не выносился. Полученный образец хранился и транспортировался при температуре от $+2^{\circ}\text{C}$ до $+8^{\circ}\text{C}$ и в тот же день поступал в лабораторию для последующего анализа.

2.5. Методы статистической обработки

Статистическую обработку данных проводили с применением программного обеспечения R (версия 4.3.2). Описательные статистики количественных данных представлены в виде медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей (Q1; Q3). Качественные показатели представлены в виде абсолютных частот (количества наблюдений) и относительных частот (долей). Данные обследований до начала лечения сравнивали между группами с целью определения сопоставимости групп для анализа. Различия оценивали с помощью межгрупповых сравнений исследуемых параметров после лечения. Ввиду непараметрического распределения данных для межгрупповых сравнений количественных показателей использовали U-критерий Манна-Уитни, для межгрупповых сравнений качественных показателей применяли двусторонний точный критерий Фишера. Для определения 95-процентного доверительного интервала (95% ДИ) применялся метод Вилсона. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Для статистического анализа результатов теста Фемофлор®16 использовалось ПО IBM SPSS Statistics 30, версия для Windows. Непараметрические данные представлены в виде медианы (Me), верхнего и нижнего квартилей (Q1; Q3). Межгрупповые различия по абсолютным и относительным значениям теста Фемофлор®16 оценивались с помощью U-критерия Манна-Уитни. Для сравнения качественных показателей (бинарные переменные) использован критерий Хи-квадрат Пирсона. Различия считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Определение молекулярно-генетических маркеров 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 после проведенного лечения биопленками. Для определения порогового значения микробного комплекса с *Gardnerella vaginalis* по результатам ROC-анализа был использован индекс Юдена. Анализ связи между исследуемыми переменными проводился с

помощью критерия Хи-квадрат Пирсона и симметричных мер ассоциации с соблюдением условий применимости.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Жалобы и анамнез

В исследования были включены женщины от 18 до 45 лет. Средний возраст пациенток контрольной группы (N=48) составил $31,1 \pm 7,76$ год, экспериментальной (N=47) – $31,8 \pm 7,9$ год. Характеристика пациенток обеих групп по возрасту представлена в Таблице 3, а также на Рисунке 2. Различия между группами по возрастному параметру не достигли статистической значимости ($p=0,682$).

Таблица 3 – Сравнение участниц контрольной (М) и экспериментальной (М+БА) групп исследования по возрасту

Параметр	М, N=48	М+БА, N=47
Среднее (M)	31,1	31,8
Медиана (Me)	29,0	32
Стандартное отклонение (SD)	7,76	7,9
Дисперсия (D)	60,1	62,3
Минимум (Min)	18	19
Максимум (Max)	45	45
Процентили	25 (Q1)	25,8
	50 (Q2)	29,0
	75 (Q3)	38,0
p	0,682	

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

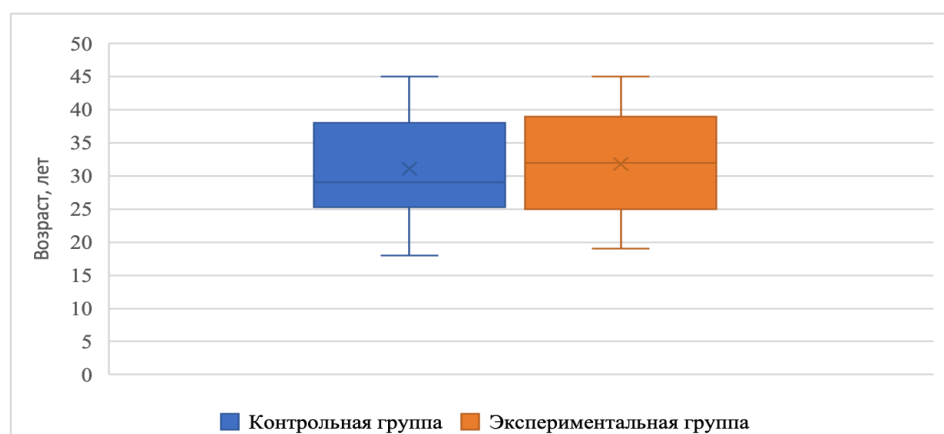


Рисунок 2 – Возрастные параметры пациенток контрольной и экспериментальной групп исследования

Пациентки, вошедшие в исследование, отмечали неоднократные (более 3-х) рецидивы бактериального вагиноза в анамнезе (N=95; 100%). Обращает внимание, что в течение последнего года эпизоды бактериального вагиноза возникали не менее 2-х раз у всех участниц исследования (N=95; 100%), что проявлялось характерной клинической картиной и/или отклонениями в результатах лабораторных анализов. У подавляющего числа женщин первое обострение БВ возникло после начала половой жизни (N=94, 98,9%), вместе с тем, 1 пациентка из контрольной группы сообщила о возникновении первого эпизода до начала половой жизни. Менее половины пациенток отметили наличие постоянного полового партнера (N=41, 43,16%), 3 женщины (3,16%) сказали об отсутствии половой жизни в течение ≥ 6 месяцев, у остальных пациенток было 2 и более половых партнеров в течение последнего года (N=51, 53,68%), статистически значимых межгрупповых различий не отмечено ($p > 0,05$). Только 12,5% (N=6) женщин контрольной группы и 10,64% – экспериментальной (N=5) женщин прибегали к барьерному виду контрацепции (презерватив) на постоянной основе ($p = 1,000$), 10,42% (N=5) пациенток контрольной группы и 4,26% (N=2) экспериментальной группы предпочитали комбинированные оральные контрацептивы (КОК) ($p = 0,435$). Подавляющее большинство женщин контрольной и экспериментальной групп исследования сообщили о выборе в пользу прерванного полового акта (ППА) (58,33% и 61,7% соответственно, $p = 0,835$) или о чередовании двух видов контрацепции (презерватив или ППА) (18,75% и 23,4% соответственно, $p = 0,622$). Большая часть обследованных участниц исследования (N=57, 60%) относились к нерожавшим женщинам, у других пациенток в анамнезе были одни (n=22, 23,16%), двое (N=13, 13,68%) или трое (N=3, 3,16%) родов. Пациентки обеих групп сопоставимы по акушерскому анамнезу ($p > 0,05$). У рожавших пациенток (N=38) родоразрешение было осуществлено естественным путем (N=31, 81,6%), оперативно путем операции кесарево сечения (N=6, 15,8%) или с помощью вакуум-экстракции плода (N=1, 2,6%). Статистической значимости при сравнении пациенток контрольной и экспериментальной групп по данному параметру (вариант родоразрешения) не получено ($p > 0,05$). По всем акушерско-

гинекологическим патологиям (акушерские осложнения, инфекции передающиеся половым путем (ИППП), вирус папилломы человека (ВПЧ), вульвовагинальный кандидоз (ВВК), дисплазия шейки матки (CIN), отсутствие беременности 6 и более месяцев) межгрупповых различий не обнаружено ($p>0,05$). К акушерским осложнениям ($N=23$; 24,2%) относились неразвивающаяся беременность, самопроизвольный выкидыш и преждевременные роды. У 9 включенных в исследование пациенток (9,5%) имелись данные о ранее перенесенных ИППП, а именно хламидиоз (*Chlamydia trachomatis*) и/или микоплазмоз (*Mycoplasma genitalium*). Пять женщин (5,3%) сообщили о конизации шейки матки в анамнезе по поводу дисплазии умеренной и тяжелой степени (CIN II-III). У 66 обследованных женщин (69,5%) ранее диагностировался хотя бы один рецидив вульвовагинального кандидоза, а рецидивирующее течение с 3 и более его эпизодами в анамнезе встречалось более чем у трети участниц исследования ($N=37$; 38,9%). Пациентки обеих групп сопоставимы между собой по урологическим и экстрагенитальным заболеваниям ($p>0,05$). Среди обследованных участниц исследования у 58 женщин (61,1%) отмечали наличие 1-2 эпизодов цистита в анамнезе, а 22 пациентки (23,2%) сообщили о рецидивирующем характере цистита с 3 и более его обострениями в год. Мочекаменная болезнь (МКБ) встречалась только у одной женщины (1,1%) в контрольной группе. Нередко в анамнезе пациенток с бактериальным вагинозом встречались заболевания желудочно-кишечного тракта ($N=40$, 42,1%): гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, гастроэзофагиальная рефлюксная болезнь, панкреатит, синдром раздраженного кишечника. Реже обследованные женщины сообщали о заболеваниях щитовидной железы (аутоиммунный тиреоидит, фокальные изменения ЩЖ, гипертрофия ЩЖ, гипотиреоз) – 5,3%, варикозной болезни (варикозное расширение вен нижних конечностей) – 3,2%, хроническом поражении нервно-мышечного аппарата (миастения) – 2,1%, хроническом аутоиммунном демиелинизирующем заболевании (рассеянный склероз) – 2,1%, ревматоидном артрите – 2,1%, поражении опорно-двигательного аппарата (гипермобильность надколенника), микроаденоме гипофиза (без медикаментозной

коррекции) – 2,1%, дерматологических заболеваниях (дерматит, розацеа) – 6,3%, заболеваниях молочных желез (фиброзно-кистозная мастопатия) – 6,3% и заболеваниях ЛОР-органов (хронический тонзиллит, хронический фарингит) – 11,6%. Ни одна пациентка не сообщила о наличии сахарного диабета I или II типа и об артериальной гипертензии. При анализе антропометрических данных (индекс массы тела, ИМТ) не отмечено статистически значимых различий между пациентками контрольной и экспериментальной групп ($p>0,05$). Более половины, вошедших в исследование пациенток ($N=59$, 62,1%) имели нормальный индекс массы тела ($ИМТ=18,6-24,9$ кг/м²), у 5,3% женщин ($N=5$) отмечен дефицит массы тела ($ИМТ \leq 18,5$ кг/м²), у 30,5% ($N=29$) – избыточная масса тела ($ИМТ=25,0-29,9$ кг/м²), у 4,2% ($N=2$) пациенток контрольной группы диагностировано ожирение I степени ($ИМТ=30,0-34,9$ кг/м²). Анамнестические данные обследованных представлены в Таблице 4.

Таблица 4 – Анамнестические данные участниц контрольной (М) и экспериментальной (М+БА) групп исследования

Анамнестические данные	Общее количество пациенток, N=95	М, N=48	М+БА, N=47	p
Половая жизнь				
Постоянный половой партнер	41 (43,16%)	23 (47,92%)	18 (38,29%)	0,409
Нет постоянного полового партнера	51 (53,68%)	24 (50%)	27 (57,45%)	0,539
Половая жизнь отсутствует в течение ≥ 6 месяцев	3 (3,16%)	1 (2,08%)	2 (4,26%)	0,617
Способ контрацепции				
Презерватив	11 (11,58%)	6 (12,5%)	5 (10,64%)	1,000
ППА	57 (60%)	28 (58,33%)	29 (61,7%)	0,835
ППА или презерватив	20 (21,05%)	9 (18,75%)	11 (23,4%)	0,622
КОК	7 (7,37%)	5 (10,42%)	2 (4,26%)	0,435
Акушерско-гинекологический анамнез				
Нерожавшие женщины	57 (60,0%)	32 (66,67%)	25 (53,19%)	0,212
1 роды в анамнезе	22 (23,16%)	7 (14,58%)	15 (31,91%)	0,054
2-е родов в анамнезе	13 (13,68%)	8 (16,67%)	5 (10,64%)	0,552
3-е родов в анамнезе	3 (3,16%)	1 (2,08%)	2 (4,26%)	0,621
Акушерские осложнения	23 (24,2%)	14 (29,2%)	9 (19,1%)	0,339
ИППП	9 (9,5%)	5 (10,4%)	4 (8,5%)	1,000
ВВК	66 (69,5%)	36 (75,0%)	30 (63,8%)	0,271
Рецидивирующий ВВК	37 (38,9%)	20 (41,7%)	17 (36,2%)	0,675
ВПЧ	22 (23,2%)	13 (27,1%)	9 (19,1%)	0,467
CIN II-III	5 (5,3%)	3 (6,25%)	2 (4,3%)	1,000
Отсутствие беременности 6 и более месяцев	8 (8,4%)	4 (8,3%)	4 (8,5%)	1,000

Продолжение Таблицы 4

Анамнестические данные	Общее количество пациенток, N=95	M, N=48	M+БА, N=47	p
Урологический анамнез				
Мочекаменная болезнь	1 (1,1%)	0 (0%)	1 (2,1%)	0,495
Эпизод цистита	58 (61,1%)	32 (66,7%)	26 (55,3%)	0,297
Рецидивирующий цистит	22 (23,2%)	12 (25%)	10 (21,3%)	0,809
Индекс массы тела				
ИМТ ($\leq 18,5$ кг/м ²)	5 (5,3%)	1 (2,1%)	4 (8,5%)	0,204
ИМТ (18,6-24,9 кг/м ²)	59 (62,1%)	28 (58,3%)	31 (66,0%)	0,527
ИМТ (25,0-29,9 кг/м ²)	29 (30,5%)	17 (35,4%)	12 (25,5%)	0,374
ИМТ (30,0-34,9 кг/м ²)	2 (2,1%)	2 (4,2%)	0 (0%)	0,495
Экстрагенитальные заболевания				
Варикозное расширение вен нижних конечностей	3 (3,2%)	1 (2,1%)	2 (4,3%)	0,617
Заболевания ЖКТ	40 (42,1%)	22 (45,8%)	18 (38,3%)	0,535
Заболевания ЩЖ	5 (5,3%)	1 (2,1%)	4 (8,5%)	0,204
Миастения	1 (1,1%)	1 (2,1%)	0 (0%)	1,000
Рассеянный склероз	1 (1,1%)	1 (2,1%)	0 (0%)	1,000
Ревматоидный артрит	1 (1,1%)	1 (2,1%)	0 (0%)	1,000
Гипермобильность надколенника	1 (1,1%)	1 (2,1%)	0 (0%)	1,000
Микроаденома гипофиза	1 (1,1%)	1 (2,1%)	0 (0%)	1,000
Дерматологические заболевания	6 (6,3%)	4 (8,3%)	2 (4,3%)	0,677
ФКМ	6 (6,3%)	3 (6,25%)	3 (6,4%)	1,000
Заболевания ЛОР-органов	11 (11,6%)	3 (6,25%)	8 (17%)	0,120
Примечание: данные представлены в виде абсолютного числа и доли (%) пациенток. * – межгрупповые различия показателей статистически значимы ($p \leq 0,05$), точный критерий Фишера				

Общая характеристика жалоб участниц исследования и их распределение по группам до и после лечения представлена в Таблице 5. Наиболее распространенная жалоба среди всех участниц исследования – патологические выделения из влагалища (N=78; 82,1%) белого (N=53; 55,8%)/серого (N=24; 25,3%)/желтоватого (N=1; 1,1%) цвета; гомогенной (N=71; 74,7%)/водянистой (N=4; 4,2%) или густой (N=3; 3,2%) консистенции; обильные (N=31; 32,6%)/умеренные (N=19; 0,2%)/скудные (N=13; 13,7%) или различные по интенсивности (N=15; 15,8%). Не менее редко пациентки обеих групп обращали внимание на неприятный запах влагалищных выделений (N=72; 75,8%). Менее частыми жалобами являлись: дискомфорт (N=14; 14,7%), зуд (N=17; 17,9%) и жжение (N=6; 6,3%) во влагалище, диспареуния (N=12; 12,6%) и дизурия (N=3; 3,2%). Некоторые пациентки заявили об усилении симптомов после полового контакта, накануне или непосредственно после менструации, после проведения туалета половых органов с применением мыла/гелей. До лечения пациентки контрольной (метронидазол) и

экспериментальной (метронидазол + бовгиалуронидазы азоксимер) групп сопоставимы между собой по всем параметрам ($p > 0,05$).

Таблица 5 – Сравнительная характеристика жалоб участниц контрольной (М) и экспериментальной (М+БА) групп исследования до и после лечения

Параметр	Общее количество пациенток, N=95	М, N=48	М+БА, N=47	p
До лечения				
Патологические выделения из влагалища	78 (82,1%)	41 (85,4%)	37 (78,7%)	0,433
Запах вагинального отделяемого	72 (75,8%)	36 (75%)	36 (76,6%)	1,000
Дискомфорт во влагалище	14 (14,7%)	4 (8,3%)	10 (21,3%)	0,089
Зуд во влагалище	17 (17,9%)	7 (14,6%)	10 (21,3%)	0,433
Жжение во влагалище	6 (6,3%)	3 (6,3%)	3 (6,4%)	1,000
Диспареуния	12 (12,6%)	5 (10,4%)	7 (14,9%)	0,552
Дизурия	3 (3,2%)	0 (0%)	3 (6,4%)	0,117
После лечения				
Патологические выделения из влагалища	18 (18,9%)	14 (29,2%)	4 (8,5%)	0,017*
Запах вагинального отделяемого	15 (15,8%)	12 (25%)	3 (6,4%)	0,022*
Дискомфорт во влагалище	2 (2,1%)	2 (4,2%)	0 (0%)	0,495
Зуд во влагалище	9 (9,5%)	7 (14,6%)	2 (4,3%)	0,159
Жжение во влагалище	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1,000
Диспареуния	3 (3,2%)	3 (6,25%)	0 (0%)	0,242
Дизурия	1 (1,1%)	1 (2,1%)	0 (0%)	1,000
Примечание: данные представлены в виде абсолютного числа и доли (%) пациенток. * – межгрупповые различия показателей статистически значимы ($p \leq 0,05$), точный критерий Фишера				

После лечения пациентки контрольной группы достоверно чаще предъявляли жалобы на выделения (N=14, 29,2%) и запах (N=12; 25%) из влагалища по сравнению с участницами экспериментальной группы (N=4; 8,5% и N=3; 6,4% соответственно, $p \leq 0,05$). О дискомфорте во влагалище (N=2; 4,2%), диспареунии (N=3; 6,25%) и дизурии (N=1; 2,1%) сообщили только женщины, получающие монотерапию метронидазолом, однако статистической значимости не наблюдается ($p > 0,05$). Ни одна участница исследования не отмечала чувство жжения во влагалище после лечения. В контрольной группе зуд во влагалище присутствовал в 14,6% случаев (N=7), а у женщин, получающих терапию метронидазолом в сочетании с бовгиалуронидазы азоксимером в 4,3% (N=2) случаев, однако

достоверное различие не получено ($p=0,159$). Сравнительная оценка основных клинических проявлений бактериального вагиноза у пациенток обеих групп исследования до и после лечения показана на Рисунке 3.

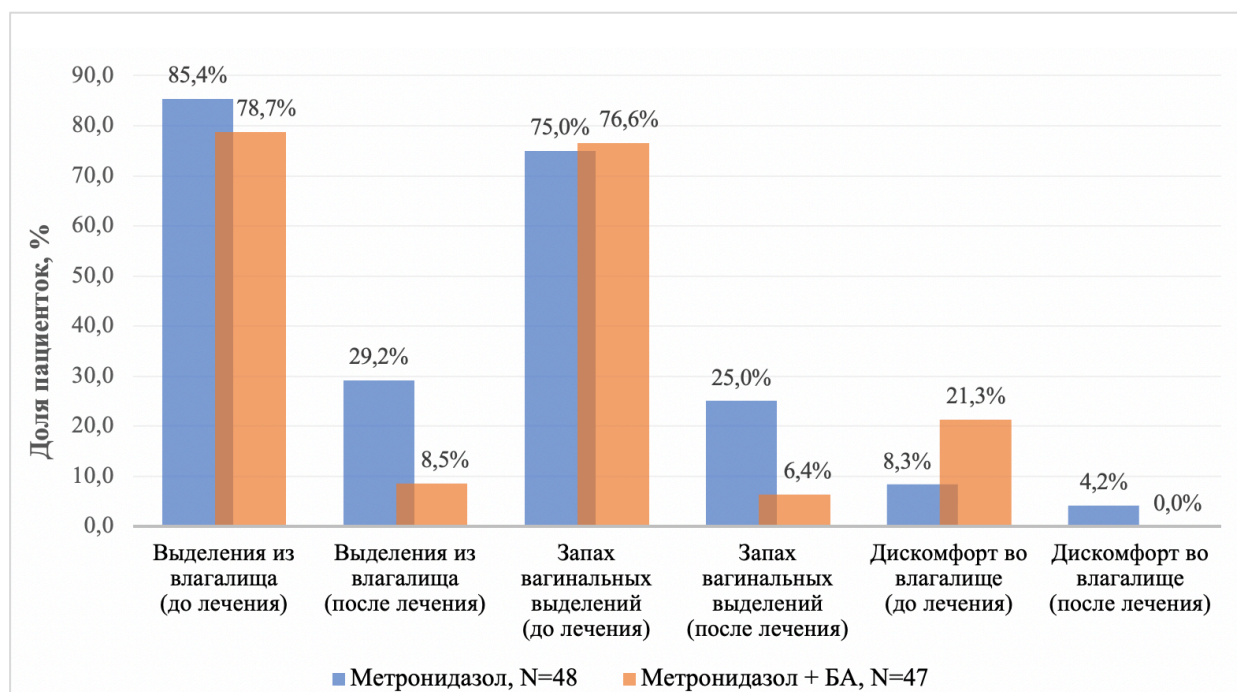


Рисунок 3 – Основные жалобы участниц контрольной (метронидазол) и экспериментальной (метронидазол+БА) групп исследования (до и после лечения)

3.2. Данные объективного осмотра

При первом визите патологические вагинальные выделения были отмечены у 97,9% (N=47) женщин контрольной группы и у всех пациенток (N=47; 100%) экспериментальной группы. Повышение pH более 4,5 и положительный аминотест отмечены у всех женщин обеих групп (N=95; 100%). Воспалительных изменений слизистой влагалища (гиперемия, отек) не отмечено ни у одной пациентки. Таким образом, практически все участницы исследования кроме одной пациентки контрольной группы в ходе объективной оценки имели 3 из 4-х баллов по критериям Amsel (без учета ключевых клеток до получения результатов микроскопического анализа отделяемого из влагалища), то есть клиническую картину бактериального вагиноза. Данные представлены в Таблице 6.

Статистически значимых различий между группами исследования на диагностическом этапе не обнаружено ($p > 0,05$).

Таблица 6 – Данные объективного осмотра пациенток контрольной (М) и экспериментальной (М+БА) групп исследования (до и после лечения)

Параметр	До лечения				После лечения			
	Общее количество пациенток, N=95	М, N=48	М+БА, N=47	Р	Общее количество пациенток, N=95	М, N=48	М+БА, N=47	Р
Патологические выделения из влагалища	94 (98,9%)	47 (97,9%)	47 (100%)	1,000	38 (40%)	26 (54,2%)	12 (25,5%)	0,006*
pH > 4,5	95 (100%)	48 (100%)	47 (100%)	1,000	39 (41,1%)	27 (56,25%)	12 (25,5%)	0,003*
Положительный аминотест	95 (100%)	48 (100%)	47 (100%)	1,000	38 (40%)	28 (58,3%)	10 (21,3%)	<0,001*

Примечание: данные представлены в виде абсолютного числа и доли (%) пациенток. * – межгрупповые различия показателей статистически значимы ($p \leq 0,05$), точный критерий Фишера

После лечения при осмотре участниц исследования достоверно чаще у пациенток контрольной группы наблюдались патологические выделения из влагалища (N=26; 54,2%), положительный кольпо-тест-рН (N=27; 56,25%) и аминотест (N=28; 58,3%) по сравнению с женщинами, получающими комбинированную терапию 25,5% (N=12), 25,5% (N=12), 21,3% (N=10). Различия между группами статистически значимы ($p \leq 0,05$). Сравнительная оценка объективных симптомов бактериального вагиноза пациенток контрольной и экспериментальной групп до и после лечения представлена в Таблице 6 и на Рисунке 4.

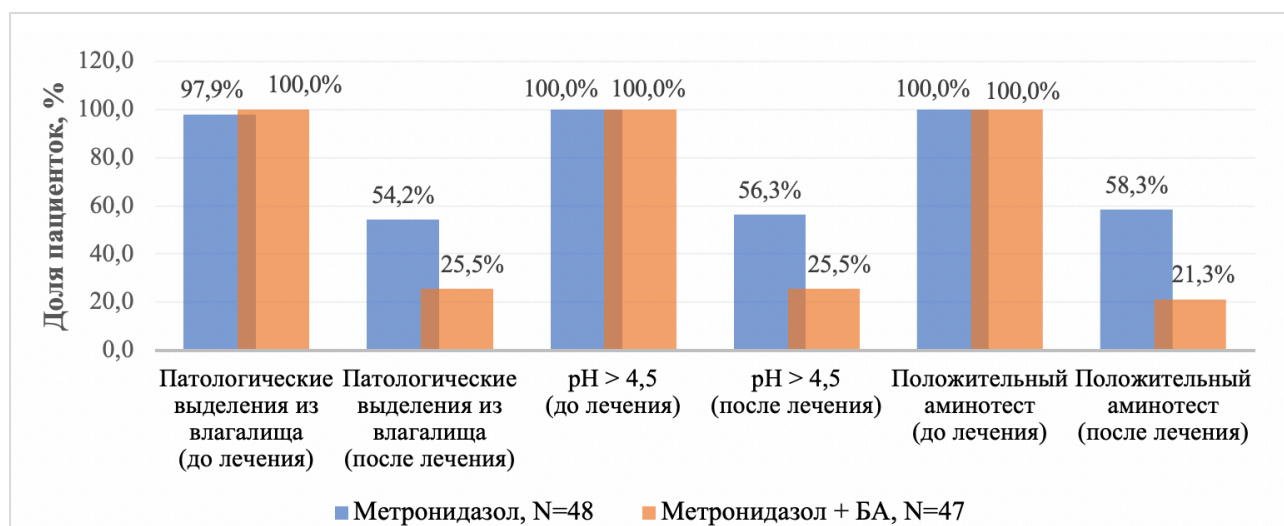


Рисунок 4 – Сравнительная оценка данных объективного осмотра у пациенток контрольной (метронидазол) и экспериментальной (метронидазол+БА) групп исследования (до и после лечения)

3.3. Микроскопическое исследование

Исходно (до лечения) у 93,8% (N=45) пациенток контрольной и у 89,4 % (N=42) участниц экспериментальной групп не отмечено увеличения числа лейкоцитов по результатам микроскопического анализа отделяемого из влагалища, у остальных женщин (6,25% и 10,6% соответственно) с бактериальным вагинозом определялось более 30 лейкоцитов в поле зрения. Наиболее часто в мазке выявлялась коккобациллярная флора (43,16%, N=41), реже смешанная (32,63%, N=31) или палочковая в небольшом количестве (23,16%, N=22). У одной пациентки микрофлора не определялась (1,05%, N=1). Ключевые клетки по данным микроскопического анализа вагинального отделяемого обнаружены только у 32,6% женщин (N=31), а дрожжеподобные клетки в виде спор или псевдомицелия у 15,8% пациенток (N=15). Диплококки и трихомонады отсутствовали у всех участниц исследования. Результаты микроскопии до лечения отражены в Таблице 7. По всем параметрам микроскопического метода диагностики, кроме микрофлоры, пациентки контрольной и экспериментальной групп сопоставимы между собой ($p > 0,05$). Отсутствует достоверное отличие в частоте обнаружения палочковой и смешанной флоры среди пациенток обеих групп ($p > 0,05$). Коккобациллярная

микрофлора достоверно чаще встречалась в образцах отделяемого из влагалища у участниц исследования как группы монотерапии, так и в группе пациенток, получающих комбинированное лечение ($p=0,045$) и достоверно чаще выявлялась у последних ($p=0,023$).

Таблица 7 – Данные микроскопического исследования отделяемого из влагалища у женщин контрольной (М) и экспериментальной (М+БА) групп исследования на диагностическом этапе (до лечения)

Параметр	Общее количество пациенток, N=95	М, N=48	М+БА, N=47	p
Количество лейкоцитов во влагалище				
≤ 30 лейкоцитов в п/зр	87 (91,6%)	45 (93,75%)	42 (89,4%)	0,486
> 30 лейкоцитов в п/зр	8 (8,4%)	3 (6,25%)	5 (10,6%)	
Микрофлора влагалища				
коккобациллярная	41 (43,16%)	15 (31,25%)	26 (55,32%)	0,023*
смешанная	31 (32,63%)	19 (39,58%)	12 (25,53%)	0,190
палочковая	22 (23,16%)	14 (29,17%)	8 (17,02%)	0,224
отсутствует	1 (1,05%)	0 (0%)	1 (2,13%)	0,495
0,045*				
Ключевые клетки				
обнаружены	31 (32,6%)	14 (29,2%)	17 (36,2%)	0,516
не обнаружены	64 (67,4%)	34 (70,8%)	30 (63,8%)	
Дрожжеподобные грибы				
обнаружены	15 (15,8%)	7 (14,6%)	8 (17,0%)	0,785
не обнаружены	80 (84,2%)	41 (85,4%)	39 (83%)	
Диплококки				
обнаружены	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1,000
не обнаружены	95 (100%)	48 (100%)	47 (100%)	
Трихомонады				
обнаружены	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1,000
не обнаружены	95 (100%)	48 (100%)	47 (100%)	
Примечание: данные представлены в виде абсолютного числа и доли (%) пациенток. * – межгрупповые различия показателей статистически значимы ($p \leq 0,05$), точный критерий Фишера				

При контрольном микроскопическом исследовании вагинального отделяемого участниц исследования обращает на себя внимание достоверное различие в частоте выявления палочковой флоры у женщин, получающих комбинированную терапию (65,95%, N=31), по сравнению с группой монотерапии метронидазолом (43,75%, N=21) ($p=0,04$). Коккобациллярная флора обнаружена у 18,75% (N=9) пациенток контрольной группы и у 8,51% (N=4) экспериментальной, смешанная у 37,5% (N=18) и 23,4% (N=11) соответственно, однако межгрупповые

различия не отмечены ($p > 0,05$). Редко при микроскопическом анализе образца вагинального отделяемого после лечения женщин с бактериальным вагинозом определялся повышенный уровень лейкоцитов (6,3%, N=6) и ключевых клеток (8,4%, N=8), и хотя данные параметры чаще определялись у пациенток контрольной группы (8,4%, N=4 и 12,5%, N=6 соответственно) по сравнению с экспериментальной (4,3%, N=2 и 4,3%, N=2 соответственно), статистически значимых различий не зафиксировано ($p > 0,05$). Дрожжеподобные грибы в образцах влагалищного отделяемого встречались в равной степени среди участниц обеих групп исследования (6,3%, N=6, $p=1,000$). Диплококки и трихомонады отсутствовали у всех участниц исследования. Данные микроскопического исследования после лечения представлены в Таблице 8.

Таблица 8 – Данные микроскопического исследования отделяемого из влагалища у женщин контрольной (М) и экспериментальной (М+БА) групп исследования (после лечения)

Параметр	Общее количество пациенток, N=95	М, N=48	М+БА, N=47	p
Количество лейкоцитов во влагалище				
≤ 30 лейкоцитов в п/зр	89 (93,7%)	44 (91,7%)	45 (95,7%)	0,677
> 30 лейкоцитов в п/зр	6 (6,3%)	4 (8,3%)	2 (4,3%)	
Микрофлора влагалища				
коккобациллярная	13 (13,68%)	9 (18,75%)	4 (8,51%)	0,232
смешанная	29 (30,53%)	18 (37,5%)	11 (23,4%)	0,182
палочковая	52 (54,74%)	21 (43,75%)	31 (65,96%)	0,040*
отсутствует	1 (1,05%)	0 (0%)	1 (2,13%)	0,495
Ключевые клетки				
обнаружены	8 (8,4%)	6 (12,5%)	2 (4,3%)	0,268
не обнаружены	87 (91,6%)	42 (87,5%)	45 (95,7%)	
Дрожжеподобные грибы				
обнаружены	6 (6,3%)	3 (6,25%)	3 (6,4%)	1,000
не обнаружены	89 (93,7%)	45 (93,75%)	44 (93,6%)	
Диплококки				
обнаружены	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1,000
не обнаружены	95 (100%)	48 (100%)	47 (100%)	
Трихомонады				
обнаружены	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1,000
не обнаружены	95 (100%)	48 (100%)	47 (100%)	
Примечание: данные представлены в виде абсолютного числа и доли (%) пациенток. * – межгрупповые различия показателей статистически значимы ($p \leq 0,05$), точный критерий Фишера				

С учетом данных микроскопического исследования вагинального отделяемого и результатов оценки объективной клинической картины был определен суммарный балл по шкале Amsel у пациенток обеих групп. Все критерии (4 из 4-х) были соблюдены только у 30 из 95 пациенток (31,6%), среди которых 13 (27,1%) – это пациентки контрольной группы и 17 (36,2%) – экспериментальной. Остальные женщины имели 3 балла из 4-х возможных. Пациентки сопоставимы по данному параметру между собой на диагностическом этапе ($p=1,000$). После лечения диагноз бактериальный вагиноз можно было установить у 43,7% участниц исследования, получавших монотерапию метронидазолом (3 балла: $N=15$; 4 балла: $N=4$) и у 6 женщин (12,8%), принимающих комбинированную терапию (3 балла: $N=4$; 4 балла: $N=2$) [49]. Диагноз бактериальный вагиноз, основанный на критериях Amsel, достоверно чаще был обнаружен у пациенток контрольной группы по сравнению с экспериментальной ($p=0,001$). Данные представлены в Таблице 9.

Таблица 9 – Оценка по критериям Amsel у пациенток контрольной (М) и экспериментальной (М+БА) групп исследования (до и после лечения)

Баллы по критериям Amsel	До лечения				После лечения			
	Общее количество, $N=95$	М, $N=48$	М+БА, $N=47$	p	Общее количество, $N=95$	М, $N=48$	М+БА, $N=47$	p
3-4 балла	95 (100%)	48 (100%)	47 (100%)	1,000	19 (20,0%)	21 (43,8%)	6 (12,8%)	0,001*

Примечание: данные представлены в виде абсолютного числа и доли (%) пациенток. * – межгрупповые различия показателей статистически значимы ($p \leq 0,05$), точный критерий Фишера

3.4. Микробиологическое исследование

Микробиологическое исследование отделяемого из влагалища показало разнообразие микробного состава влагалища у пациенток с рецидивирующим течением бактериального вагиноза (Рисунок 5). Статистически значимых различий между участницами контрольной и экспериментальной групп исследования не наблюдалось ($p > 0,05$).

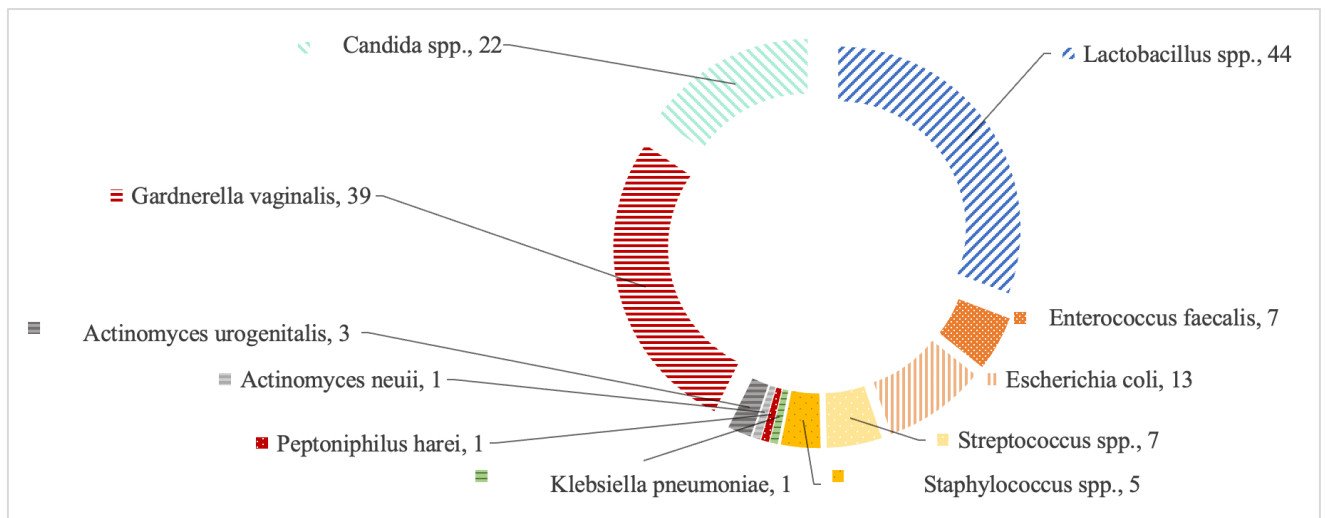


Рисунок 5 – Состав микробиома влагалища у женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом по данным микробиологического исследования (N=95)

Результаты микробиологического исследования до и после лечения среди пациенток с бактериальным вагинозом, а также распределение выявленных микроорганизмов по группам исследования представлены в Таблице 10. При посеве отделяемого из влагалища на диагностическом этапе у 46,3% пациенток с бактериальным вагинозом (N=44) высевались молочнокислые бактерии из рода *Lactobacillus spp.* Лактобациллы в концентрации $10^4 - 10^8$ колониеобразующих единиц в образце (КОЕ/ед) наблюдались у 30 из 44 пациенток (68,2%), в количестве менее 10^4 КОЕ/ед – у 14 из 44 женщин (31,8%). Изолированный рост лактобактерий получен в 54,5% случаев (N=24). Обращает на себя внимание редкое, менее чем в половине случаев (41,1%, N=39), выявление *Gardnerella vaginalis* путем посева на питательные среды в титре от 10^3 до 10^7 КОЕ/ед. В единичных случаях микробиологическое исследование до лечения позволило идентифицировать такие труднокультивируемые бактерии как *Peptoniphilus harei* (1,1%, N=1), *Klebsiella spp.* (*Klebsiella pneumoniae*, 1,1%, N=1), *Actinomyces neuii* (1,1%, N=1) и *Actinomyces urogenitalis* (3,2%, N=3) в количестве 10^5-10^6 КОЕ/ед. Кишечная палочка (*Escherichia coli*) и фекальный энтерококк (*Enterococcus faecalis*) высевались у 13,7% (N=13) и 3,4% (N=7) пациенток соответственно, причем почти у всех женщин определялся клинически значимый уровень $10^4 - 10^7$ КОЕ/ед. (100%, N=7 и 84,6%, N=11 соответственно). Редко у пациенток с бактериальным вагинозом

выявлялись факультативно-анаэробные микроорганизмы из рода стрептококков (7,4%, N=7) и стафилококков (5,3%, N=5), среди которых *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus mitis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*. Стоит отметить, что почти у четверти участниц исследования (23,1%, N=22) обнаружены дрожжеподобные грибы (*Candida spp.*). У 3 из 95 женщин (3,2%) роста микрофлоры не выявлено.

Таблица 10 – Частота выявления представителей условно-патогенной микрофлоры у пациенток контрольной (М) и экспериментальной (М+БА) групп с помощью микробиологического исследования (до и после лечения)

Параметр	До лечения				После лечения			
	Общее количество, N=95	М, N=48	М+БА, N=47	p	Общее количество, N=95	М, N=48	М+БА, N=47	p
<i>Lactobacillus spp.</i>	44 (46,3%)	26 (54,2%)	18 (38,3%)	0,151	70 (73,7%)	32 (66,7%)	38 (80,9%)	0,162
<i>Enterococcus faecalis</i>	7 (3,4%)	5 (10,4%)	2 (4,3%)	0,435	9 (9,5%)	6 (12,5%)	3 (6,4%)	0,486
<i>Klebsiella spp.</i>	1 (1,1%)	1 (2,1%)	0 (0%)	1,000	1 (1,1%)	0 (0%)	1 (2,1%)	0,495
<i>Escherichia coli</i>	13 (13,7%)	5 (10,4%)	8 (17%)	0,386	13 (13,7%)	5 (10,4%)	8 (17%)	0,386
<i>Streptococcus spp.</i>	7 (7,4%)	5 (10,4%)	2 (4,3%)	0,250	11 (11,6%)	7 (14,6%)	4 (8,5%)	0,355
<i>Staphylococcus spp.</i>	5 (5,3%)	2 (4,2%)	3 (6,4%)	0,629	8 (8,4%)	3 (6,25%)	5 (10,6%)	0,441
<i>Peptoniphilus harei</i>	1 (1,1%)	0 (0%)	1 (2,1%)	1,000	-	-	-	-
<i>Actinomyces neuii</i>	1 (1,1%)	0 (0%)	1 (2,1%)	1,000	-	-	-	-
<i>Actinomyces urogenitalis</i>	3 (3,2%)	0 (0%)	3 (6,4%)	0,117	-	-	-	-
<i>Gardnerella vaginalis</i>	39 (41,1%)	16 (33,3%)	23 (48,9%)	0,147	12 (12,6%)	9 (18,75%)	3 (6,4%)	0,120
<i>Candida spp.</i>	22 (23,2%)	9 (18,75%)	13 (27,7%)	0,339	17 (17,9%)	10 (20,8%)	7 (14,9%)	0,594

Примечание: данные представлены в виде абсолютного числа и доли (%) пациенток. * – межгрупповые различия показателей статистически значимы ($p \leq 0,05$), точный критерий Фишера

После лечения наиболее часто при культуральном исследовании вагинального отделяемого определялись бактерии рода *Lactobacillus spp.* (73,7%, N=70) как среди представительниц I группы (контрольной), так и у женщин,

получающих комбинированное лечение (II группа): 66,7% (N=32) и 80,9% (N=38) (Рисунок 6).

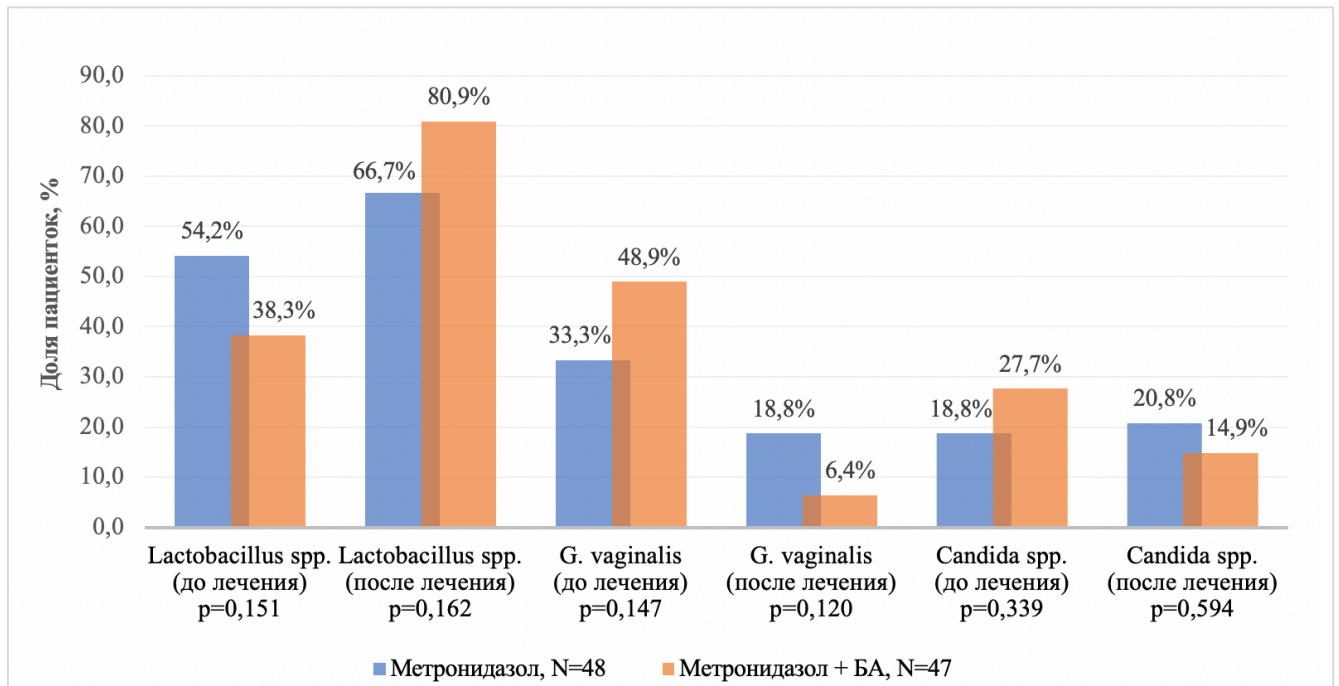


Рисунок 6 – Частота выявления *Lactobacillus* spp., *Gardnerella vaginalis* и *Candida* spp. методом бактериологического исследования отделяемого из влагалища

Несмотря на отсутствие достоверности в частоте обнаружения молочнокислых бацилл у участниц двух групп, они чаще высевались у пациенток II (экспериментальной) группы ($p=0,162$). Концентрация лактобацилл варьировалась от 10^3 до 10^8 КОЕ/ед.: у 2 из 70 пациенток (2,9%) в количестве 10^3 КОЕ/ед, у остальных (97,1%, $N=68$) – 10^4 КОЕ/ед. и более. В посттерапевтическом периоде облигатный анаэроб, а именно *Gardnerella vaginalis*, определялся реже (12,6%, $N=12$), причем в большем числе случаев при посеве вагинального отделяемого в образцах женщин, получающих монотерапию метронидазолом (18,75%, $N=9$) по сравнению с группой комбинированного лечения (6,4%, $N=3$), тем не менее статистически значимых различий не отмечено ($p=0,120$) (Рисунок 6). Концентрация *Gardnerella vaginalis* составляла 10^4 - 10^6 КОЕ/ед. Количество пациентов с выявленной *Candida* spp. в I (контрольной) группе было статистически незначимо ($p=0,594$) выше по сравнению со II группой (20,8% и 14,9%

соответственно), однако сравнивая результаты микробиологического исследования до и после лечения в контрольной группе дрожжеподобные грибы выявлялись чаще после лечения, в то время как в экспериментальной группе количество пациенток с *Candida spp.* уменьшилось. Не выявлено статистически значимых различий в частоте обнаружения сопутствующей флоры (*Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *E. coli*, *Enterococcus faecalis*) между участницами двух групп ($p > 0,05$), однако присутствие большинства из них, за исключением кишечной палочки, наблюдалось незначительно чаще после лечения.

3.5. Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени

Абсолютные значения (lg ГЭ/мл) таких показателей теста Фемофлор®16 как КВМ, ОБМ, *Candida spp.*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma spp.* до и после лечения у пациенток контрольной (М) и экспериментальной (М+БА) групп приведены в Таблице 11.

Таблица 11 – Значения показателей теста Фемофлор®16 у пациенток контрольной (М) и экспериментальной (М+БА) групп исследования до и после лечения

Показатели теста	До лечения			После лечения		
	Медиана (Q1; Q3)		p	Медиана (Q1; Q3)		p
	М, N=48	М+БА, N=47		М, N=48	М+БА, N=47	
КВМ (1)	5,2 (4,6; 5,7)	5,2 (4,9; 5,8)	0,399	4,6 (4,0; 5,7)	4,9 (4,5; 5,5)	0,194
ОБМ (1)	6,9 (5,9; 7,6)	7,2 (6,5; 7,5)	0,171	6,4 (5,6; 7,1)	6,6 (5,6; 7,2)	0,534
<i>Candida spp.</i> (2)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 3,2)	0,253	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,479
<i>Mycoplasma hominis</i> (2)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,203	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,629
<i>Ureaplasma spp.</i> (2)	0,0 (0,0; 4,1)	0,0 (0,0; 4,6)	0,947	0,0 (0,0; 3,4)	0,0 (0,0; 3,1)	0,450

Примечание: * - межгрупповые различия показателей статистически значимы ($p \leq 0,05$);

1 – Сравнивались абсолютные значения;

2 - Сравнивались качественные значения (бинарные переменные), наличие микробной обсемененности (МО) фиксировалось при значениях $\geq 10^{4,0}$ ГЭ/мл

Данные представлены в виде медианы (Me), первого и третьего квартилей (Q1, Q3). Межгрупповые различия для параметров ОБМ и КВМ оценивались по абсолютным значениям, в то время как у *Candida spp.*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma spp.* сравнивались качественные значения (бинарные переменные) при значении микробной обсемененности $\geq 10^{4,0}$ ГЭ/мл. Критерием адекватного забора биоматериала служит геномная ДНК (КВМ), которая обнаружена в достаточном количестве как до, так и после лечения у всех пациенток, включенных в исследование. Статистически значимых межгрупповых различий по данному показателю обнаружено не было ($p > 0,05$).

Для остальных параметров теста Фемофлор®16, а именно для бактерий рода *Lactobacillus*, облигатно-анаэробных микроорганизмов (ОА) и факультативно-анаэробных микроорганизмов (ФА), использовались относительные (%) значения, которые представлены для обследованных пациенток обеих групп до и после лечения в Таблице 12 в формате медианы (Me), первого и третьего квартилей (Q1, Q3).

На диагностическом этапе отмечались высокие значения бактериальной нагрузки (ОБМ) во влагалище как среди пациенток, получающих монотерапию метронидазолом (Me=6,9; Q1=5,9; Q3=7,6), так и в группе комбинированного лечения (Me=7,2; Q1=6,5; Q3=7,5) (Таблица 11). Значимых различий между пациентками контрольной и экспериментальной групп не выявлено ($p=0,171$). Высокая бактериальная обсемененность потенциально обусловлена преобладанием облигатно-анаэробных микроорганизмов, медианное значение которых составило 19,6 (Q1=88,1; Q3=99,6) для женщин контрольной группы и 92,4 (Q1=71,8; Q3=99,8) для пациенток группы комбинированного лечения ($p=0,167$) (Таблица 12).

Таблица 12 – Относительные значения (%) показателей теста Фемофлор®16 у пациенток контрольной (М) и экспериментальной (М+БА) групп исследования до и после лечения

Показатели теста Фемофлор®16	До лечения			После лечения		
	Медиана (Q1; Q3)		p	Медиана (Q1; Q3)		p
	М, N=48	М+БА, N=47		М, N=48	М+БА, N=47	
Lactobacillus spp.	0,3 (10,1; 79,2)	7,6 (0,2; 28,0)	0,289	4,5 (86,3; 99,9)	99,7 (87,7; 100,0)	0,004*
сем. Enterobacteriaceae	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,867	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,682
Streptococcus spp.	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,444	0,0 (0,0; 0,1)	0,0 (0,0; 0,0)	0,107
Staphylococcus spp.	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,503	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,064
Аэробы (ФА)	0,0 (0,0; 0,1)	0,0 (0,0; 0,1)	0,544	0,0 (0,0; 0,2)	0,0 (0,0; 0,1)	0,341
Gardnerella vaginalis + Prevotella bivia + Porphyromonas spp.	1,3 (22,7; 53,7)	27,9 (5,9; 66,4)	0,352	0,0 (0,4; 35,2)	0,0 (0,0; 0,4)	0,004*
Eubacterium spp.	0,8 (10,6; 27,2)	15,1 (3,3; 36,7)	0,506	0,0 (0,3; 8,1)	0,0 (0,0; 0,5)	0,035*
Sneathia spp. + Leptotrichia spp. + Fusobacterium spp.	0,0 (0,0; 0,5)	0,0 (0,0; 1,9)	0,759	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,174
Megasphaera spp. + Veillonella spp. + Dialister spp.	0,0 (0,1; 2,0)	0,7 (0,0; 7,5)	0,066	0,0 (0,0; 1,5)	0,0 (0,0; 0,0)	0,002*
Lachnobacterium spp. + Clostridium spp.	0,0 (0,0; 0,1)	0,0 (0,0; 0,2)	0,204	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,332
Mobiluncus spp. + Corinebacterium spp.	0,0 (0,0; 0,4)	0,0 (0,0; 0,2)	0,485	0,0 (0,0; 0,4)	0,0 (0,0; 0,0)	0,014*
Peptostreptococcus spp.	0,0 (0,0; 0,3)	0,1 (0,0; 0,7)	0,125	0,0 (0,0; 0,1)	0,0 (0,0; 0,0)	0,060
Atopobium vaginae	0,0 (0,0; 20,6)	3,6 (0,0; 31,3)	0,396	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,082
Анаэробы (ОА)	19,6 (88,1; 99,6)	92,4 (71,8; 99,8)	0,167	6,9 (0,0; 88,4)	0,1 (0,0; 2,7)	0,007*

Примечание: *- межгрупповые различия показателей статистически значимы (p ≤ 0,05)

В то же время концентрация бактерий рода *Lactobacillus* была подавлена у всех обследованных женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом и составила 0,3 (Q1=10,1; Q3=79,2) и 7,6 (Q1=0,2; Q3=28,0) для пациенток монотерапии метронидазолом и комбинированного лечения соответственно (p=0,289) (Таблица 12). Среди облигатных анаэробов наиболее высокие значения

наблюдались для *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. Медианное значение данного параметра составляло 1,3 (Q1=22,7; Q3=53,7) у женщин в контрольной группе и 27,9 (Q1=5,9; Q3=66,4) – в экспериментальной (p=0,352). Не менее часто у представительниц групп монотерапии и комбинированного лечения верифицировались бактерии рода *Eubacterium* (Me=0,8 (Q1=10,6; Q3=27,2) и Me=15,1 (Q1=3,3; Q3=36,7) соответственно) и *Atopobium vaginae* (Me=0,0 (Q1=0,0; Q3=20,6) и Me=3,6 (Q1=0,0; Q3=31,3) соответственно). Различий между группами не выявлено (p>0,05). Исходная частота выявления *Candida* spp., *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma* spp. у пациенток группы монотерапии и группы комбинированного лечения были статистически незначимыми (p>0,05). У 16 пациенток (16,8%) на диагностическом этапе выявлена *Candida* spp. в клинически значимом титре $\geq 10^4$ ГЭ/мл, то есть имеет место ассоциация бактериального вагиноза и вульвовагинального кандидоза. Таким образом, до начала лечения у пациенток обеих групп отмечены схожие микробиологические профили по результатам теста Фемофлор®16. Статистически достоверные различия не обнаружены ни по одному параметру (p>0,05), что подтверждает исходную сопоставимость всех включенных в исследование женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом и преобладание у данной когорты женщин облигатно-анаэробной микрофлоры над нормофлорой.

После проведенного лечения у пациенток как контрольной, так и экспериментальной групп исследования были зафиксированы внутригрупповые различия по ряду показателей теста Фемофлор®16 по сравнению с исходными данными микробиологического профиля, полученными на диагностическом этапе (Таблица 13). У женщин обеих групп наблюдалось увеличение относительных значений *Lactobacillus* spp. и снижение суммарного количества облигатных анаэробов. У всех женщин было отмечено уменьшение значений *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp., *Eubacterium* spp., *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp. и *Atopobium vaginae* (p≤0,05). У пациенток экспериментальной группы также обращает на себя внимание снижение доли бактерий из родов *Megasphaera* spp. + *Veillonella* spp. + *Dialister* spp. (p=0,000),

Lachnobacterium spp. + *Clostridium* spp. ($p=0,007$) и *Peptostreptococcus* spp. ($p=0,001$), что не наблюдалось у пациенток, получающих монотерапию метронидазолом ($p>0,05$). Бактериальная нагрузка (ОБМ) достоверно снизилась только в экспериментальной группе ($p=0,003$), что, вероятно, связано с более выраженным снижением биомассы анаэробных микроорганизмов у данной когорты пациенток. Такой показатель как *Candida* spp. в концентрации $\geq 10^4$ ГЭ/мл после лечения был выявлен у 8 из 95 женщин (8,4%).

Таблица 13 – Значимость внутригрупповых различий (р-значение) показателей теста Фемофлор®16 до и после лечения у пациенток контрольной (М) и экспериментальной (М+БА) групп исследования

Показатели теста Фемофлор®16	Значимость внутригрупповых различий до/после лечения, р-значение	
	М, N=48	М+БА, N=47
Общее кол-во бактерий (ОБМ)	0,077	0,003*
<i>Lactobacillus</i> spp.	0,000*	0,000*
Сем. Enterobacteriaceae	0,723	0,865
<i>Streptococcus</i> spp.	0,823	0,789
<i>Staphylococcus</i> spp.	0,260	0,465
Аэробы (ФА)	0,331	0,775
<i>Gardnerella vaginalis</i> + <i>Prevotella bivia</i> + <i>Porphyromonas</i> spp.	0,028*	0,000*
<i>Eubacterium</i> spp.	0,001*	0,000*
<i>Sneathia</i> spp. + <i>Leptotrichia</i> spp. + <i>Fusobacterium</i> spp.	0,027*	0,013*
<i>Megasphaera</i> spp. + <i>Veillonella</i> spp. + <i>Dialister</i> spp.	0,516	0,000*
<i>Lachnobacterium</i> spp. + <i>Clostridium</i> spp.	0,081	0,007*
<i>Mobiluncus</i> spp. + <i>Corinebacterium</i> spp.	0,976	0,246
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	0,702	0,001*
<i>Atopobium vaginae</i>	0,016*	0,000*
Анаэробы (ОА)	0,000*	0,000*
<i>Mycoplasma hominis</i>	0,500	0,063
<i>Ureaplasma urealyticum</i> + <i>parvum</i>	0,388	0,065
<i>Candida</i> spp.	1,000	0,039*

Примечание: *- внутригрупповые различия показателей статистически значимы ($p \leq 0,05$), парный критерий Вилкоксона

Несмотря на эффективность обеих схем лечения в аспекте нормализации микробиома влагалища у женщин с рецидивирующим течением бактериального вагиноза, было отмечено, что в конечной точке исследования экспериментальная группа достоверно отличалась от группы контроля по ряду показателей (Таблица 12). Так, например, после терапии у пациенток экспериментальной группы увеличилось медианное значение *Lactobacillus spp.* с 7,6 (Q1=0,2; Q3=28,0) до 99,7 (Q1=87,7; Q3=100,0), в то время как в группе монотерапии метронидазолом оно поднялось до 4,5 (Q1=86,3; Q3=99,9) ($p=0,004$). Данные представлены в Таблице 12 и на Рисунке 7.

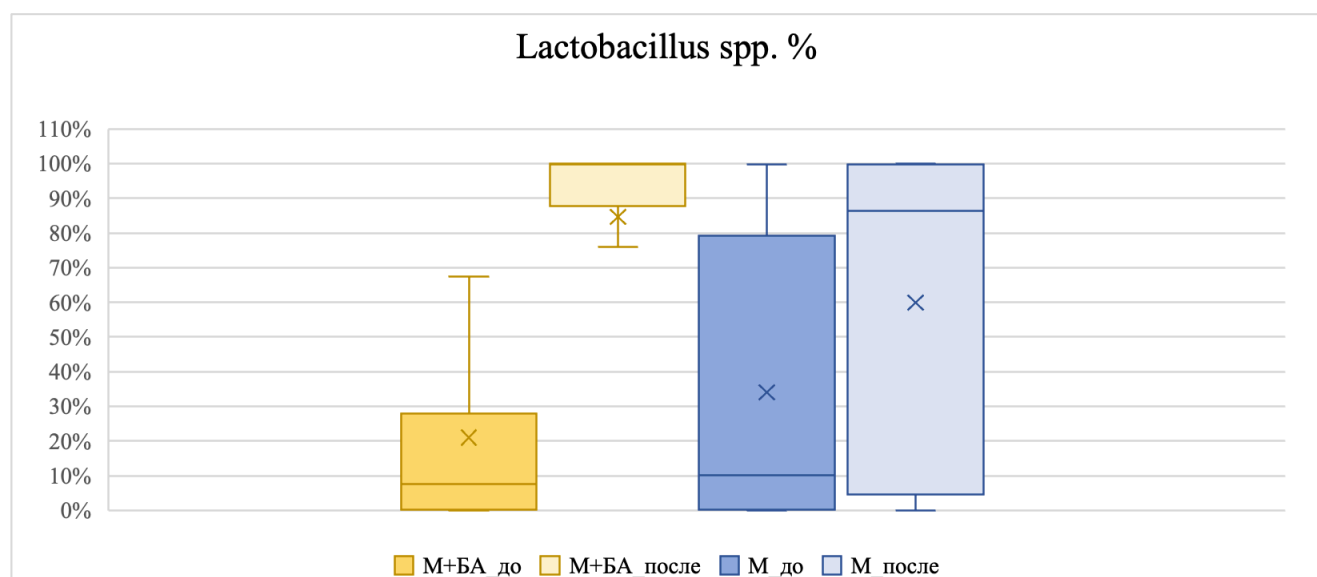


Рисунок 7 – Сравнительная оценка доли (%) *Lactobacillus spp.* у пациенток контрольной (М) и экспериментальной (М+БА) групп до и после лечения

Медианное значение облигатных анаэробов у женщин, пролеченных метронидазолом в сочетании с бовгиалуронидазы азоксимером, уменьшилось с 92,4 (Q1=71,8; Q3=99,8) до 0,1 (Q1=0,0; Q3=2,7) и статистически значимо отличалось от результатов пациенток контрольной группы ($p=0,007$) (Таблица 12, Рисунок 8).

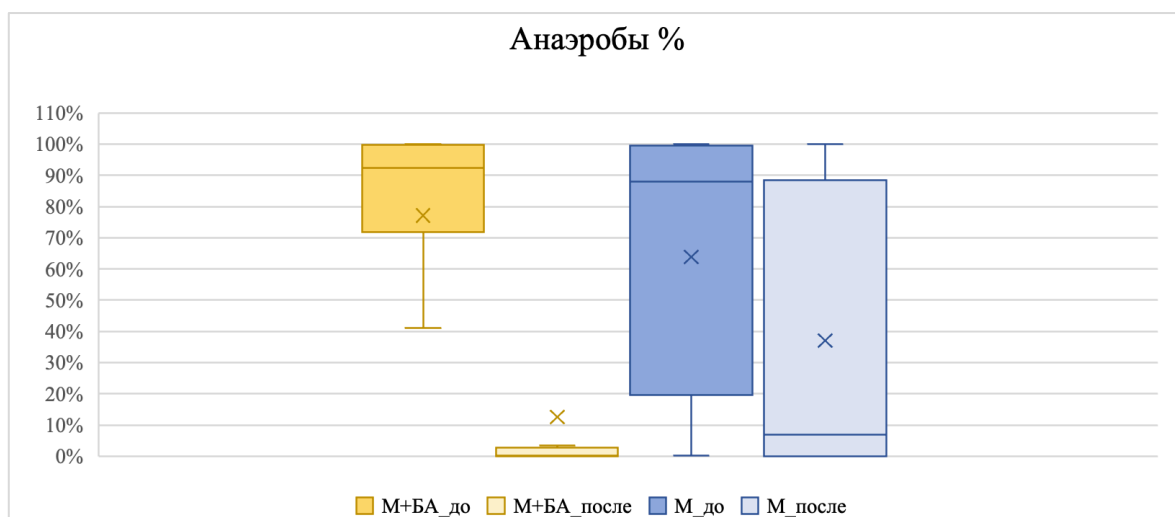


Рисунок 8 – Сравнительная оценка доли (%) облигатных анаэробов (анаэробов) у пациенток контрольной (М) и экспериментальной (М+БА) групп до и после лечения

Концентрация микробного комплекса с *Gardnerella vaginalis*, который наиболее часто выявлялся у пациенток обеих групп до лечения, уменьшился у женщин экспериментальной группы с 27,9 (Q1=5,9; Q3=66,4) до 0,0 (Q1=0,0; Q3=0,4), а у группы монотерапии метронидазолом с 1,3 (Q1=22,7; Q3=53,7) до 0,0 (Q1=0,4; Q3=35,2) (Рисунок 9).

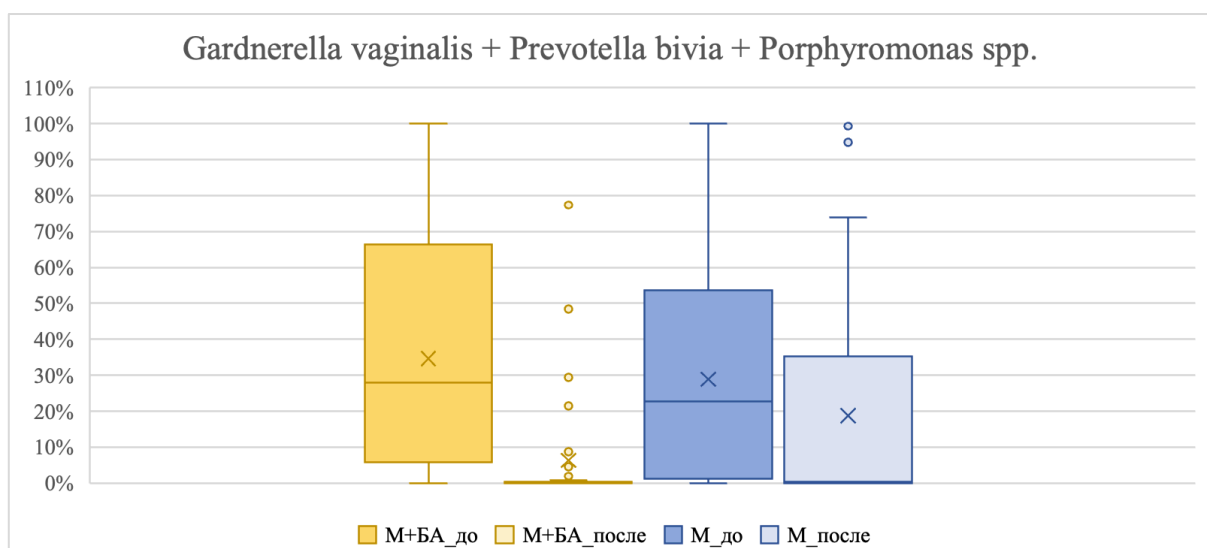


Рисунок 9 – Сравнительная оценка доли (%) *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas spp.* у пациенток контрольной (М) и экспериментальной (М+БА) групп до и после лечения

После лечения у женщин группы комбинированного лечения по сравнению с контрольной также отмечено снижение относительных значений таких микроорганизмов как *Eubacterium* spp. ($p=0,035$), *Megasphaera* spp. + *Veillonella* spp. + *Dialister* spp. ($p=0,002$) и *Mobiluncus* spp. + *Corinebacterium* spp. ($p=0,014$). Частота выявления дрожжеподобных грибов и условно-патогенных микоплазм во влагалище не показала значимых межгрупповых различий после проведенного лечения ($p>0,05$), однако *Candida* spp. выявлялась у женщин экспериментальной группы реже по сравнению с данными той же группы на диагностическом этапе ($p=0,039$). *Mycoplasma genitalium* не выявлена ни у одной обследованной пациентки ни до, ни после лечения. Концентрации факультативно-анаэробных микроорганизмов (сем. *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp. и *Streptococcus* spp.), были минимальны как до, так и после лечения у всех включенных в исследование женщин – значимых межгрупповых и внутригрупповых различий до/после лечения по данным параметрам не обнаружено (Таблица 12, Таблица 13).

3.6. Трансмиссионная электронная микроскопия

С помощью трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) удалось обнаружить биопленки в образцах соскоба влагалищного эпителия у 67,4% пациенток ($N=64$) с рецидивирующим бактериальным вагинозом, среди них 60,4% ($N=29$) – это женщины контрольной группы и 74,5% ($N=35$) – экспериментальной [42, 49]. Данные представлены в Таблице 14. Участницы обеих групп исследования сопоставимы между собой по данному параметру ($p=0,190$). Стоит отметить, что у 3-х представительниц контрольной группы и у 2-х – экспериментальной биопленки были обнаружены в криптах вагинального эпителия, то есть в складках слизистой оболочки. Вместе с тем во влагалище женщин с верифицированными биопленками также присутствовали планктонные формы гетерогенных бактерий.

Таблица 14 – Данные трансмиссионной электронной микроскопии у пациенток контрольной (М) и экспериментальной (М+БА) групп исследования до и после лечения

Параметр	До лечения				После лечения			
	Общее количество, N=95	М, N=48	М+БА, N=47	р	Общее количество, N=95	М, N=48	М+БА, N=47	р
Биопленки обнаружены	64 (67,4%)	29 (60,4%)	35 (74,5%)	0,190	29 (30,5%)	25 (52,1%)	4 (8,5%)	<0,001*
Морфология небопленочного бактериального вагиноза								
Планктонные формы гетерогенных бактерий	18 (18,9%)	14 (29,2%)	4 (8,5%)	0,017*	24 (25,3%)	8 (16,7%)	16 (34%)	0,062
Гетерогенные колонии бактерий без матрикса	13 (13,7%)	5 (10,4%)	8 (17%)	0,386	10 (10,5%)	4 (8,3%)	6 (12,8%)	0,523
Чистый эпителий	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	-	32 (33,7%)	11 (23,4%)	21 (44,7%)	0,031*
Ключевые клетки	72 (75,8%)	34 (70,8%)	38 (80,9%)	0,339	24 (25,3%)	18 (37,5%)	6 (12,8%)	0,009*
Примечание: данные представлены в виде абсолютного числа и доли (%) пациенток. * – межгрупповые различия показателей статистически значимы ($p \leq 0,05$), точный критерий Фишера								

На Рисунке 10 представлена микрофотограмма образца соскоба эпителия влагалища пациентки с рецидивирующим бактериальным вагинозом: скопления бактерий, плотно прилегающих друг к другу, между которыми располагается внеклеточный матрикс в виде волокнистой структуры.

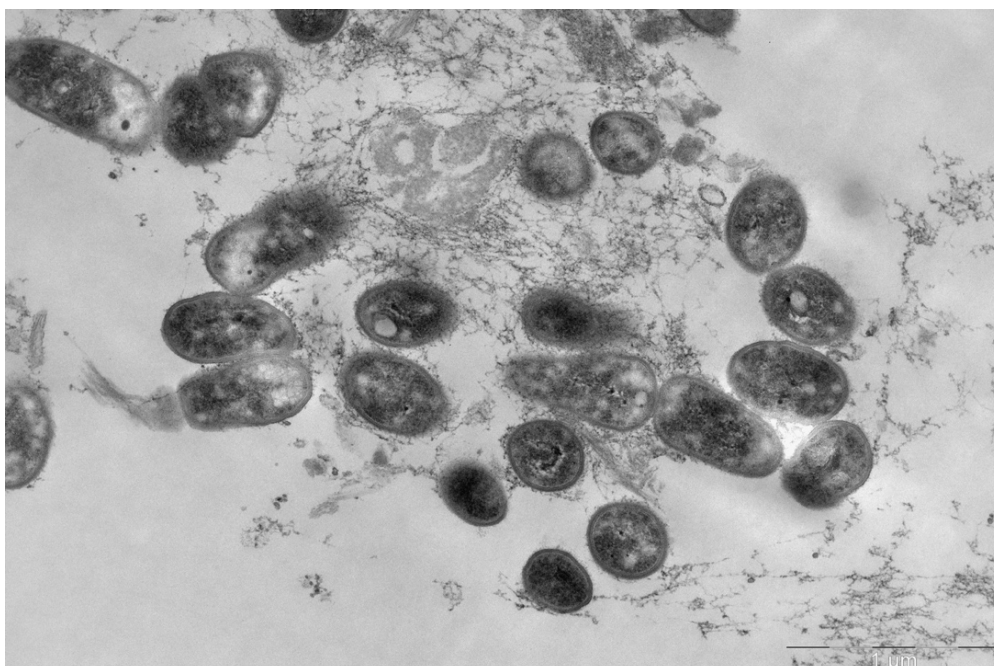


Рисунок 10 – Микрофотограмма соскоба эпителия влагалища у пациентки с рецидивирующим течением бактериального вагиноза (до лечения). На изображении – биопленки (сообщества гетерогенных бактерий, окруженные внеклеточным матриксом). Размер масштабной линейки – 1 мкм

Небиопленочные формы бактериального вагиноза (32,6%, N=31) на диагностическом этапе можно морфологически описать как планктонные формы гетерогенных бактерий или как скопления микроорганизмов палочковой и кокковой формы без связующего матрикса, которые встречались в 18,9% (N=18) и 13,7% (N=13) случаев соответственно, причем планктонные формы бактерий достоверно чаще выявлялись у пациенток контрольной группы, по сравнению с экспериментальной ($p=0,017$). Данные представлены в Таблице 14.

Стоит также отметить, что до лечения ТЭМ позволила верифицировать ключевые клетки в 75,8% случаев (N=72): у 34 из 49 (70,8%) женщин группы монотерапии метронидазолом и у 38 из 47 (80,9%) – из группы комбинированного лечения ($p=0,339$) (Таблица 14), что более чем в два раза превышает частоту выявления ключевых клеток с помощью световой микроскопии образца вагинального отделяемого (Рисунок 11). Микрофотограмма ключевых клеток, полученных из образцов соскоба вагинального эпителия у женщин с бактериальным вагинозом, показаны на Рисунке 12.

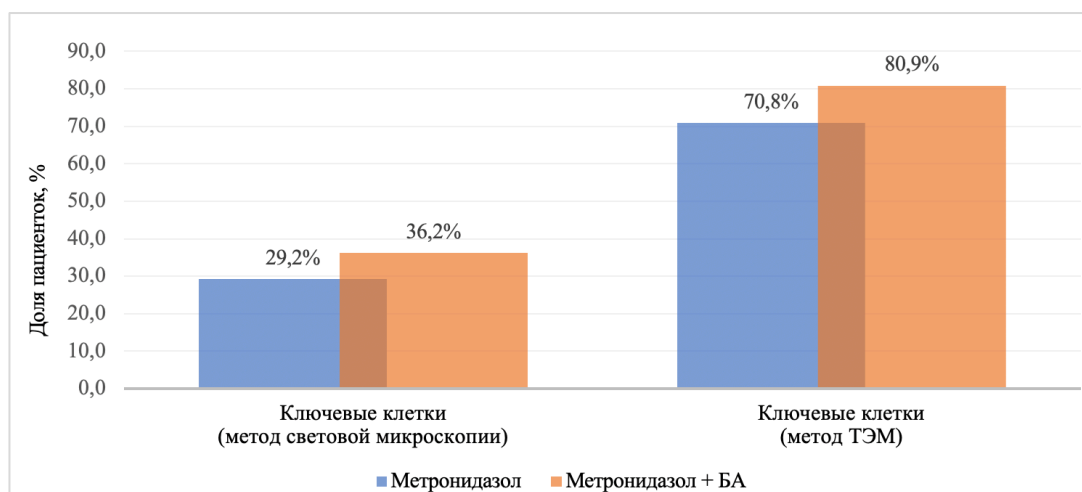


Рисунок 11 – Сравнительная оценка частоты выявления ключевых клеток методом световой микроскопии и трансмиссионной электронной микроскопии

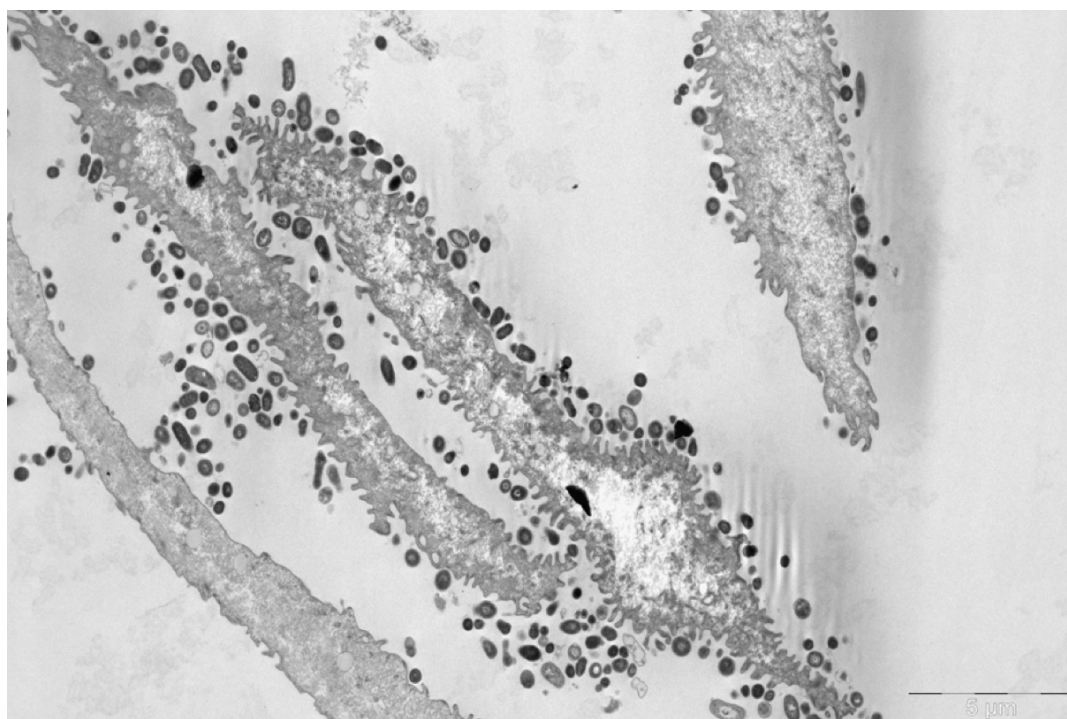


Рисунок 12 – Микрофотограмма соскоба эпителия влагалища у пациентки с рецидивирующим течением бактериального вагиноза (до лечения). На изображении – ключевые клетки. Размер масштабной линейки – 5 мкм

После лечения в группе женщин, получающих монотерапию метронидазолом достоверно чаще сохранялись биопленки на слизистой генитального тракта в отличие от группы комбинированного лечения ($p < 0,001$), в то время как чистый эпителий с единичными бактериями, по форме напоминающим лактобациллы, отмечался статистически значимо выше у последних ($p = 0,031$). Обращает на себя

внимание, что у женщин с выявленными после лечения биопленками вне зависимости от схемы терапии планктонные формы бактерий встречались в меньшем количестве или полностью отсутствовали. При контрольном обследовании ключевые клетки достоверно чаще обнаруживались у пациенток контрольной группы (37,5%, N=18) по сравнению с экспериментальной (12,5%, N=6) ($p=0,009$). Данные по частоте выявления биопленочного и небипленочного бактериального вагиноза (чистый эпителий), а также ключевых клеток методом ТЭМ представлены на Рисунке 13.

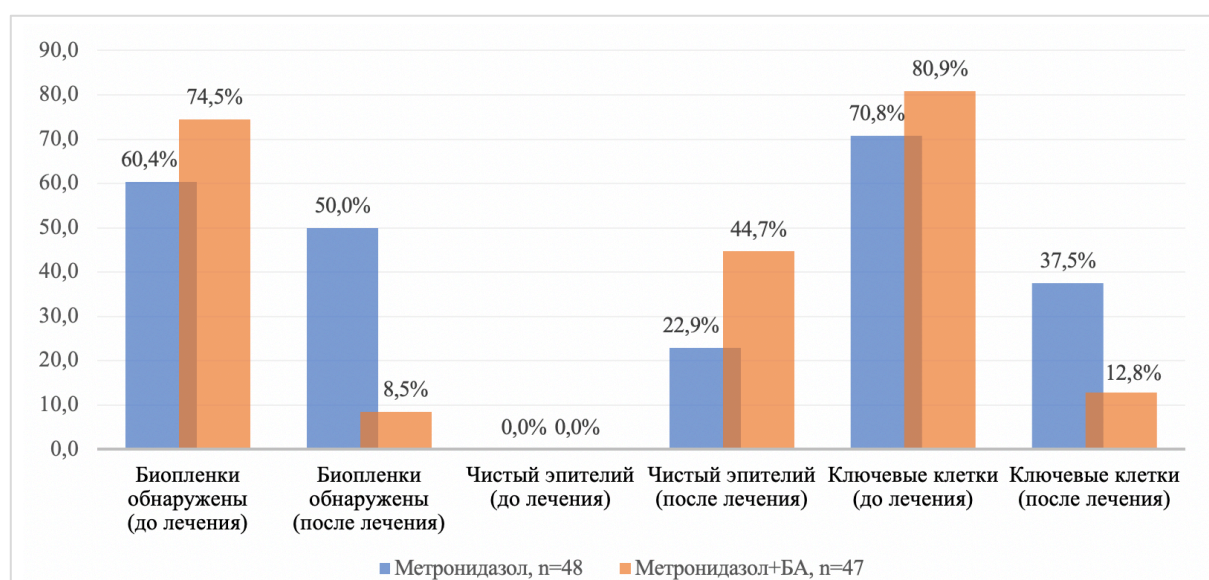


Рисунок 13 – Частота выявления биопленок, чистого эпителия и ключевых клеток по данным трансмиссионной электронной микроскопии до и после лечения

3.7. Анализ микробного состава влагалища при верифицированных и отсутствующих биопленках генитального тракта

После верификации методом ТЭМ биопленок на слизистой генитального тракта оценивался микробный состав влагалища у женщин с биопленочным (N=64) и небипленочным (N=31) бактериальным вагинозом с помощью теста Фемофлор®16 [42]. Данные представлены в Таблице 15 в виде медианы (Me), верхнего 25% и нижнего 75% квартилей (Q1; Q3).

Таблица 15 – Сравнительная оценка показателей теста Фемофлор®16 у пациенток с биопленочным и небактериальным вагинозом до и после лечения

Показатели теста Фемофлор®16	До лечения			После лечения		
	Медиана (25%; 75%)		p	Медиана (25%; 75%)		p
	Биопленки обнаружены (64)	Биопленки не обнаружены (31)		Биопленки обнаружены (29)	Биопленки не обнаружены (66)	
КВМ	5,4 (4,6; 5,7)	5,1 (4,7; 5,7)	0,682	5,3 (4,2; 5,8)	4,9 (4,3; 5,4)	0,402
ОБМ	7,1 (6,4; 7,5)	7,2 (5,9; 7,7)	0,827	6,5 (6,2; 7,5)	6,4 (5,5; 7,1)	0,242
Lactobacillus spp.	6,8 (0,2; 27,6)	38,1 (1,3;93,7)	0,007*	13,6 (0,1; 77,1)	99,7 (93,0;100,0)	0,000*
Сем. Enterobacteriaceae	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
Streptococcus spp.	0,0 (0,0; 0,1)	0,0 (0,0; 0,0)	0,070	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,949
Staphylococcus 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)	0,0 (0,0; 0,1)	0,0 (0,0; 0,0)	0,496	0,0 (0,0; 0,5)	0,0 (0,0; 0,2)	0,916
Gardnerella vaginalis + Prevotella bivia + Porphyromonas spp.	29,4(8,3; 55,5)	6,4 (1,2; 35,3)	0,049*	29,4(0,6; 53,3)	0,0 (0,0; 0,2)	0,000*
Eubacterium spp.	15,0(3,2; 28,1)	11,9 (1,0;30,0)	0,808	7,1 (0,2; 29,2)	0,0 (0,0; 0,4)	0,000*
Sneathia spp. + Leptotrichia spp. + Fusobacterium 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
Megasphaera spp. + Veillonella spp. + Dialister spp.	0,4 (0,0; 4,0)	0,0 (0,0; 1,9)	0,112	0,1 (0,0; 4,3)	0,0 (0,0; 0,0)	0,000*
Lachnobacterium spp. + Clostridium spp.	0,0 (0,0; 0,2)	0,0 (0,0; 0,1)	0,352	0,0 (0,0; 0,3)	0,0 (0,0; 0,0)	0,003*
Mobiluncus spp. + Corinebacterium spp.	0,0 (0,0; 0,3)	0,0 (0,0; 0,0)	0,138	0,0 (0,0; 0,5)	0,0 (0,0; 0,0)	0,023*
Peptostreptococcus spp.	0,0 (0,0; 0,4)	0,0 (0,0; 0,3)	0,327	0,0 (0,0; 0,2)	0,0 (0,0; 0,0)	0,024*
Atopobium vaginae	1,0 (0,0; 31,2)	0,0 (0,0; 17,9)	0,108	0,0 (0,0; 15,1)	0,0 (0,0; 0,0)	0,001*
Анаэробы (ОА)	92,6 (71,8;99,8)	61,9 (5,9;98,7)	0,011*	84,1 (13,1;99,9)	0,1 (0,0; 2,0)	0,000*
Candida spp.	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,475	0,0 (0,0; 1,6)	0,0 (0,0; 0,0)	0,654
Mycoplasma hominis	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
Ureaplasma spp.	0,0 (0,0; 4,3)	0,0 (0,0; 4,3)	0,679	0,0 (0,0; 3,8)	0,0 (0,0; 3,4)	0,293

Примечание: *- межгрупповые различия показателей статистически значимы при $p \leq 0,05$;

На диагностическом этапе обращает на себя внимание достоверно более высокие суммарные концентрации облигатных анаэробов ($Me=92,6$ ($Q1=71,8$; $Q3=99,8$), $p=0,011$) и более низкие концентрации бактерий рода *Lactobacillus* ($Me=6,8$ ($Q1=0,2$; $Q3=27,6$), $p=0,007$) у женщин с верифицированными биопленками по сравнению с группой пациенток, у которых они не были обнаружены ($Me=61,9$ ($Q1=5,9$; $Q3=98,7$) и $Me=38,1$ ($Q1=1,3$; $Q3=93,7$) соответственно) [42]. У женщин с биопленочным бактериальным вагинозом чаще выявлялись *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. ($p=0,049$). Медианное значение данного показателя теста Фемофлор®16 составляло 29,4 ($Q1=8,3$; $Q3=55,5$) в группе пациенток с биопленками и 6,4 ($Q1=1,2$; $Q3=35,3$) – без них [42].

После завершения терапии рецидивирующего бактериального вагиноза вне зависимости от схемы лечения был проведен повторный сравнительный анализ относительных (%) значений микробного состава влагалища между женщинами, у которых биопленки по данным ТЭМ сохранились после лечения («были-есть», $N=29$) и теми участницами, у которых биопленки после лечения отсутствовали ($N=66$) [42]. Среди пациенток с не верифицированными методом ТЭМ биопленками ($N=66$) было 35 участниц с разрушенными в ходе терапии биопленками («были-нет») и 31 – с отсутствующими как до, так и после лечения биопленками («не было-нет») [42]. У женщин с разрушенными медикаментозно биопленками по сравнению с пациентками, у которых биопленки не идентифицировались ни до, ни после терапии не зафиксировано значимых статистических различий ни по уровню *Lactobacillus* spp. ($Me=99,7$ (87,7; 100,0) и $Me=99,7$ (94,1; 100,0) соответственно, $p=0,974$), ни по суммарному количеству облигатных анаэробов ($Me=0,1$ (0,0; 2,7) и $Me=0,1$ (0,0; 1,2) соответственно, $p=0,765$) [42]. Данные представлены на Рисунке 14 и Рисунке 15. Медианные значения всех представителей облигатно-анаэробных бактерий и разнообразие условно-патогенных микроорганизмов у женщин с разрушенными в ходе лечения и с отсутствующими как до, так и после терапии биопленками не показали статистически значимых различий ($p>0,05$) [42]. Идентичные молекулярно-

генетические профили пациенток с разрушенными («были-нет», N=35) и отсутствующими («не было-нет», N=31) биопленками позволили объединить данных женщин в одну группу (N=66) и сопоставить данные ПЦР в режиме реального времени у этих участниц исследования (N=66) с результатами молекулярно-генетического теста женщин с выявленными после терапии биопленками (N=29) [42]. Данные представлены на Рисунке 1. Схема терапии при данном анализе не учитывалась, так как несмотря на эффективность ферментативного гидролиза в отношении эрадикации матрикса биопленок в подавляющем числе случаев, у 8,5% участниц, получающих комбинированную терапию, биопленки сохранялись после лечения, так же как у 52,1% пациенток, получающих монотерапию метронидазолом [42].

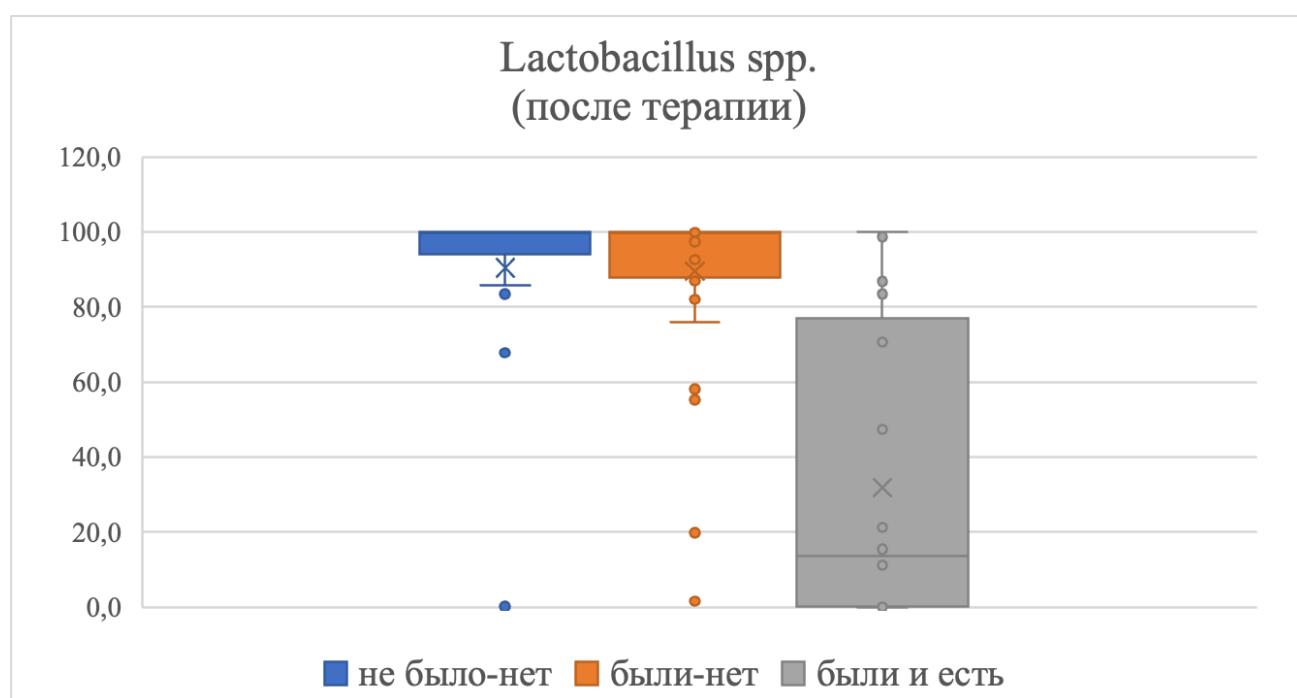


Рисунок 14 – Доля (%) *Lactobacillus* spp. у пациенток с отсутствующими (не было – нет), разрушенными (были – нет) и сохраняющимися (были и есть) биопленками (после терапии)

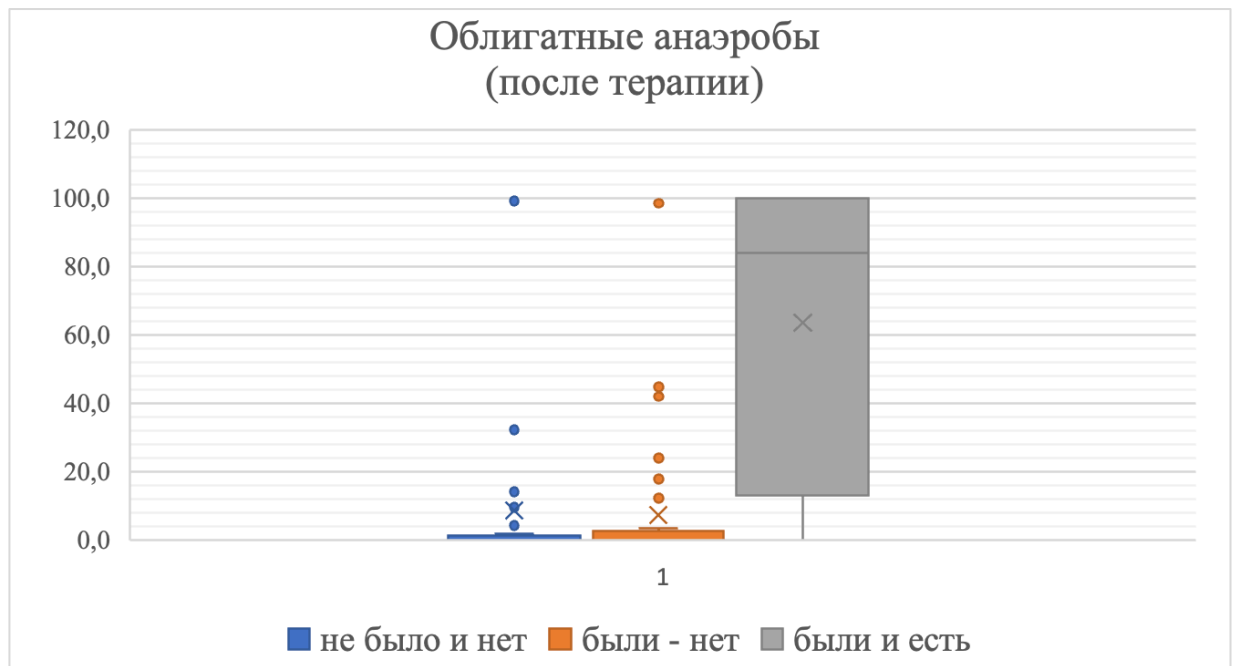


Рисунок 15 – Доля (%) облигатных анаэробов у пациенток с отсутствующими (не было – нет), разрушенными (были – нет) и сохраняющимися (были и есть) биопленками (после терапии)

После лечения у женщин с сохраняющимися биопленками медианное значение *Lactobacillus spp.* было равным 13,6 (Q1=0,1; Q3=77,1), в то время как у пациенток без биопленок оно составляло 99,7 (Q1=93,0; Q3=100,0), различия между группами достоверны ($p=0,000$) [42]. У женщин с персистирующими после терапии биопленками отмечены более высокие концентрации всех представителей ОА по сравнению с небиопленочными формами ($p \leq 0,05$) за исключением группы бактерий *Sneathia spp.* + *Leptotrichia spp.* + *Fusobacterium spp.*, по которым не выявлено статистически значимых различий ($p > 0,05$) [42]. Концентрации ФА (сем. *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus spp.* и *Streptococcus spp.*), были минимальны как до, так и после лечения у всех включенных в исследование женщин вне зависимости от присутствия или отсутствия биопленки – значимых межгрупповых различий до/после лечения по данным показателям не было ($p > 0,05$) [42].

Роль биопленки в защите микроорганизмов от воздействия антимикробных препаратов была подтверждена качественным сравнительным анализом разнообразия условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) до и после лечения бактериального вагиноза [42]. Методом ПЦР-РВ возможно определить 13

таксономических групп УПМ: сем. Enterobacteriaceae, Streptococcus spp., Staphylococcus spp., Gardnerella vaginalis+Prevotella bivia+Porphyromonas spp., Eubacterium spp., Sneathia spp.+Leptotrichia spp.+Fusobacterium spp., Megasphaera spp.+Veillonella spp.+Dialister spp., Lachnobacterium spp.+Clostridium spp., Mobiluncus spp.+Corynebacterium spp., Peptostreptococcus spp., Atopobium vaginae, Mycoplasma hominis, Ureaplasma (urealyticum + parvum). До лечения у обследованных пациенток (N=95) выявлялось от 1 до 13 представителей УПМ (Me=7; (Q1=4; Q3=9)) во влагалище, что говорит о полимикробной природе бактериального вагиноза [42]. Данные представлены в Таблице 16. Наиболее распространенными облигатно-анаэробными микроорганизмами во влагалище женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом, 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 среди женщин как с небио пленочным, так и с био пленочным бактериальным вагинозом примерно в равной степени: 94% и 98% соответственно для Gardnerella vaginalis + Prevotella bivia + Porphyromonas spp., 88% и 94% соответственно для Eubacterium spp. [42]. Другие облигатные анаэробы идентифицировались реже, но более чем в половине всех случаев (55-72%). Fannyhessea vaginae (ранее Atopobium vaginae) определялась у 47% женщин (N=44): у 31% женщин с небио пленочным БВ и у 53% – с био пленочным БВ [42]. Наименьшая частота встречаемости была характерна для такой ассоциации как Sneathia spp. + Leptotrichia spp. + Fusobacterium spp. (35%, N=33) [42]. Стоит отметить, что хотя исходная частота обнаружения всех условно-патогенных микроорганизмов у женщин с верифицированными био пленками была выше, чем у женщин без био пленок, статистически значимых различий между данными пациентками по разнообразию УПМ (на основе качественного анализа) на диагностическом этапе не было выявлено (p=0,513) [42].

Таблица 16 – Разнообразие условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) до и после лечения

Показатель	До лечения	После лечения		
	Разнообразие УПМ	Разнообразие УПМ	Разнообразие УПМ биопленки обнаружены	Разнообразие УПМ биопленки не обнаружены
N	95	95	29	66
Медиана	7	3	6	2
Минимум	1	0	0	0
Максимум	13	13	13	12
25-й процентиль	4	1	3	1
50-й процентиль	7	3	6	2
75-й процентиль	9	6	8	4
р-критерий	0,000* (1)		0,007* (2)	
Примечание: *- различия показателей статистически значимы ($p \leq 0,05$) 1 – парный критерий Вилкоксона 2 – Хи-квадрат Пирсона				

После лечения условно-патогенные микроорганизмы могли полностью отсутствовать или же сохраняться в полном составе, медианное значение составило 3 ($Q1=1$; $Q3=6$), то есть наблюдается широкая вариабельность частоты выявления условно-патогенных микроорганизмов во влагалище у женщин после терапии, что может быть объяснено присутствием биопленки [42]. У женщин с персистирующими после терапии биопленками разнообразие условно-патогенных микроорганизмов ($Me=6$; $Q1=3$; $Q3=8$) было достоверно выше по сравнению с группой пациенток, у которых биопленки отсутствовали или были разрушены в ходе лечения ($Me=2$; $Q1=1$; $Q3=4$; $p=0,007$) [42]. Таким образом, биопленка способствует устойчивости микроорганизмов к лечению, а ее разрушение приводит к эрадикации этиологических агентов и уменьшает разнообразие УПМ во влагалище [42]. Данные представлены в Таблице 16.

3.8. Эффективность терапии и отдаленные результаты

На основании сравнительной оценки жалоб пациенток, объективных клинических проявлений бактериального вагиноза и данных лабораторных методов исследования, описанных в соответствующих разделах, произведено сравнение эффективности схем лечения между представительницами контрольной и экспериментальной групп. Терапия бактериального вагиноза считалась неэффективной при сохранении жалоб пациентки, и/или оценке по критериям Amsel в 3-4 балла, и/или анаэробном дисбиозе умеренной или выраженной степени по данным ПЦР-РВ отделяемого из влагалища [49]. В ситуации, когда у пациентки отсутствовала полная нормализация вагинального микробиома по данным теста Фемофлор®16 (абсолютный нормоценоз), однако наблюдалась тенденция к росту лактобактерий (переход из выраженного анаэробного дисбиоза в умеренный дисбиоз) и не наблюдалось субъективной и объективной симптоматики терапия расценивалась успешной. У пациенток, получающих семидневную монотерапию пероральным метронидазолом, лечение оказалось неэффективным в 47,9% случаев (N=23), в то время как в группе женщин, принимающих антимикробную терапию в сочетании с бовгиалуронидазы азоксимером, терапия была неуспешной только в 12,8% случаев (N=6). Данные представлены на Рисунке 16. Различия между группами статистически значимы ($p < 0,001$).

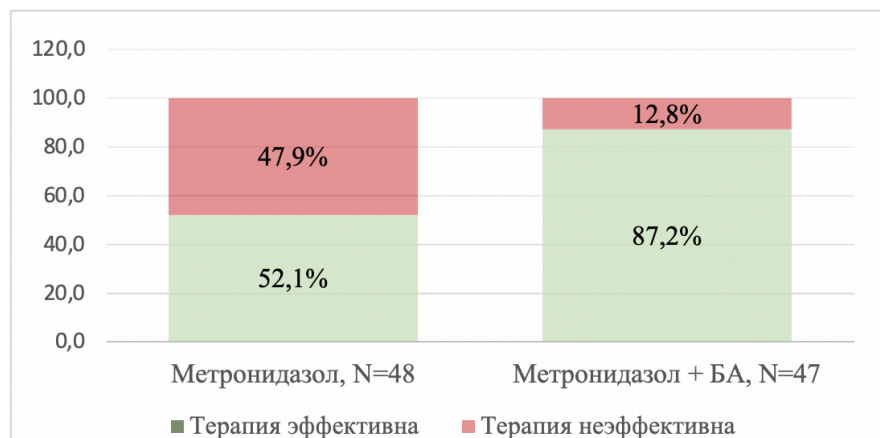


Рисунок 16 – Сравнительная оценка результатов терапии у пациенток контрольной (метронидазол) и экспериментальной (метронидазол+БА) групп исследования

Для оценки связи между наличием биопленки до начала лечения и последующей неэффективностью терапии бактериального вагиноза был проведен анализ связи между категориальными переменными с использованием χ^2 -критерия Пирсона и расчетом симметричных мер ассоциации (Таблица 17). Присутствие биопленки на слизистой влагалища у женщин репродуктивного возраста с рецидивирующим бактериальным вагинозом до лечения достоверно ассоциировано с неэффективностью терапии ($\chi^2=6,739$; $p=0,009$). Хотя сила этой связи по критерию V Крамера (0,266) и коэффициенту фи (0,266) оценивается как слабая, полученное значение асимптотической двусторонней значимости ($p=0,009$) указывает на достоверную статистическую значимость результата. Таким образом, сочетанное применение метронидазола и бовгиалуронидазы азоксимера, который обеспечивает ферментативный гидролиз полисахаридного матрикса биопленки, повышает биодоступность антимикробного препарата и улучшает результаты терапии.

Таблица 17 – Результаты анализа связи между наличием биопленки (до лечения) и неэффективностью терапии (N=95)

Показатель	Значение	р-критерий
χ^2 Пирсона	6,739	0.009*
Симметричные меры ассоциации		
Коэффициент фи	0,266	0.009*
Критерий V Крамера	0,266	0.009*
Коэффициент сопряженности	0,257	0.009*
Примечание: *- различия показателей статистически значимы ($p \leq 0,05$)		

Под наблюдением через 3 месяца после окончания терапии осталось 23 женщины контрольной группы и 37 – экспериментальной, через 6 месяцев – 22 и 35 пациенток соответственно. Через 6 месяцев после контрольного обследования на третьем визите рецидивы бактериального вагиноза были зафиксированы у 13 из 57 оставшихся под наблюдением пациенток (22,8%), среди которых 9 из 22 женщин – в контрольной группе (40,9%) и 4 из 35 (11,4%) – в экспериментальной (Таблица 18, Рисунок 17). Различия между группами статистически значимы ($p=0,021$).

Таблица 18 – Доля рецидивирующих пациенток

Параметр	Группа	N (%)	p-критерий
Наличие рецидива в течение 3 месяцев после лечения	Контрольная группа, N=23	5 (21,7%)	0,027*
	Экспериментальная группа, N=37	1 (2,7%)	
Наличие рецидива в течение 6 месяцев после лечения	Контрольная группа, N=22	9 (40,9%)	0,021*
	Экспериментальная группа, N=35	4 (11,4%)	

Примечание: данные представлены в виде абсолютного числа и доли (%) пациенток. * – межгрупповые различия показателей статистически значимы ($p \leq 0,05$), точный критерий Фишера

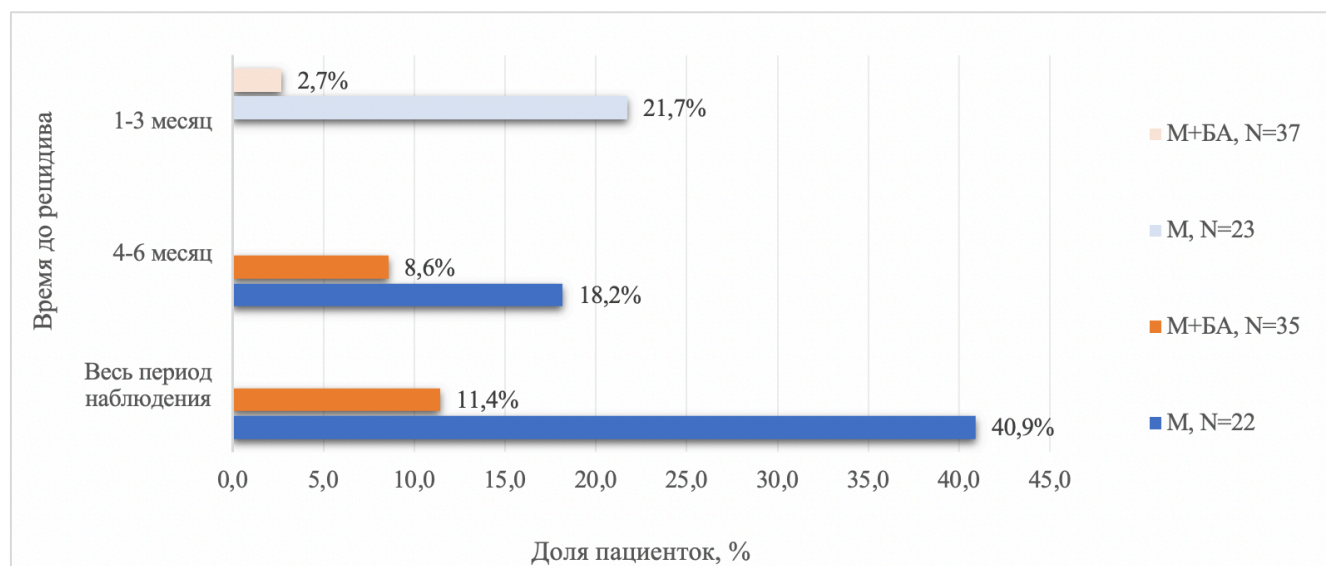


Рисунок 17 – Доля пациенток контрольной (М) и экспериментальной (М+БА) групп с зафиксированными рецидивами бактериального вагиноза в течение 3-х и 6 месяцев наблюдения

У 5-ти из 9-ти женщин контрольной группы рецидивы наступили в течение первых трех месяцев после окончания основного курса терапии, у 4-х – через 3-6 месяцев. У 3-х их 4-х участниц группы комбинированного лечения эпизод бактериального вагиноза зафиксирован после 3-го месяца наблюдения. Сравнение участниц контрольной и экспериментальной групп исследования по длительности безрецидивного периода показало статистически значимые различия ($p=0,01$). Данные представлены в Таблице 19 и на Рисунке 18. Таким образом,

комбинированная терапия с применением метронидазола и бовгиалуронидазы азоксимера не только улучшает показатели излечения и снижает частоту рецидивов, но и увеличивает срок наступления очередного эпизода бактериального вагиноза (HR=0,23; 95%ДИ=0,07-0,76, p=0,01).

Таблица 19 – Результаты анализа длительности безрецидивного периода

Группа	Отношение рисков [95% ДИ] ¹	p-критерий ²
Контрольная группа, N=22	0.23 [0.07 – 0.76]	0,0087*
Экспериментальная группа, N=35		

Примечание: * – межгрупповые различия показателей статистически значимы (p≤0,05).
1 - модель Кокса. 2 – Лог-ранк тест, тест отношения правдоподобия.

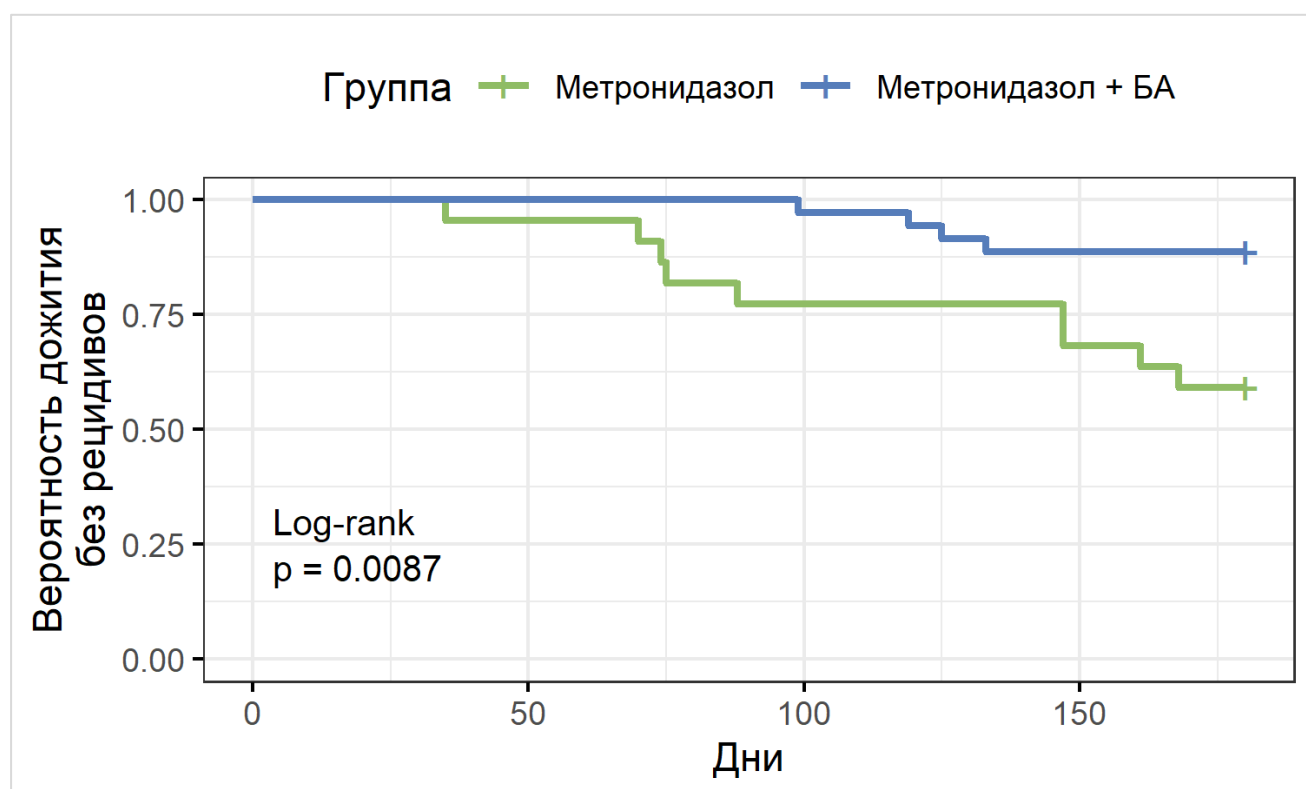


Рисунок 18 – Кривые Каплана-Мейера для длительности безрецидивного периода. p – уровень значимости при сравнении групп лог-ранк тестом.

Для оценки связи между наличием биопленки после лечения и наступлением рецидива бактериального вагиноза в течение 6 месяцев наблюдения был проведен анализ с использованием χ^2 -критерия Пирсона и расчетом симметричных мер ассоциации (Таблица 20). Зависимость между данными параметрами статистически значимо ($\chi^2=10,183$; p=0,001), сила связи по критерию V Крамера

(0,423) и коэффициенту фи (0,423) оценивается как умеренная. Таким образом, сохранение биопленки после лечения ассоциировано с повышенным риском развития рецидива бактериального вагиноза в течение полугода, что подчеркивает важность выявления и контроля биопленочной формы синдрома.

Таблица 20 – Результаты анализа связи между наличием биопленки (после лечения) и рецидивом БВ в течение 6 месяцев наблюдения (N=57)

Показатель	Значение	р-критерий
χ^2 Пирсона	10,183	0,001*
Симметричные меры ассоциации		
Коэффициент фи	0,423	0,001*
Критерий V Крамера	0,423	0,001*
Коэффициент сопряженности	0,389	0,001*
Примечание: *- различия показателей статистически значимы ($p \leq 0,05$)		

3.9. Молекулярно-генетические особенности микробиоты биопленок у женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом

Принимая во внимание ограниченность применения метода ТЭМ в рутинной клинической практике, на основе данных, полученных с помощью теста Фемофлор®16, был проведен ROC-анализ для идентификации молекулярно-генетических маркеров биопленочного бактериального вагиноза у женщин репродуктивного возраста [42]. Использование для этой цели полимеразной цепной реакции в режиме реального времени обосновано ее наилучшей диагностической возможностью в аспекте верификации бактериального вагиноза по сравнению с микроскопическим и микробиологическим исследованиями отделяемого из влагалища в данном исследовании. Были построены ROC-кривые, отражающие соотношение чувствительности и специфичности различных микробиологических параметров теста Фемофлор®16 до и после лечения у пациенток с выявленными биопленками и без них, а также были рассчитаны площадь под кривой (AUC), 95% доверительный интервал (95% ДИ) и асимптотическое значение р (асимптотическая значимость) для выбранных параметров [42]. AUC

характеризует качество классификации модели, 95% ДИ задает диапазон значений искомого параметра, а асимптотическое значение p (p -критерий) показывает статистическую значимость отличия AUC от значения 0,5 (случайное угадывание). В анализ были включены такие микроорганизмы как *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp., *Eubacterium* spp., *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp., *Megasphaera* spp. + *Veillonella* spp. + *Dialister* spp., *Lachnobacterium* spp. + *Clostridium* spp., *Mobiluncus* spp. + *Corinebacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Atopobium vaginae* и суммарная доля облигатных анаэробов [42]. Для оценки использовались относительные (%) значения данных параметров [42].

На диагностическом этапе выявить маркеры биопленочной формы бактериального вагиноза оказалось затруднительно [42]. Данные представлены на Рисунке 19 и в Таблице 21. Большинство ROC-кривых близки к опорной линии (линия случайного угадывания), что указывает на низкую диагностическую информативность каждого проанализированного маркера на диагностическом этапе. Исходные данные не показали статистической значимости ($p > 0,05$), а значения площади под кривой (AUC) не превышала 0,589. Нивелирование различий между группами до лечения, вероятно, связано с одновременным присутствием во влагалище биопленочных и планктонных форм микроорганизмов, что позволил определить метод ТЭМ [42].

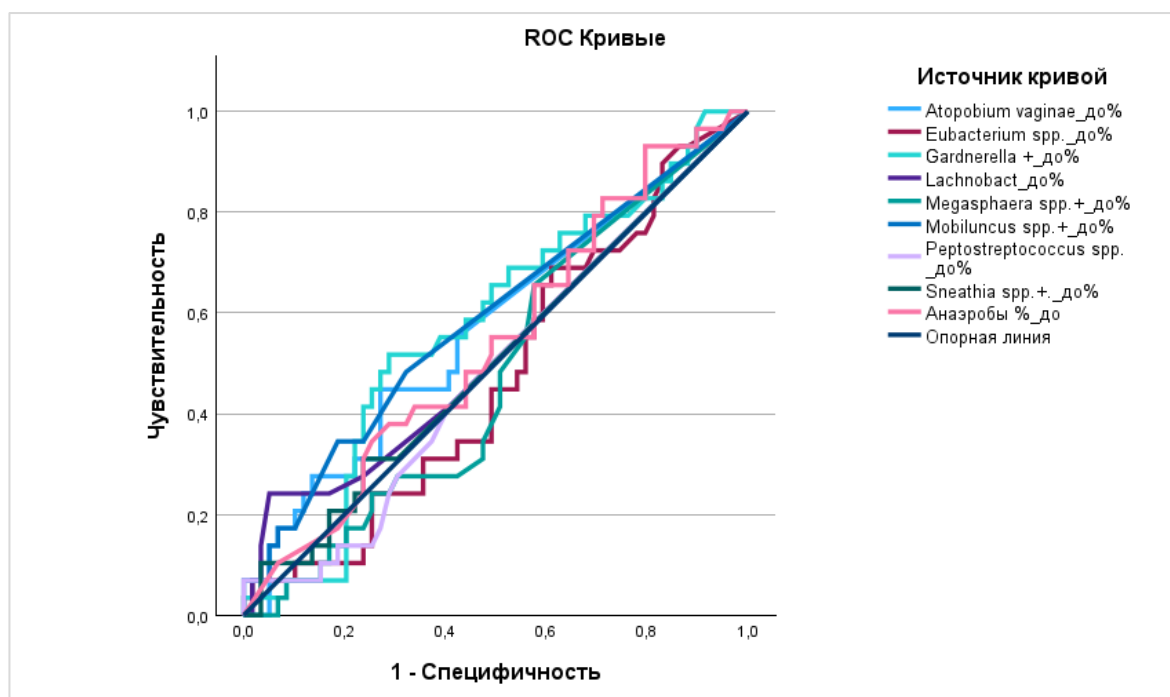


Рисунок 19 – ROC-кривые на основе данных теста Фемофлор®16 (до лечения)

Таблица 21 – Площадь под ROC-кривой (до лечения)

Переменные результата проверки (%)	Область	Среднеквадратичная ошибка ^(a)	p	95% ДИ	
				Нижняя граница	Верхняя граница
Gardnerella vaginalis + Prevotella bivia + Porphyromonas spp.	0,573	0,065	0,260	0,446	0,699
Eubacterium spp.	0,475	0,064	0,702	0,350	0,601
Sneathia spp. + Leptotrichia spp. + Fusobacterium spp.	0,506	0,066	0,926	0,376	0,636
Megasphaera spp. + Veillonella spp. + Dialister spp.	0,481	0,064	0,765	0,356	0,606
Lachnobacterium spp. + Clostridium spp.	0,528	0,068	0,678	0,394	0,662
Mobiluncus spp. + Corinebacterium spp.	0,589	0,066	0,180	0,459	0,719
Peptostreptococcus spp.	0,487	0,065	0,843	0,360	0,614
Atopobium vaginae	0,571	0,066	0,282	0,442	0,700
Анаэробы (ОА)	0,541	0,065	0,529	0,414	0,667

Примечание: (a) В соответствии с непараметрическим предположением.
*- различия показателей статистически значимы при $p \leq 0,05$

По результатам ROC-анализа, проведенного после завершения терапии бактериального вагиноза вне зависимости от схемы лечения выявлено несколько молекулярно-генетических маркеров с достоверной диагностической значимостью в отношении наличия остаточной биопленки, что, вероятно, стало возможным благодаря эрадикации метронидазолом планктонных форм бактерий, что продемонстрировал метод ТЭМ [42]. Данные продемонстрированы на Рисунке 20 и в Таблице 22. Наибольшую площадь под кривой (AUC) продемонстрировали бактерии *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. (AUC = 0,839; 95% ДИ: 0,743 – 0,935; p=0,000) и суммарный показатель облигатно-анаэробных микроорганизмов (AUC = 0,840; 95% ДИ: 0,742 – 0,939; p=0,000) [42]. Почти полное совпадение этих значений указывает на то, что именно *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. вносят основной вклад в состав анаэробного биопленочного комплекса [42]. Это позволяет рассматривать *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. как ведущий молекулярно-генетический маркер персистенции биопленок или неполной санации влагалища [42].

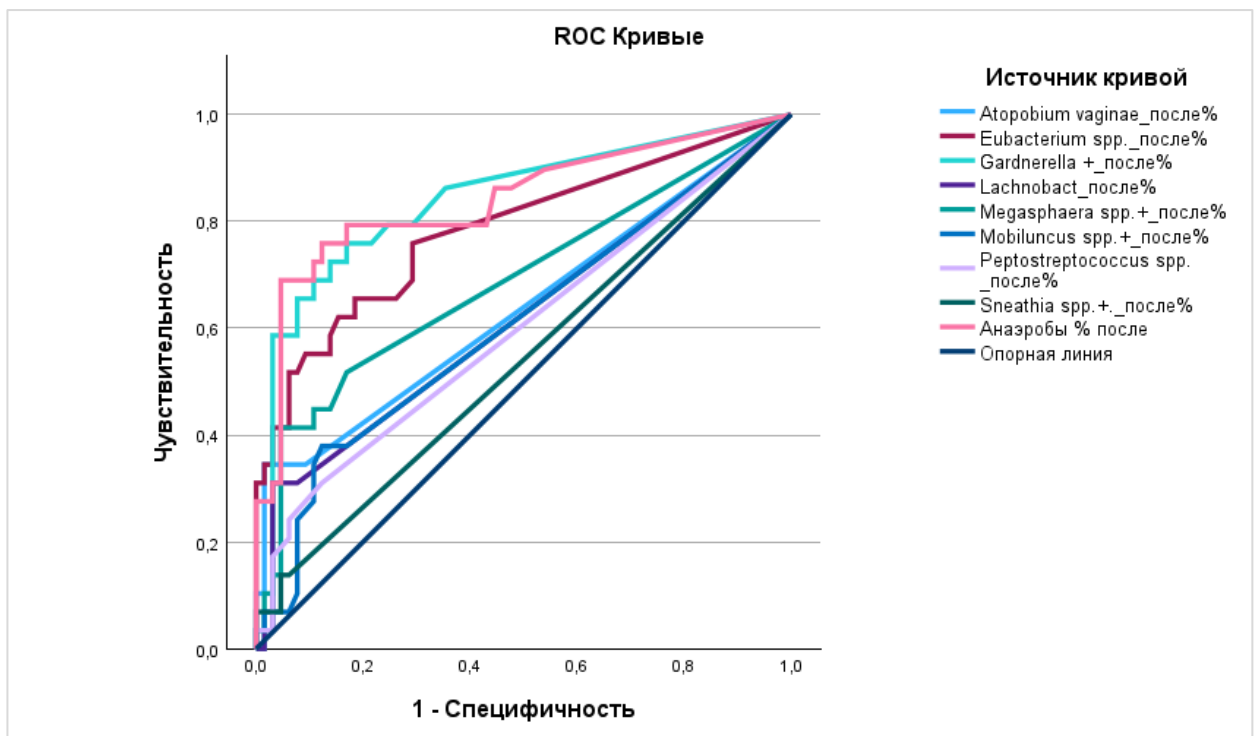


Рисунок 20 – ROC-кривые на основе показателей теста Фемофлор®16 (после лечения)

Таблица 22 – Площадь под ROC-кривой (после лечения)

Переменные результата проверки (%)	Область	Среднеквадратичная ошибка ^(а)	p	95% ДИ	
				Нижняя граница	Верхняя граница
Gardnerella vaginalis + Prevotella bivia + Porphyromonas spp.	0,839	0,049	0,000*	0,743	0,935
Eubacterium spp.	0,785	0,056	0,000*	0,676	0,895
Sneathia spp. + Leptotrichia spp. + Fusobacterium spp.	0,539	0,066	0,553	0,409	0,669
Megasphaera spp. + Veillonella spp. + Dialister spp.	0,689	0,064	0,003*	0,563	0,814
Lachnobacterium spp. + Clostridium spp.	0,620	0,067	0,073	0,489	0,751
Mobiluncus spp. + Corinebacterium spp.	0,609	0,066	0,099	0,480	0,738
Peptostreptococcus spp.	0,598	0,067	0,140	0,468	0,729
Atopobium vaginae	0,638	0,067	0,039*	0,507	0,770
Анаэробы (ОА)	0,840	0,050	0,000*	0,742	0,939

Примечание: (а) В соответствии с непараметрическим предположением.
*- различия показателей статистически значимы ($p \leq 0,05$)

Дополнительно, статистически значимыми по результатам ROC-анализа (асимптоматическая значимость $p \leq 0,05$) оказались такие представители условно-патогенной микрофлоры, как Eubacterium spp. (AUC=0,785; 95% ДИ: 0,676 – 0,895; $p=0,000$), Megasphaera spp. + Veillonella spp. + Dialister spp. (AUC=0,689; 95% ДИ: 0,563 – 0,814; $p=0,003$) и Atopobium vaginae (AUC= 0,638; 95% ДИ: 0,507 – 0,770; $p=0,039$) [42]. Это подтверждает, что биопленка при бактериальном вагинозе имеет полимикробную природу и в ее формировании участвует целый ряд облигатно-анаэробных микроорганизмов, вместе с тем среди них именно Gardnerella vaginalis + Prevotella bivia + Porphyromonas spp. представляют собой наиболее значимый структурный и количественный компонент, на долю которого приходится основной массив микробной массы внутри биопленок [42]. Таким образом, при оценке эффективности лечения и прогнозирования сохраняющихся после санации

биофленок у женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом особое значение приобретает количественное определение *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas spp.* с помощью ПЦР-РВ, тогда как остальные микроорганизмы выступают, по-видимому, как сопутствующие участники биофленочного сообщества [42].

Принимая во внимание то, что в ходе ROC-анализа наибольшую значимость среди всех облигатно-анаэробных микроорганизмов продемонстрировал микробный комплекс *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas spp.*, был проведен дополнительный анализ, сосредоточенный исключительно на данном параметре как на потенциально более чувствительном и специфичном маркере биофленочной формы бактериального вагиноза после проведенного лечения [42]. Данные представлены в Таблице 23 и на Рисунке 21. Полученные результаты продемонстрировали, что площадь под кривой (AUC) для *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas spp.* составила 0,841 (95% ДИ: 0,745 – 0,936; $p=0,000$), что оказалось выше, чем значение AUC, рассчитанное при использовании всей совокупности анаэробных микроорганизмов в качестве предикторов персистенции биофленочного бактериального вагиноза после лечения [42]. Это свидетельствует о том, что выделение наиболее значимых таксонов из общей группы анаэробных бактерий повышает точность модели и подчеркивает их ведущую роль в формировании и сохранении биофленки на слизистой влагалища [42].

Таблица 23 – Площадь под ROC-кривой для *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas spp.* (после лечения)

Переменные результата проверки (%)	Область	Среднеквадратичная ошибка ^(а)	р	95% ДИ	
				Нижняя граница	Верхняя граница
<i>Gardnerella vaginalis</i> + <i>Prevotella bivia</i> + <i>Porphyromonas spp.</i>	0,841	0,049	0,000*	0,745	0,936

Примечание: (а) В соответствии с непараметрическим предположением.
*- различия показателей статистически значимы ($p \leq 0,05$)

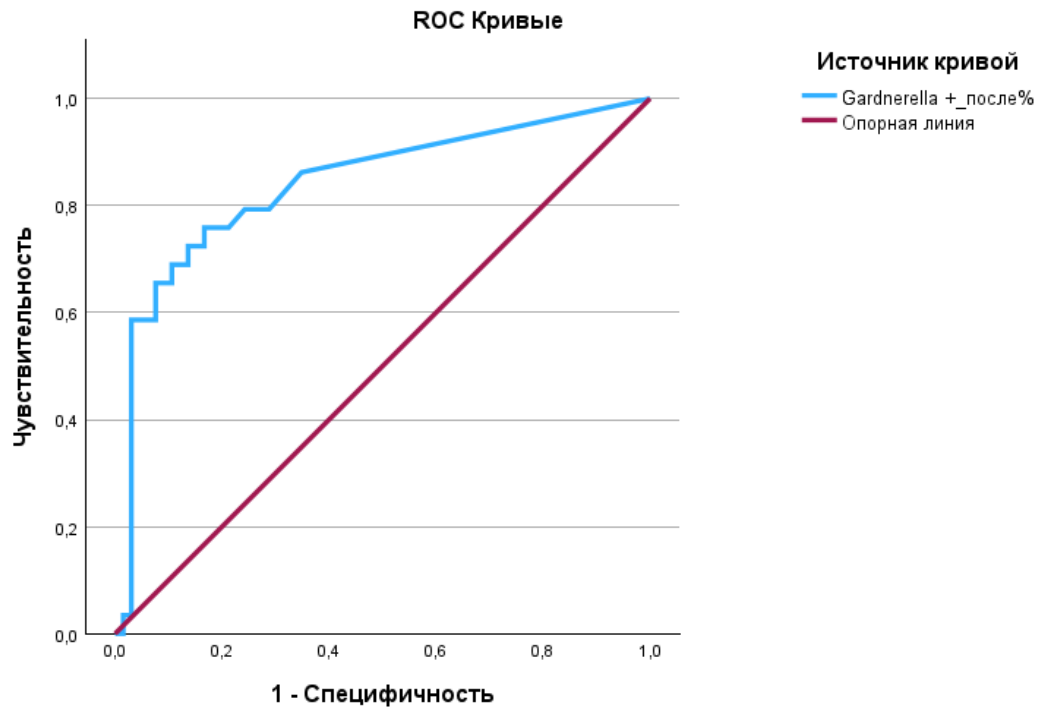


Рисунок 21 – ROC кривые *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. (после лечения)

Для подбора оптимального порогового значения *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. на основе ROC-анализа был рассчитан индекс Юдена. Оптимальный баланс между чувствительностью и специфичностью теста наблюдался при пороговом значении данного параметра 0,7%. Таким образом, сохранение *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. в концентрации даже менее 1% по результатам полимеразной цепной реакции в режиме реального времени может рассматриваться как интегральный микробиологический маркер сохранения биопленочной формы бактериального вагиноза после проведенного ранее лечения с чувствительностью 75,9% и специфичностью 83,3%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Бактериальный вагиноз продолжает оставаться значимой медико-социальной проблемой современной гинекологии и входит в десятку наиболее распространенных причин обращения к врачу [59]. Широкая распространенность и частые рецидивы бактериального вагиноза, формирование устойчивых микробных сообществ (биопленок) и снижение качества жизни пациенток при данном состоянии диктуют необходимость не только совершенствования методов его диагностики, но и переоценки терапевтических подходов [12]. В данном исследовании было проведено комплексное изучение проблемы рецидивирующего бактериального вагиноза с акцентом на его биопленочные формы, диагностические возможности различных лабораторных методов и изучение целесообразности применения ферментативного гидролиза совместно с антимикробной терапией.

С учетом высокой клинической и эпидемиологической значимости рецидивирующего бактериального вагиноза в рамках настоящей диссертационной работы внимание было уделено характеристике включенных в исследование женщин. Анализ анамнестических данных выявил высокую частоту сопутствующих состояний, в частности вульвовагинального кандидоза, который отметили более 2/3 обследованных женщин (69,5%). Вместе с тем о рецидивирующем течении вульвовагинального кандидоза сообщило более 1/3 пациенток (38,9%). Полученные результаты согласуются с данными других авторов. Так, М.М. Murshid с соавт. (2024) отмечает взаимосвязь между рецидивирующим бактериальным вагинозом и вульвовагинальным кандидозом [181], а J.D. Sobel с соавт. (2024) в своей работе предполагают, что основа этой связи заключается не столько в применении антимикробных и антибактериальных препаратов, сколько в самом дисбиотическом состоянии влагалища, что приводит к нейтрализации толерантности иммунной системы к дрожжеподобным клеткам [208]. Внимания также заслуживает обнаружение более чем у половины пациенток с рецидивирующим бактериальным вагинозом цистита в анамнезе (61,1%), причем почти 1/3 женщин (23,2%) сталкивается с 3 и более его эпизодами в течение 12

месяцев. Полученные результаты находят подтверждение в работе Е.В. Кульчавени с соавт. (2020), в которой сказано, что бактериальный вагиноз повышает риск развития цистита в 2,9 раза [38]. Несмотря на то, что некоторые виды бактерий влагалищного микробиома не рассматриваются в качестве уропатогенов, в литературе имеются данные о роли анаэробных микроорганизмов, в частности *Gardnerella vaginalis*, в генезе рецидивирующих инфекций мочевыводящих путей [84, 140].

В настоящее исследование были включены женщины с клиническими проявлениями бактериального вагиноза, что позволило сфокусироваться на симптоматических формах данного состояния. Среди наиболее частых жалоб отмечены выделения (82,1%) из влагалища и запах вагинального отделяемого (75,8%), что согласуется с данными литературы, рассматривающими указанные жалобы как наиболее специфичные для бактериального вагиноза [183]. Субъективные жалобы пациенток подтверждались результатами объективного осмотра обследованных женщин, у которых регистрировались выделения из влагалища (98,9%), повышение кислотности влагалища более 4,5 (100%) и положительный аминотест с 10% раствором КОН (100%). Согласно данным литературы, чувствительность диагностического метода Amsel составляет от 70% до 83%, а специфичность в пределах 90-94% [45]. В настоящем исследовании все обследованные пациентки имели бактериальный вагиноз на основании критериев Amsel. Это может быть объяснено тем, что в исследование включались пациентки с выраженной клинической картиной бактериального вагиноза. Похожие результаты получила группа авторов во главе с К.В. Шалепо (2014), которые отметили, что при клинически выраженном (симптоматическом) бактериальном вагинозе чувствительность и специфичность критериев Amsel составляет 97% и 100% соответственно [45]. Кроме того, исследователи подчеркнули, что использование каждого из критериев Amsel по отдельности оказывает влияние на показатель чувствительности и специфичности диагностического метода. Это связано с субъективностью восприятия аминного запаха и отсутствием стандартизации в его интерпретации и вариабельностью значения кислотности

(рН) влагалищного отделяемого. Таким образом, клинические критерии Amsel могут с высокой точностью позволить диагностировать бактериальный вагиноз при грамотном исполнении данного диагностического метода, снижая свою чувствительность в ситуации бессимптомного нарушения вагинального биоценоза.

Бактериальный вагиноз рассматривается как полимикробный синдром, характеризующийся замещением доминирующей в норме лактобактериальной флоры на условно-патогенные анаэробные микроорганизмы и их ассоциации [62]. Это положение согласуется с результатами настоящего исследования: у обследованных пациенток до начала терапии отмечалось широкое разнообразие представителей условно-патогенной микрофлоры. По данным ПЦР в режиме реального времени медианное количество выявленных бактерий во влагалище женщин репродуктивного возраста с бактериальным вагинозом составило 7 (Q1=4; Q3=9) из 13 видов на образец, что иллюстрирует полимикробную природу состояния. При этом наиболее часто выявляемыми представителями анаэробов, которые учитывались при значении $\geq 10^3$ ГЭ/мл, являлись ассоциация таких бактерий как *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp (96,8%), что соответствует данным имеющихся литературных источников [83, 100]. В настоящем исследовании метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием мультиплексной панели теста Фемофлор®16 продемонстрировал высокую диагностическую ценность и позволил подтвердить диагноз бактериального вагиноза у всех включенных в исследование женщин с характерными для бактериального вагиноза жалобами, а также оценить состояние микробного состава влагалища в динамике терапии. Метод ПЦР в режиме реального времени оказался эффективным как в отношении идентификации широкого спектра представителей облигатных анаэробов, так и для количественного анализа такого параметра теста как *Lactobacillus* spp., отражающего эффективность восстановления нормофлоры влагалища в процессе терапии. Аналогичные данные были получены в работе К.В. Шалепо с соавт. (2014) и К.Ю. Пестриковой с соавт. (2024), которые отмечают высокую диагностическую точность ПЦР в режиме реального времени в аспекте бактериального вагиноза [45,

47]. В то же время зарубежные коллеги, в частности L. Abou Chacra с соавт. (2022), несмотря на высокие чувствительность и специфичность мультиплексной количественной ПЦР в режиме реального времени отмечают высокую стоимость анализа, что ограничивает применение данного метода в рутинной практике [71]. Преимущества ПЦР в режиме реального времени объясняются ее высокой аналитической чувствительностью и отсутствием субъективного фактора за счет выполнения анализа в амплификаторе в автономном режиме [201]. Это отличает данный метод от метода световой микроскопии, интерпретация которого зависит от человеческого фактора и квалификации специалиста [201]. Для подтверждения диагноза «бактериальный вагиноз» с помощью микроскопического исследования необходимо определение ключевых клеток и/или коккобациллярной флоры в образце отделяемого из влагалища. В настоящем исследовании микроскопическое исследование окрашенных по Граму образцов биоматериала позволило верифицировать ключевые клетки только у трети пациенток (32,6%) и коккобациллярную флору менее чем у половины женщин с бактериальным вагинозом (43,16%). Ключевые клетки признаются важным морфологическим маркером бактериального вагиноза [104]. Низкая частота выявления ключевых клеток методом световой микроскопии позволяет говорить о недооценке этого параметра при использовании традиционных методов. Указанное согласуется с мнением ряда авторов. Так, например, В.Е. Sha с соавт. (2005) показали, что чувствительность световой микроскопии в аспекте выявления ключевых клеток составляет 33% по сравнению с критериями Nugent, несмотря на его высокую специфичность, приближающуюся к 100% [229]. Схожие результаты получила группа авторов во главе с R. Bhujel (2021), которые сравнили чувствительность и специфичность каждого из критериев Amsel по сравнению с оценкой по Nugent [107]. Выявление ключевых клеток имело чувствительность и специфичность равные 46,4% и 100% соответственно. Недооценка ключевых клеток может быть связана с человеческим фактором, поскольку описание препарата зависит от субъективного восприятия исследователя [126, 201]. В своей работе I. Hilmarsdóttir с соавт. (2006) показали, что наблюдатели, которые принимали за ключевую клетку

частично покрытые бактериями эпителиоциты, имели лучшее согласие с методом Nugent, чем те, кто подсчитывал только полностью покрытые микроорганизмами эпителиальные клетки [125]. Коккобациллярная флора является характерным маркером бактериального вагиноза, в то же время по мнению А.Л. Тихомирова с соавт. (2020) смешанная микрофлора в некоторых случаях (при преобладании анаэробных микроорганизмов) также может свидетельствовать о дисбиотическом состоянии влагалища, требующем медикаментозной терапии [59]. В настоящем исследовании смешанная микрофлора по результатам световой микроскопии верифицирована у 32,63% обследованных пациенток, причем метод ПЦР в режиме реального времени позволил определить доминирование анаэробных микроорганизмов у этой когорты женщин. Таким образом, обнаружение в лабораторном заключении микроскопического исследования отделяемого из влагалища коккобациллярной флоры подтверждает диагноз бактериальный вагиноз, а смешанная микрофлора не исключает его наличия. В отличие от культурального метода исследования ПЦР в режиме реального времени позволяет обнаружить даже незначительные концентрации условных патогенов, в том числе труднокультивируемых, в образце биоматериала и минимизирует риск упущения диагноза бактериальный вагиноз [9, 191, 201]. Это согласуется с полученными в настоящем исследовании результатами, согласно которым *Gardnerella* spp. была обнаружена методом микробиологического исследования только в 41,1% случаев, в то время как по данным ПЦР-РВ комплекс *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. присутствовала у 92 из 95 обследованных женщин (96,8%). По мнению З.А. Муртазиной с соавт. (2017) бактериальный вагиноз характеризуется определенной этапностью развития и традиционные лабораторные методы, в частности микроскопическое и микробиологическое исследования могут не всегда фиксировать ранние стадии нарушения микробиома влагалища, или «ощелачивание» влагалища, что является ключевым моментом развития бактериального вагиноза [8]. Кроме того, в работе тех же авторов подмечено, что отсутствие роста бактерий на питательной среде не исключает диагноз бактериального вагиноза [8]. Полученные результаты теста Фемофлор®16

соответствуют классическому определению бактериального вагиноза [62]. У пациенток контрольной и экспериментальной групп отмечено снижение относительной доли *Lactobacillus* spp. ($Me=0,3$ ($Q1=10,1$; $Q3=79,2$) и $Me=7,6$ ($Q1=0,2$; $Q3=28,0$) соответственно, $p=0,289$) и увеличение концентраций облигатных анаэробов ($Me=19,6$ ($Q1=88,1$; $Q3=99,6$) и $Me=92,4$ ($Q1=71,8$; $Q3=99,8$) соответственно, $p=0,167$). Наибольшие значения наблюдались у ассоциации таких бактерий как *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp., *Fannyhessea vaginae* (ранее *Atopobium vaginae*), а также микроорганизмов рода *Eubacterium*. Это согласуется с данными других авторов, которые указывают, что *Gardnerella vaginalis* и *Fannyhessea vaginae* являются наиболее характерными микроорганизмами, выявляемым во влагалище женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом [217]. Таким образом, наиболее точным и эффективным диагностическим методом в аспекте бактериального вагиноза следует считать ПЦР-РВ, который позволяет диагностировать бактериальный вагиноз во всех случаях (100%) его симптоматического течения. Единственным условием, оказывающим влияние на адекватность результата теста Фемофлор®16 является грамотный забор достаточного для анализа количества биоматериала из влагалища.

Одним из ключевых результатов настоящего исследования стало подтверждение с помощью трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) высокой распространенности биопленочной формы бактериального вагиноза, которая была обнаружена у 67,4% пациенток с его рецидивирующим течением в анамнезе. Полученные данные согласуются с мнением других авторов, указывающих на широкую представленность биопленок на слизистой влагалища у женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом [43, 57]. Для визуализации биопленок наиболее часто применяется сканирующая электронная микроскопия (СЭМ), обеспечивающая визуализацию их трехмерной структуры, а также оценку топографии и плотности на поверхности образца [21]. В то же время ТЭМ, несмотря на технически сложную пробоподготовку, считается эталонным методом для изучения структурной организации биопленки и анализа изменений ее матрикса на фоне проводимой терапии [21]. В настоящем исследовании ТЭМ

продемонстрировала высокую информативность в морфологической верификации биопленок. Известно о применении метода ТЭМ в гинекологии для изучения биопленок в условиях *in vitro* на моделях влагалищного эпителия. Так, например, это описывал в своей работе М.М. Ваум с соавт. (2022), отмечая высокую разрешающую способность данного метода в изучении микробного сообщества биопленки [92]. В данном исследовании ТЭМ была впервые использована на нативных клинических образцах, полученных от пациенток с рецидивирующим бактериальным вагинозом. Вместе с тем метод трансмиссионной электронной микроскопии позволил определить наличие ключевых клеток в 75,8% случаев, что более чем в два раза превосходит выявление данного диагностического маркера в образцах вагинального отделяемого с помощью световой микроскопии (32,6%). На расхождение частоты обнаружения ключевых клеток по данным световой микроскопии и ТЭМ может оказывать влияние техника и порядок забора биоматериала, так как взятие образца вагинального отделяемого для световой микроскопии проводилось после получения эпителиального соскоба для ПЦР-РВ и ТЭМ из идентичных локусов влагалища.

В контексте вышеизложенного особенно значимым представляется применение ферментативной терапии, направленной на разрушение биопленки. Известно, что применение бовгиалуронидазы азоксимера, обладающего способностью расщеплять полисахариды, включая гиалуроновую кислоту, приводит к деструкции матрикса биопленки, что было продемонстрировано в работе Е.Ю. Тризиной с соавт. (2020) в условиях *in vitro* [20]. Кроме того, группа авторов во главе с Е.Е. Брагиной (2023) в рамках клинического исследования доказали эффективность данного ферментативного средства в разрушении биопленок грамположительных и грамотрицательных бактерий в эякуляте пациентов с хроническим простатитом [21]. В настоящем исследовании показано, что применение бовгиалуронидазы азоксимера совместно с антимикробной терапией при бактериальном вагинозе позволило разрушить биопленки в 88,6% случаев среди женщин экспериментальной группы, в то время как при монотерапии метронидазолом данный результат достигнут только у 13,8% женщин, а у 86,2%

пациенток контрольной группы они сохранялись после окончания курса лечения. Полученные данные находят подтверждение в исследованиях других авторов [18, 68, 76]. А. Свидзински с соавт. (2008) в своей работе показали, что метронидазол может временно подавлять бактериальную биопленку, вместе с тем ее целостность при последующем наблюдении восстанавливалась, сохраняя таким образом большой резервуар ассоциированных с бактериальным вагинозом бактерий [76]. Важно отметить, что в группе комбинированной терапии у ряда пациенток (8,5%) биопленки также сохранялись после лечения, что может быть связано как с индивидуальными особенностями микробиома, так и с недостаточной длительностью воздействия ферментативного компонента. Это также было отмечено в работе Е.Ю. Тризиной с соавт. (2020), где авторы наблюдали двукратное снижение биомассы матрикса биопленок, сформированных *Enterococcus faecalis* и *Escherichia coli* и уменьшение объема матрикса биопленок *S. aureus* на 60% после воздействия на биопленки препаратом с действующим веществом бовгиалуронидазы азоксимером [20]. В клиническом исследовании Е.Е. Брагиной с соавт. (2023) были получены оптимистичные результаты в отношении эффективности бовгиалуронидазы азоксимера на разрушение биопленок в эякуляте пациентов с хроническим простатитом, тем не менее у 3 из 24 пациентов (12,5%) бактериальные колонии (биопленки) после комбинированного лечения антибактериальным препаратом в сочетании с бовгиалуронидазы азоксимером сохранялись [21]. Полученные данные позволяют предположить, что в ряде случаев для достижения желаемого результата может потребоваться повторный или пролонгированный курс терапии с применением ферментативных препаратов. Согласно литературным данным разрушение матрикса биопленки обеспечивает лучшие результаты излечения за счет повышения биодоступности антибактериального препарата к микроорганизмам в составе биопленки [20, 68], что нашло отражение в полученных в настоящем исследовании результатах. Эффективность комбинированной терапии рецидивирующего бактериального вагиноза составила 87,2% против 52,1% женщин, получающих только метронидазол. Эффективность терапии проявлялась в снижении объективной и

субъективной симптоматики и нормализацией показателей лабораторных методов исследования в динамике. Так, например, наиболее характерные жалобы на выделения и запах из влагалища сохранялись только у 8,5% и 6,4% женщин экспериментальной группы соответственно, при этом в контрольной группе о данных клинических проявлениях сообщило 29,2% и 25% пациенток соответственно. Таким образом, участницы экспериментальной группы, получающие комбинированную терапию (метронидазол и бовгиалуронидазы азоксимер), обращали внимание на сохранение жалоб на выделения из влагалища и запах вагинального отделяемого соответственно в 3,4 и 3,9 раз реже по сравнению с женщинами контрольной группы. Пациентки экспериментальной группы после лечения имели диагноз бактериального вагиноза по критериям Amsel в 12,8% случаев, в то время как в контрольной группе данный показатель был в 3,4 раза выше и составлял 43,75%. После проведенного курса терапии вне зависимости от схемы терапии результаты теста Фемофлор®16 зафиксировали нормализацию микробного состава влагалища как среди пациенток контрольной группы, так и среди пациенток экспериментальной группы. Однако, несмотря на значимые внутригрупповые различия, по данным ПЦР-РВ у женщин экспериментальной группы по сравнению с контрольной после курса терапии отмечено достоверно более значимый прирост лактобактерий ($Me=99,7$; $Q1=87,7$; $Q3=100$ и $Me=4,5$; $Q1=86,3$; $Q3=99,9$ соответственно, $p=0,004$) и снижение концентраций облигатных анаэробов ($Me=0,1$; $Q1=0,0$; $Q3=2,7$ и $Me=6,9$; $Q1=0,0$; $Q3=88,4$ соответственно, $p=0,007$). Комбинированная терапия по сравнению с монотерапией метронидазолом способствовала лучшей эрадикации таких анаэробных микроорганизмов как *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp., *Eubacterium* spp., *Megasphaera* spp. + *Veillonella* spp. + *Dialister* spp., *Mobiluncus* spp. + *Corinebacterium* spp. ($p \leq 0,05$). Внимания заслуживает изменение после лечения у пациенток экспериментальной группы такого показателя теста Фемофлор®16 как ОБМ, что не наблюдалось в контрольной группе ($p \leq 0,05$). Данный результат может быть следствием разрушения структуры биопленки за счет ферментативного гидролиза, что способствует снижению микробной обсемененности. Как известно,

содержание бактерий в составе биопленок выше по сравнению с планктонными формами микроорганизмов [97]. Таким образом, применение бовгиалуронидазы азоксимера совместно с метронидазолом повышает эффективность терапии в 1,68 раз за счет разрушения матрикса биопленок.

Побудительным мотивом к более детальному изучению микробиома биопленок с помощью ПЦР в режиме реального времени (тест Фемофлор®16) послужила необходимость доказательства их патогенетической значимости в аспекте бактериального вагиноза. В условиях, когда эффективность метронидазола ставится под сомнение из-за роста устойчивости бактерий к его воздействию и возникновению частых рецидивов после его применения, что обсуждалось в многочисленных работах [18, 72, 191, 209], можно было бы ограничиться констатацией его недостаточной эффективности. Известно, что уровень клинического излечения бактериального вагиноза после применения антибактериальных препаратов варьируется от 46,75% до 96,2% [105], что согласуется с результатами настоящего исследования (52,1%). Однако, анализ полученных данных показал, что в группе женщин, у которых биопленки отсутствовали или были разрушены с помощью ферментативного гидролиза, метронидазол показал высокую эффективность (87,2%), приводя к нормализации микробиома по результатам ПЦР в режиме реального времени: снижению концентрации облигатных анаэробов и приросту лактобактерий. Это указывает на то, что сам по себе препарат остается активным в отношении ассоциированных с бактериальным вагинозом микроорганизмов, но его фармакологическая доступность снижается в условиях сохраненного матрикса биопленки, о чем упоминалось в многочисленных работах отечественных и зарубежных авторов [18, 21, 157, 168]. Напротив, у пациенток с сохраняющимися биопленками после терапии отмечалось персистирование высоких концентраций *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. (Me=29,4; Q1=0,6; Q3=53,3) по сравнению с группой женщин без биопленок (Me=0,0; Q1=0,0; Q3=0,2, p=0,000) и других представителей облигатных анаэробов (p≤0,05) за исключением ассоциации таких бактерий как *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp. (p=0,211) при

отсутствии восстановления *Lactobacillus* spp. ($p \leq 0,05$). Отмечено также, что именно *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. являются наиболее характерными представителями биопленок ($AUC=0,841$; 95% ДИ: 0,745 – 0,936; $p=0,000$). Данный микробный комплекс может быть рассмотрен в качестве иницилирующих образование биопленки агентов, что согласуется с данными литературы [43, 124, 139]. Кроме того, среди женщин с сохраняющимися биопленками отмечено широкое разнообразие представителей УПМ ($Me=6$, $Q1=3$; $Q3=8$) по сравнению с женщинами, у которых биопленки после лечения не были обнаружены ($Me=2$; $Q1=1$; $Q3=4$; $p=0,007$) [42]. Несмотря на отсутствие четкого понимания роли ассоциированных с бактериальным вагинозом микроорганизмов в аспекте бактериального вагиноза L. Hardy с соавт. (2016) и J. Castro с соавт. (2019) говорят о способности некоторых представителей микробного состава влагалища повышать вирулентность *Gardnerella vaginalis*, участвовать в формировании биопленки и в увеличении ее биомассы [74, 100]. Таким образом, полученные данные о разнообразии условно-патогенных микроорганизмов во влагалище до лечения и сохранение поливидового микробного состава после курса терапии в ситуации биопленочных форм бактериального вагиноза подтверждают взаимодействие между бактериальными видами и подчеркивают значение биопленки в сохранении устойчивости этих бактериальных ассоциаций [42, 202]. Полученные в исследовании результаты подтвердили связь между присутствием биопленки во влагалищном тракте и неэффективностью терапии бактериального вагиноза ($p=0,009$). Тем не менее, сила связи между данными параметрами расценивалась как слабая, поэтому биопленка может быть рассмотрена в качестве одного из факторов, влияющих на неудачи лечения. Таким образом, биопленка является барьером для антимикробной терапии, препятствует восстановлению нормофлоры влагалища и может быть рассмотрена в качестве одной из причин неудач терапии.

Полученные в исследовании данные подтвердили также связь между присутствием у пациентки биопленки на слизистой влагалища и рецидивом бактериального вагиноза ($p=0,001$), что согласуется с мнением других авторов

[209]. Результаты исследования продемонстрировали достоверную разницу в частоте возникновения очередного эпизода бактериального вагиноза между женщинами экспериментальной и контрольной групп. Рецидив после окончания курса терапии был зафиксирован у 4 из 35 женщин (11,4%) и у 9 из 22 женщин (40,9%) соответственно ($p=0,021$). Среди других причин рецидива бактериального вагиноза в литературе рассматриваются устойчивость бактерий к действующему antimicrobial препарату и реинфицирование от полового партнера. Это подчеркивает необходимость лечения обоих партнеров, что согласуется с мнением других авторов [25, 135, 171, 187]. Известно, что более чем у половины пациенток после однократного курса метронидазола фиксируется рецидив бактериального вагиноза в течение полугода [18], что согласуется с полученными в настоящем исследовании данными (40,9%). Тем не менее, пациентки, получающие монотерапию метронидазолом, имели рецидив в 3,6 раз чаще по сравнению с группой женщин, принимающих комбинированную терапию, что подчеркивает необходимость дополнительного воздействия на матрикс биопленок для снижения уровня рецидивов.

В текущем исследовании акцент был сделан на поиске молекулярно-генетических маркеров наличия биопленок, доступных в широкой клинической практике. Метод ТЭМ обеспечивает прямую визуализацию биопленок, однако требует значительного технического обеспечения, длительной пробоподготовки и высокой квалификации специально обученного персонала, что наряду с высокой стоимостью исследования ограничивает повсеместное применение ТЭМ [42]. Наиболее подходящим инструментом для решения данной задачи стал метод ПЦР в режиме реального времени [42]. Согласно полученным данным, выявление *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. даже в минимальной концентрации (0,7% и более) по данным теста Фемофлор®16 у женщин с рецидивами бактериального вагиноза может служить маркером сохранения биопленки после проведенного лечения.

ВЫВОДЫ

1. Бактериальный вагиноз ассоциирован с формированием полимикробных биопленок генитального тракта, которые верифицированы у 67,4% женщин репродуктивного возраста с рецидивирующим течением синдрома.

2. Биопленочная форма бактериального вагиноза у женщин репродуктивного возраста с рецидивирующим течением синдрома исходно ассоциирована с более высокими значениями суммарного количества облигатных анаэробов ($p=0,011$), *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. ($p=0,049$) и сниженным уровнем *Lactobacillus* spp. ($p=0,007$) по сравнению с небиопленочной формой синдрома по данным ПЦР в режиме реального времени.

3. Комбинированная терапия, включающая применение бовгиалуронидазы азоксимера и метронидазола, повышает эффективность лечения бактериального вагиноза у женщин с рецидивирующим течением синдрома в 1,68 раз по сравнению с монотерапией метронидазолом (87,4% против 52,1% соответственно, $p<0,001$).

4. Комбинированная схема лечения бактериального вагиноза с применением метронидазола и бовгиалуронидазы азоксимера обеспечивает снижение частоты рецидивов бактериального вагиноза в 3,6 раза по сравнению с монотерапией метронидазолом: с 40,9% до 11,4%.

5. Разрушение биопленок в ходе медикаментозного воздействия способствует нормализации микробиома влагалища: увеличению доли *Lactobacillus* spp., снижению суммарного количества облигатно-анаэробных микроорганизмов ($p=0,000$) и отдельных представителей облигатных анаэробов ($p\leq 0,05$).

6. Персистенция биопленок генитального тракта, вне зависимости от схемы проведенной терапии, ассоциируется с широким разнообразием условно-патогенных микроорганизмов ($p=0,007$), подавленным уровнем *Lactobacillus* spp. ($p=0,000$), персистенцией высоких значений облигатно-анаэробных микроорганизмов ($p=0,000$) и отдельных представителей облигатных анаэробов: *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. ($p=0,000$), *Eubacterium*

spp. ($p=0,000$), *Megasphaera* spp. + *Veillonella* spp. + *Dialister* spp. ($p=0,000$), *Lachnobacterium* spp. + *Clostridium* spp. ($p=0,003$), *Mobiluncus* spp. + *Corinebacterium* spp. ($p=0,023$), *Peptostreptococcus* spp. ($p=0,024$), *Atopobium vaginae* ($p=0,001$).

7. Выявление микробного комплекса *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. в значении 0,7% и более методом ПЦР в режиме реального времени после лечения у пациенток с рецидивирующим течением бактериального вагиноза может рассматриваться как микробиологический маркер сохранения биопленки генитального тракта с чувствительностью 75,9% и специфичностью 83,3%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациенток с рецидивирующим бактериальным вагинозом рекомендовано рассматривать как женщин с биопленочной формой бактериального вагиноза, что требует назначения медикаментозной терапии, направленной на разрушение матрикса биопленок.

2. Всем пациенткам репродуктивного возраста с рецидивирующим бактериальным вагинозом рекомендовано назначение комбинированной схемы терапии, включающей метронидазол и бовгиалуронидазы азоксимер, для повышения эффективности терапии, снижения частоты рецидивов и увеличения длительности периода ремиссии.

3. В качестве микробиологического маркера сохранения биопленки генитального тракта после лечения может рассматриваться выявление микробного комплекса *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. в значении 0,7% и более методом ПЦР в режиме реального времени.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

БА – бовгиалуронидазы азоксимер

БВ – бактериальный вагиноз

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ВПГ – вирус простого герпеса

ВПЧ – вирус папилломы человека

ГРЛС – государственный реестр лекарственных средств

ГЭ – геномный эквивалент

ИППП – инфекции, передающиеся половым путем

КОЕ – колониеобразующие единицы

МО – микробная обсемененность

ОА – облигатные анаэробы

ОБМ – общая бактериальная масса

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени

РИМП – рецидивизирующая инфекция мочевыводящих путей

СВМО – сумма выделенных микроорганизмов

ТЭМ – трансмиссионная электронная микроскопия

УПМ – условно-патогенные микроорганизмы

ФА – факультативные анаэробы

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абатуров, А. Е. Нуклеазы, разрушающие внеклеточную ДНК бактериальных биопленок / А. Е. Абатуров // Здоровье ребенка. – 2020. – Т. 15. – № 5. – С. 389-398.
2. Абатуров, А. Е. Полисахаридразрушающие ферменты как агенты, диспергирующие бактериальные биопленки / А. Е. Абатуров // Здоровье ребенка. – 2020. – Т. 15. – № 4. – С. 271-278.
3. Абатуров, А. Е. Протеазы, деградирующие биоплёночный матрикс / А. Е. Абатуров // Здоровье ребёнка. – 2020. – Т. 15 – № 3. – С. 187-194.
4. Агаева, Э. М. Инновационные методы молекулярной диагностики в медицине / Э. М. Агаева, Ш. К. Зейналова, В. А. Нариманов // Биомедицина (Баку). – 2015. – № 2 – С. 16-19.
5. Андреева, М. В. Бактериофаги в гинекологии. Миф или современная реальность? / М.В. Андреева, А. В. Неклюдова, Т. С. Ковалева // Лекарственный вестник. – 2018. – Т. 12. – № 3. – С. 33-37.
6. Антибиопленочные агенты в терапии бактериального вагиноза / К. А. Россоловская, Л.Г. Спивак, Н. С. Трифонова, И. В. Гадаева. – Текст непосредственный // XIX Международный конгресс по репродуктивной медицине: материалы конгресса / Общество с ограниченной ответственностью «МЕДИ Экспо»; под редакцией Г. Т. Сухих, Л. В. Адамян. – Москва, «МЕДИ Экспо», 2025. – С. 334-336.
7. Антибиотики или антисептики: что выбрать для лечения бактериального вагиноза? / А.Д. Минакова, Т. А. Джигладзе, В. М. Зуев, И. Д. Хохлова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2025. – Т. 74. – № 2. – С. 42-49.
8. Бактериальный вагиноз: проблемы ранней диагностики / З. А. Муртазина, А. Г. Ящук, А. В. Масленников [и др.] // Таврический медико-биологический вестник. – 2017. – Т. 20. – № 4. – С. 156-161.

9. Бактериальный вагиноз: современные представления о диагностике и лечении / А. Т. Уруймагова, В. Н. Прилепская, Е. А. Межеветинова [и др.] // Гинекология. – 2021. – Т. 23. – № 4. – С. 286-293.

10. Баландина, Л. Л. Родительские установки и особенности супружеских отношений у женщин с гинекологическими заболеваниями / Л. Л. Баландина, Е. В. Кузнецова // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2018. – № 2. – С. 192-196.

11. Биопленки при бактериальном вагинозе / Е. С. Березовская, И. О. Макаров, М. А. Гомберг [и др.] // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2013. – № 2. – С. 34-36.

12. Биоплёнки бактериального вагиноза – мишень для терапевтического новаторства / К.А. Россоловская, Н. С. Трифонова, И. В. Гадаева, Л. Г. Спивак // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирёва. – 2024. – Т. 11. – № 4. – С. 406-415.

13. Биоценоз влагалища. Норма. Нарушение. Восстановление: учебник / В. Е. Радзинский, А. М. Савичева, С. В. Воробьёв [и др.]; под редакцией В. Е. Радзинского, А. М. Савичевой. – Москва: StatusPraesens, 2023. – 360 с. – ISBN 978-5-907218-72-7. – Текст непосредственный.

14. Буданов, П. В. Альтернатива антибактериальной терапии в акушерстве и гинекологии / П. В. Буданов, Ж. Д. Новахова, А. А. Чурганова // РМЖ. Мать и дитя. – 2015. – Т. 23. – № 1. – С. 14-18.

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

16. Видовое разнообразие вагинальных лактобацилл в норме и при дисбиотических состояниях / О. В. Будиловская, Е. В. Шипицына, Е. Н. Герасимова [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т. 66. – № 2. – С. 24-32.

17. Видовой состав лактобактерий при неспецифических вагинитах и бактериальном вагинозе и его влияние на локальный иммунитет / О. В. Бурменская,

Г. Р. Байрамова, О. С. Непша [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2014. – № 1. – С. 41-45.

18. Влияние биопленок урогенитального тракта на эффективность стандартной терапии рецидивирующего бактериального вагиноза / К. А. Россоловская, Н. С. Трифонова, Е. Е. Брагина [и др.] // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки. – 2025. – № 6. – С. 296-302.

19. Влияние экзогенных протеолитических ферментов на передачу плазмидных генов в смешанных бактериальных биоплёнках / Г. В. Тец, Н. К. Артеменко, Н. В. Заславская [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. – 2009. – Т. 54. – № 9-10. – С. 3-5.

20. Влияние *in vitro* изолированного и сочетанного с антибактериальными средствами применения бовгиалуронидазы азоксимер на целостность бактериальной биопленки и жизнеспособность микроорганизмов / Е. Ю. Тризна, Д. Р. Байдамшина, А. А. Веницкий, А. Р. Каюмов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2020. – Т. 83. – № 2. – С. 38-44.

21. Воздействие бовгиалуронидазы азоксимера на бактериальные биопленки в эякуляте у пациентов с хроническим простатитом / Е. Е. Брагина, Л. Г. Спивак, М. А. Газимиев [и др.] // Экспериментальная и клиническая урология. – 2023. – Т. 16. – № 3. – С. 87-92.

22. Возможности фаговой терапии гинекологической инфекции / Х. А. Белопольская, И.С. Сидорова, Л. С. Шахгиреева, А. А. Белопольский // Трудный пациент. – 2014. – Т. 12. – № 8-9. – С. 6-9.

23. Возможность применения крема дозированного Ацилакт Дуо при бактериальном вагинозе / Е. В. Тихомирова, В. Е. Балан, Е. В. Кручинина [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2023. – Т. 19. – № 7. – С. 6-12.

24. Все ли лактобациллы одинаково полезны? Полнота восстановления вагинальной микроэкологии как критерий эффективности двухэтапной терапии бактериального вагиноза / А.М. Савичева, К. В. Шалепо, В. В. Назарова, Ю. Н.

Менухова // StatusPraesens. Гинекология, акушерство, бесплодный брак. – 2014. – № 3. – С. 33-37.

25. Гомберг, М. А. Клинические особенности негонококкового уретрита у мужчин, ассоциированного с наличием бактериального вагиноза у их половых партнерш / М. А. Гомберг, Д. Г. Ким, А. Е. Гуцин // Клиническая дерматология и венерология. – 2020. – Т. 19. – № 6. – С. 836-845.

26. Громова, О. А. Молекулярные механизмы разрушения бактериальных пленок при топическом применении аскорбиновой кислоты / О. А. Громова, И. Ю. Торшин, Е. А. Гарасько // Гинекология. – 2010. – Т. 12. – № 6. – С. 12-17.

27. Длительность безрецидивного периода после применения препарата Ацилакт Дуо в качестве второй линии терапии при бактериальном вагинозе / Е. В. Тихомирова, В. Е. Балан, Е.В. Кручинина [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2023. – Т. 19. – № 44. – С. 10-16.

28. Доброхотова, Ю. Э. Бактериальный вагиноз: современные противорецидивные стратегии / Ю. Э. Доброхотова, В. Д. Казанцева, К. Р. Бондаренко // РМЖ. – 2022. – Т. 8. – С. 61-65.

29. Доброхотова, Ю. Э. Результаты применения бовгиалуронидазы азоксимера в комплексной терапии воспалительных заболеваний органов малого таза / Ю. Э. Доброхотова, Л.А. Филатова, И. И. Гришин // РМЖ. – 2018. – Т. 26. – № 2-1. – С. 19-22.

30. Дрождина, М. Б. Влагалищная микробиота, иммунный ответ и некоторые инфекции, передаваемые половым путем: механизмы взаимодействия и регуляции влагалищной экосистемы / М. Б. Дрождина // Клиническая дерматология и венерология. – 2020. – Т. 19. – № 6. – С. 926-933.

31. Жердева, Д. М. Психологические особенности женщин с диагнозом «бактериальный вагиноз» / Д. М. Жердева, О. В. Горшкова // Человеческий капитал. – 2025. – № 1. – С. 55-66.

32. Ильина, Т. С. Бактериальные биопленки: роль в хронических инфекционных процессах и поиск средств борьбы с ними / Т. С. Ильина, Ю. М.

Романова // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2021. – Т. 39. – № 2. – С. 14-24.

33. Кира, Е. Ф. Инфекции и репродуктивное здоровье (Часть I) / Е. Ф. Кира // Журнал акушерства и женских болезней. – 1999. – Т. 48. – № 2. – С. 71-78.

34. Кисина, В. И. Вагинальные инфекции: клиническое значение и лечение / В. И. Кисина // Эффективная фармакотерапия. – 2011. – № 10. – С. 28-32.

35. Ковалык, В. П. Вагинальные выделения у женщин без риска инфекций, передаваемых половым путем / В. П. Ковалык, Е. В. Матушевская, Е. В. Владимирова // Акушерство и гинекология. – 2018. – № 12. – С. 171-176.

36. Контроль образования биопленок в урологической практике / А. В. Зайцев, А. О. Васильев, А. А. Ширяев [и др.] // Урология. – 2022. – № 1. – С. 81-88.

37. Кузнецова, И.В. Бактериальный вагиноз и вульвовагинальный кандидоз / И. В. Кузнецова, Р. А. Чилова // Акушерство и гинекология. – 2018. – № 5. – С. 143-149.

38. Кульчавеня, Е. В. Рецидивирующий цистит и бактериальный вагиноз: как избежать полипрагмазии / Е. В. Кульчавеня, А. А. Бреусов // Гинекология. – 2020. – Т. 22. – № 4. – С. 17-21.

39. Лактоферрин, флуоресцентные технологии и их роль в диагностике и лечении воспалительных заболеваний женской половой сферы / В. М. Зуев, Д. Г. Гуленкова, И. Л. Гольдман [и др.] // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева. – 2018. – Т. 5. – №2. – С. 101-105.

40. Летяева, О. И. Бактериальный вагиноз: современные возможности и перспективы длительного контроля / О. И. Летяева // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2019. – Т. 19. – № 2. – С. 100-104.

41. Микрофлора влагалища женщин репродуктивного возраста при бактериальном вагинозе – соответствие критериям Amsel / В. В. Назарова, К. В. Шалепо, Ю. Н. Менухова, А. М. Савичева // Журнал акушерства и женских болезней. – 2016. – Т. 65. – № 1. – С. 48-53.

42. Молекулярно-генетическая характеристика микробиоты персистирующих биопленок урогенитального тракта у женщин с

рецидивирующим течением бактериального вагиноза / К. А. Россоловская, Н. С. Трифонова, Р. А. Чилова [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2025. – Т. 24. – № 5. – С. 32-42.

43. Новикова, С. В. Бактериальный вагиноз как типичная биопленочная инфекция / С. В. Новикова, Е. Б. Цивцивадзе, А. В. Федотова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2018. – Т. 18. – № 4. – С. 97-100.

44. Новые возможности терапии бактериального вагиноза: опыт одновременного применения антибиотика и пробиотика / И. Б. Манухин, В. Е. Балан, Ю. Э. Доброхотова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2020. – № 6. – С. 105-114.

45. Оценка современных методов лабораторной диагностики бактериального вагиноза / К.В. Шалепо, В. В. Назарова, Ю. Н. Менухова [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2014. – Т. 63. – №1. – С. 26-32.

46. Панферова, Ю. А. Анализ *in silico* гена *vly*, кодирующего цитолизин вагинолизин, у штаммов *Gardnerella vaginalis* различного географического происхождения / Ю.А. Панферова // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. – 2019. – № 3. – 8 с.

47. Персонифицированный подход к диагностике и лечению рецидивирующих форм бактериального вагиноза / Т. Ю. Пестрикова, А. В. Котельникова, Е. А. Юрасова [и др.] // Клинический разбор в общей медицине. – 2024. – Т. 5. – № 4. – С. 54-60.

48. Пестрикова, Т. Ю. Видовой состав вагинальной лактофлоры у женщин с заболеваниями влагалища и шейки матки / Т. Ю. Пестрикова, А. В. Котельникова // Женское здоровье и репродукция: сетевое издание [Электронный ресурс]. – 2021. – № 2. – Режим доступа: <http://whfordoctors.ru/statyi/vidovoj-sostav-vaginalnoj-laktoflory-u-zhenshhin-s-patologiej-vlagalishha-i-shejki-matki/> (дата обращения: 01.06.2025).

49. Препараты с ферментативной активностью в терапии рецидивирующего бактериального вагиноза, ассоциированного с формированием биопленок / К. А. Россоловская, Н. С. Трифонова, И.В. Гадаева, Л. Г. Спивак // Мать и Дитя: Сборник

тезисов XXVII Всероссийского научно-образовательного форума / Общество с ограниченной ответственностью «СТО Конгресс»; под редакцией Г. Т. Сухих, В. Н. Серов. – Москва, «СТО Конгресс», 2025. – С. 110-111.

50. Пустотина, О. А. Анализ распространенных стереотипов ведения женщин с выделениями из половых путей / О. А. Пустотина, В. В. Остроменский // Эффективная фармакотерапия. – 2019. – Т. 15. – № 26. – С. 26-35.

51. Россоловская, К. А. Перспективы применения лонгидазы в комплексном лечении рецидивирующего бактериального вагиноза: смена парадигмы / К. А. Россоловская, Л. Г. Спивак, Н. С. Трифонова. – Текст непосредственный // Мать и Дитя: Сборник тезисов XVIII Регионального научно-образовательного форума и Пленум Правления Российского общества акушеров-гинекологов / Общество с ограниченной ответственностью «МЕДИ Экспо»; под редакцией Г. Т. Сухих, В. Н. Серов. – Санкт-Петербург, «МЕДИ Экспо», 2025. – С. 108-109.

52. Рыбина, Е. В. Современные методы оценки микробиоценоза влагалища / Е. В. Рыбина // Журнал акушерства и женских болезней. - 2015. - Т. 64. – №1. – С. 53-66.

53. Снижение частоты рецидивов бактериального вагиноза. Комплексное решение / Ю. Э. Доброхотова, Е. И. Боровкова, З. С. Зайдиева, В. В. Романовская // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2022. – Т. 21. – № 2. – С. 33-40.

54. Современные подходы к терапии бактериального вагиноза и вульвовагинального кандидоза / Е. В. Тихомирова, В. Е. Балан, Е. В. Кручинина, Т. В. Ловыгина // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2021. – Т. 21. – № 4. – С. 118-124.

55. Современные представления о взаимосвязи кишечной и вагинальной микробиот / А.В. Николаева, А. А. Козлова, И. И. Баранов, Т. В. Припутневич // Акушерство и гинекология. – 2021. – № 9. – С. 5-11.

56. Современные стратегии лечения и профилактики бактериального вагиноза / В. Д. Казанцева, Л. А. Озолия, Т. Н. Савченко, Ю. Э. Доброхотова // РМЖ. Мать и дитя. – 2025. – Т. 8. – № 1. – С. 27-31.

57. Современный подход к лечению рецидивирующего бактериального вагиноза у женщин репродуктивного периода / Т. Ю. Пестрикова, Е. А. Юрасова, А. В. Котельникова [и др.] // Гинекология. – 2018. – Т. 20. – № 2. – С. 55-58.

58. Тевлин, К. П. Бактериальный вагиноз и инфекция нижних мочевыводящих путей у женщин. Клинический случай / К. П. Тевлин, Б. В. Ханалиев, Е. В. Тевлина // Гинекология. – 2022. – Т. 24. – № 2. – С. 140-143.

59. Тихомиров, А. Л. Ключевые аспекты терапии бактериального вагиноза / А. Л. Тихомиров, С. И. Сарсания, В. В. Казенашев // Доктор.Ру. – 2020. – Т. 19. – № 8. – С. 86-90.

60. Хрянин, А. А. Бактериальный вагиноз: дискуссионные вопросы / А. А. Хрянин, Г. Ю. Кнорринг // Вестник дерматологии и венерологии. – 2022. – Т. 98. – № 1. – С. 13-18.

61. Хрянин, А.А. Современные представления о биопленках микроорганизмов / А. А. Хрянин, Г. Ю. Кнорринг // Фарматека. – 2020. – № 6. – С. 34-42.

62. Чилова, Р. А. Проблемы дифференциальной диагностики и лечения бактериального вагиноза / Р. А. Чилова, Г. Ф. Проклова, Н. В. Гончаренко // РМЖ. Мать и дитя. – 2020. – Т. 3. – №1. – С. 39-43.

63. Шалепо, К. В. Роль бактериальных пленок в формировании хронических патологических процессов во влагалище и эндометрии / К. В. Шалепо, Т. Г. Михайленко, А. М. Савичева // Журнал акушерства и женских болезней. – 2016. – Т. 65. – № 4. – С. 65-75.

64. Ширева, Ю. В. Неспецифический аэробный вагинит - новое или "старое" заболевание? (обзор) / Ю. В. Ширева, Е. А. Сандакова, Т. И. Карпунина // Медицинский альманах. – 2010. – № 4. – С. 164-168.

65. Ших, Е. В. Фармакотерапия бактериального вагиноза: антибиотики vs антисептики / Е. В. Ших, А. А. Махова, Р. К. Костин // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2023. – Т. 22. – № 4. – С. 112-120.

66. Эффективное разрушение биопленок *Gardnerella spp.* под влиянием деквалиния хлорида при бактериальном вагинозе / К. Гашпар, Ж. Ролу, Н. Серка [и др.]

др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2022. – Т. 21. – № 6. – С. 43-53.

67. Эффективность восстановления вагинальной микробиоты после противомикробной терапии бактериального вагиноза и вульвовагинального кандидоза у беременных (по результатам многоцентрового проспективного неинтервенционного сравнительного исследования) / В. Е. Радзинский, И. Б. Манухин, И. М. Ордянец [и др.] // РМЖ. Мать и дитя. – 2021. – Т. 4. – № 3. – С. 192-200.

68. Эффективность и безопасность ферментативного гидролиза в комплексном лечении бактериального вагиноза: предварительные результаты клинического исследования / К. А. Россоловская, Н. С. Трифонова, А. И. Ищенко [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2025. – Т. 24. – № 2. – С. 88-96.

69. Эффективность и приемлемость двухэтапной терапии рецидивирующего бактериального вагиноза / А. Т. Уруймагова, В. Н. Прилепская, Е. А. Межевитинова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2021. – № 11. – С. 202–212.

70. Abbe, C. Bacterial vaginosis: A review of approaches to treatment and prevention / C. Abbe, C. M. Mitchell // *Frontiers in Reproductive Health*. – 2023. – Vol. 5. – Article 1100029.

71. Abou Chacra, L. Bacterial vaginosis: what do we currently know? / L. Abou Chacra, F. Fenollar, K. Diop // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2022. – Vol. 11. – Article 672429.

72. A clinical trial of curcumin effect in comparison to metronidazole on the treatment of bacterial vaginosis / S. Mohamadi, Z. Behboodi Moghadam, S. Godarzi, E. Rezaei // *Scientific Reports*. – 2025. – Vol. 15. – № 1. – Article 7479.

73. Adherent biofilms in bacterial vaginosis / A. Swidsinski, W. Mendling, V. Loening-Baucke [et al.] // *American College of Obstetricians and Gynecologists*. – 2005. – Vol. 106. – P. 865–874.

74. A fruitful alliance: the synergy between *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* in bacterial vaginosis-associated biofilm / L. Hardy, V. Jespers, S. Abdellati [et al.] // *Sexually Transmitted Infections*. – 2016. – Vol. 92. – № 7. – P. 487–491.

75. A modified scheme for biotyping *Gardnerella vaginalis* / R. Benito, J.A. Vazquez, S. Berron [et al.] // *Journal of Medical Microbiology*. – 1986. – Vol. 21. – P. 357–359.

76. An adherent *Gardnerella vaginalis* biofilm persists on the vaginal epithelium after standard therapy with oral metronidazole / A. Swidsinski, W. Mendling, V. Loening-Baucke [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2008. – Vol. 198. – № 1. – Article 97.e1–97.e6.

77. Antibiofilm agents for the treatment and prevention of bacterial vaginosis: a systematic narrative review / M. Gao, J. Manos, G. Whiteley, I. Zablotska-Manos // *Journal of Infectious Diseases*. – 2024. – Vol. 230. – № 3. – Article e508–e517.

78. Antibiotic treatment for the sexual partners of women with bacterial vaginosis / J. Amaya-Guio, D.A. Viveros-Carreño, E.M. Sierra-Barrios [et al.] // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2016. – Vol. 2016. – № 10. – Article CD011701.

79. Antimicrobial activity of bovine lactoferrin against *Gardnerella* species clinical isolates / A. Pino, T. Mazza, M.A.H. Matthews [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2022. – Vol. 13. – Article 1000822.

80. Antimicrobial resistance associated with the treatment of bacterial vaginosis / R.H. Beigi, M.N. Austin, L.A. Meyn [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2004. – Vol. 191. – № 4. – P. 1124–1129.

81. Antimicrobial resistance genes and modelling of treatment failure in bacterial vaginosis: clinical study of 289 symptomatic women / D.G. Bostwick, J.Woody, C.Hunt, W.Budd // *Journal of Medical Microbiology*. – 2016. – Vol. 65. – № 5. – P. 377–386.

82. Antimicrobial susceptibility and vaginolysin in *Gardnerella vaginalis* from healthy and bacterial vaginosis diagnosed women / D.M. Knupp de Souza, C.G. Diniz, D.S. Filho [et al.] // *Journal of Infection in Developing Countries*. – 2016. – Vol. 10. – № 9. – P. 913–919.

83. An updated conceptual model on the pathogenesis of bacterial vaginosis / C.A. Muzny, C.M. Taylor, W.E. Swords [et al.] // *Journal of Infectious Diseases*. – 2019. – Vol. 220. – P. 1399–1405.

84. Assessing urinary microbiota in chronic cystitis based on midstream urine sample / M. Boldyreva, M. Petrunicheva, A. Ivanova [et al.] // *Urologia Internationalis*. – published online: June 28, 2025. – DOI:10.1159/000547112.

85. Associations between sexual habits, menstrual hygiene practices, demographics and the vaginal microbiome as revealed by Bayesian network analysis / N. Noyes, K.C. Cho, J. Ravel [et al.] // *PLoS One*. – 2018. – Vol. 13. – № 1. – Article e0191625.

86. Asymptomatic bacterial vaginosis is associated with depletion of mature superficial cells shed from the vaginal epithelium / D.E. O’Hanlon, P. Gajer, R.M. Brotman [et al.] // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2020. – Vol. 10. – Article 106.

87. A taxonomic study of *Gardnerella vaginalis* (*Haemophilus vaginalis*) Gardner and Dukes 1955 / P. Piot, E. van Dyck, M. Goodfellow, S. Falkow // *Journal of General Microbiology*. – 1980. – Vol. 119. – № 2. – P. 373–396.

88. Bacterial vaginosis: a synthesis of the literature on etiology, prevalence, risk factors, and relationship with chlamydia and gonorrhea infections / C.T. Bautista, E. Wurapa, W.B. Saterén [et al.] // *Military Medical Research*. – 2016. – Vol. 3. – № 4. – Article 4.

89. Bacterial vaginosis biofilms: challenges to current therapies and emerging solutions / D. Machado, J. Castro, A. Palmeira-de-Oliveira [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. — 2016. — Vol. 6. — Article 1528.

90. Bacterial vaginosis: guideline of the DGGG, OEGGG and SGGG (S2k-level, AWMF registry No. 015/028, June 2023) / A. Farr, S. Swidsinski, D. Surbek [et al.] // *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*. – 2023. – Vol. 83. – № 11. – P. 1331–1349.

91. Bacterial vaginosis: prevalence in outpatients, association with some microorganisms and laboratory indices / L. Cristiano, N. Coffetti, G. Dalvai [et al.] // *Genitourinary Medicine*. – 1989. – Vol. 65. – № 6. – P. 382–387.

92. Baum, M.M. Experimental approaches to investigating the vaginal biofilm microbiome / M.M. Baum, M. Gunawardana, P. Webster // *Methods in Molecular Biology*. – 2014. – Vol. 1147. – P. 85–103.

93. Benzoyl Peroxide Inhibits Quorum Sensing and Biofilm Formation by *Gardnerella vaginalis* 14018 / A. Algburi, S. Zehm, V. Netrobov [et al.] // *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*. – 2018. – Vol. 2018. – Article 1426109.

94. Biofilm and pathogenic factor analysis of *Gardnerella vaginalis* associated with bacterial vaginosis in Northeast China / X. Ma, X. Wang, S. Ye [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2022. – Vol. 13. – Article 1033040.

95. Biofilm-forming capacity and drug resistance of different *Gardnerella* subgroups associated with bacterial vaginosis / H. Qin, Y. Liu, Z. Zhai, B. Xiao // *Microorganisms*. – 2023. – Vol. 11. – № 9. – Article 2186.

96. Biological, clinical, and sociobehavioral factors associated with disproportionate burden of bacterial vaginosis in the United States: a comprehensive literature review / E. Watkins, J. Lin, M. Lingohr-Smith [et al.] // *Journal of Women's Health (Larchmont)*. – 2025. – Vol. 34. – № 5. – P. 644–652.

97. Biotypes of *Gardnerella vaginalis* / P. Piot, E. van Dyck, M. Peeters [et al.] // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1984. – Vol. 20. – P. 677–679.

98. Briselden, A.M. Longitudinal study of the biotypes of *Gardnerella vaginalis* / A.M. Briselden, S.L. Hillier // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1990. – Vol. 28. – P. 2761–2764.

99. Brown, H. Improving the diagnosis of vulvovaginitis: perspectives to align practice, guidelines, and awareness / H. Brown, M. Drexler // *Population Health Management*. – 2021. – Vol. 24. – № 1. – P. 41–45.

100. Castro, J. Unveiling the role of *Gardnerella vaginalis* in polymicrobial Bacterial Vaginosis biofilms: the impact of other vaginal pathogens living as neighbors / J. Castro, D. Machado, N. Cerca // *The ISME Journal*. – 2019. – Vol. 13. – № 5. – P. 1306–1317.

101. Cerca, N. Could targeting neighboring bacterial populations help combat bacterial vaginosis? / N. Cerca // *Future Microbiology*. – 2019. – Vol. 14. – P. 365–368.

102. Challenges of antibiotic resistance biofilms and potential combating strategies: a review / J. Khan, S.M. Tarar, I. Gul [et al.] // 3 Biotech. – 2021. – Vol. 11. – № 4. – Article 169.

103. Cigarette smoking is associated with an altered vaginal tract metabolomic profile / T.M. Nelson, J.C. Borgogna, R.D. Michalek [et al.] // Scientific Reports. – 2018. – Vol. 8. – № 1. – Article 852.

104. Clue Cells and Pseudo Clue Cells in Different Morphotypes of Bacterial Vaginosis / A. Swidsinski, V. Loening-Baucke, S. Swidsinski [et al.] // Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. – 2022. – Vol. 12. – Article 905739.

105. Comparative effectiveness of treatments for bacterial vaginosis: a network meta-analysis / A. Muñoz-Barreno, F. Cabezas-Mera, E. Tejera, A. Machado // Antibiotics (Basel). – 2021. – Vol. 10. – № 8. – Article 978.

106. Comparative genomic analyses of 17 clinical isolates of *Gardnerella vaginalis* provide evidence of multiple genetically isolated clades consistent with subspeciation into genovars / A. Ahmed, J. Earl, A. Retchless [et al.] // Journal of Bacteriology. – 2012. – Vol. 194. – № 15. – P. 3922–3937.

107. Comparative study of Amsel's criteria and Nugent scoring for diagnosis of bacterial vaginosis in a tertiary care hospital, Nepal / R. Bhujel, S.K. Mishra, S.K. Yadav [et al.] // BMC Infectious Diseases. – 2021. – Vol. 21. – № 1. – Article 825.

108. Comparison of Amsel's criteria with low and high Nugent's scores for the diagnosis of bacterial vaginosis / R. Mala, S. Sood, A. Kapil [et al.] // Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases and AIDS. – 2022. – Vol. 43. – № 1. – P. 56–58.

109. Comparison of culture-dependent and culture-independent molecular methods for characterization of vaginal microflora / S. Pandya, K. Ravi, V. Srinivas [et al.] // Journal of Medical Microbiology. – 2017. – Vol. 66. – № 2. – P. 149–153.

110. Comparison of the vaginal microbiomes of premenopausal and postmenopausal women / K. Gliniewicz, G.M. Schneider, B.J. Ridenhour [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2019. – Vol. 10. – P. 193.

111. Contribution of *Lactobacillus iners* to Vaginal Health and Diseases: A Systematic Review / N. Zheng, R. Guo, J. Wang [et al.] // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2021. – Vol. 11. – Article 792787.

112. Coudray, M.S. Bacterial vaginosis – a brief synopsis of the literature / M.S. Coudray, P. Madhivanan // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. – 2020. – Vol. 245. – P. 143–148.

113. Cultivation-independent analysis of changes in bacterial vaginosis flora following metronidazole treatment / M.J. Ferris, J. Norori, M. Zozaya-Hinchliffe, D.H. Martin // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2007. – Vol. 45. – № 3. – P. 1016–1018.

114. Dequalinium chloride effectively disrupts bacterial vaginosis (*BV*) *Gardnerella* spp. biofilms / C. Gaspar, J. Rolo, N. Cerca [et al.] // *Pathogens*. – 2021. – Vol. 10. – № 3. – Article 261.

115. Dequalinium chloride use in adult Spanish women with bacterial vaginosis: an observational study / V. Antoni, M.J. Cancelo, M.Á. Losada, A. Doménech // *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. – 2022. – Vol. 42. – P. 103–109.

116. Diagnostic value of Amsel's clinical criteria for diagnosis of bacterial vaginosis / F. Mohammadzadeh, M. Dolatian, M. Jorjani, H. Alavi Majd // *Global Journal of Health Science*. – 2014. – Vol. 7. – № 3. – P. 8–14.

117. Disruption of urogenital biofilms by lactobacilli / A. McMillan, M. Dell, M.P. Zellar [et al.] // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2011. – Vol. 86. – № 1. – P. 58–64.

118. DNase inhibits *Gardnerella vaginalis* biofilms in vitro and in vivo / S.R. Hymes, T.M. Randis, T.Y. Sun, A.J. Ratner // *Journal of Infectious Diseases*. – 2013. – Vol. 207. – № 10. – P. 1491–1497.

119. Effectiveness and costs of molecular screening and treatment for bacterial vaginosis to prevent preterm birth: the AuTop randomized clinical trial / F. Bretelle, S. Loubière, R. Desbriere [et al.] // *JAMA Pediatrics*. – 2023. – Vol. 177. – № 9. – P. 894–902.

120. Efficacy of Dequalinium Chloride vs Metronidazole for the Treatment of Bacterial Vaginosis: A Randomized Clinical Trial / G. Raba, A. Durkech, T. Malík [et al.] // *JAMA Network Open*. – 2024. – Vol. 7. – № 5. – Article e248661.

121. Efficacy of vitamin C vaginal tablets as prophylaxis for recurrent bacterial vaginosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial / V.N. Krasnopolsky, V.N. Prilepskaya, F. Polatti [et al.] // *Journal of Clinical Medicine Research*. – 2013. – Vol. 5. – № 4. – P. 309–315.

122. Emended description of *Gardnerella vaginalis* and description of *Gardnerella leopoldii* sp. nov., *Gardnerella piotii* sp. nov. and *Gardnerella swidsinskii* sp. nov., with delineation of 13 genomic species within the genus *Gardnerella* / M. Vaneechoutte, A. Guschin, L. Van Simaey [et al.] // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. – 2019. – Vol. 69. – № 3. – P. 679–687.

123. Engineered phage endolysin eliminates *Gardnerella* biofilm without damaging beneficial bacteria in bacterial vaginosis ex vivo / C. Landlinger, L. Tisakova, V. Oberbauer [et al.] // *Pathogens*. – 2021. – Vol. 10. – № 1. – Article 54.

124. Etiology of bacterial vaginosis and polymicrobial biofilm formation / H.S. Jung, M.M. Ehlers, H. Lombaard [et al.] // *Critical Reviews in Microbiology*. – 2017. – Vol. 43. – № 6. – P. 651–667.

125. Evaluation of a rapid Gram stain interpretation method for diagnosis of bacterial vaginosis / I. Hilmarisdóttir, G.S. Hauksdóttir, J.D. Jóhannesdóttir [et al.] // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2006. – Vol. 44. – № 3. – P. 1139–1140.

126. Exposure to chronic stress and ethnic differences in rates of bacterial vaginosis among pregnant women / J.F. Culhane, V. Rauh, K.F. McCollum [et al.] // *Am J Obstet Gynecol*. – 2002. – Vol. 187. – № 5. – P. 1272–1276.

127. Faught, B.M. Characterization and Treatment of Recurrent Bacterial Vaginosis / B.M. Faught, S. Reyes // *Journal of Women's Health (Larchmont)*. – 2019. – Vol. 28. – № 9. – P. 1218–1226.

128. Fertility factors affect the vaginal microbiome in women of reproductive age / J. Xu, G. Bian, M. Zheng [et al.] // *American Journal of Reproductive Immunology*. – 2020. – Vol. 83. – № 4. – Article e13220.

129. Finding a balance in the vaginal microbiome: how do we treat and prevent the occurrence of bacterial vaginosis? / R.J. Joseph, H.L. Ser, Y.H. Kuai [et al.] // *Antibiotics*. – 2021. – Vol. 10. – Article 719.

130. Fine structure of *Haemophilus vaginalis* / B.S. Criswell, W.A. Stenback, S.H. Black, H.L. Gardner // *Journal of Bacteriology*. – 1972. – Vol. 109. – № 2. – P. 930–932.

131. Fleming, D. Approaches to dispersing medical biofilms / D. Fleming, K.P. Rumbaugh // *Microorganisms*. – 2017. – Vol. 5. – № 2. – P. 15.

132. Flemming, H.C. The biofilm matrix / H.C. Flemming, J. Wingender // *Nature Reviews Microbiology*. – 2010. – Vol. 8. – P. 623–633.

133. France, M.T. Genomic Comparisons of *Lactobacillus crispatus* and *Lactobacillus iners* Reveal Potential Ecological Drivers of Community Composition in the Vagina / M.T. France, H. Mendes-Soares, L.J. Forney // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2016. – Vol. 82. – № 24. – P. 7063–7073.

134. Fredricks, D.N. Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis / D.N. Fredricks, T.L. Fiedler, J.M. Marrazzo // *The New England Journal of Medicine*. – 2005. – Vol. 353. – № 18. – P. 1899–1911.

135. Gardnerella biofilm involves females and males and is transmitted sexually / A. Swidsinski, V. Loening-Baucke, S. Swidsinski [et al.] // *Gynecologic and Obstetric Investigation*. – 2010. – Vol. 70. – № 4. – P. 256–263.

136. Gardnerella revisited: species heterogeneity, virulence factors, mucosal immune responses, and contributions to bacterial vaginosis / E. Shvartsman, J.E. Hill, P. Sandstrom, K.S. MacDonald // *Infection and Immunity*. – 2023. – Vol. 91. – № 5. – Article e0039022.

137. Gardnerella species and their association with bacterial vaginosis / M.M. Munch, S.M. Strenk, S. Srinivasan [et al.] // *Journal of Infectious Diseases*. – 2024. – Vol. 230. – № 1. – Article e171–e181.

138. Gardnerella vaginalis and anaerobic bacteria in the etiology of bacterial (nonspecific) vaginosis / C.A. Spiegel, P. Davick, P.A. Totten [et al.] // *Scandinavian Journal of Infectious Diseases. Supplementum*. – 1983. – Vol. 40. – P. 41–46.

139. *Gardnerella vaginalis* dominates multi-species biofilms in both pre-conditioned and competitive in vitro biofilm formation models / A.S. Rosca, J. Castro, Â. França [et al.] // *Microbial Ecology*. – 2022. – Vol. 84. – № 4. – P. 1278–1287.
140. *Gardnerella vaginalis* in recurrent urinary tract infection is associated with dysbiosis of the bladder microbiome / J.J. Yoo, J.S. Song, W.B. Kim [et al.] // *Journal of Clinical Medicine*. – 2022. – Vol. 11. – № 9. – Article 2295.
141. *Gardnerella vaginalis* population dynamics in bacterial vaginosis / D.W. Hilbert, J.A. Schuyler, M.E. Adelson [et al.] // *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. – 2017. – Vol. 36. – № 7. – P. 1269–1278.
142. Gardner, H.L. *Haemophilus vaginalis* vaginitis: a newly defined specific infection previously classified non-specific vaginitis / H.L. Gardner, C.D. Dukes // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 1955. – Vol. 69. – № 5. – Article 962–976.
143. Genotypic differentiation of *Gardnerella vaginalis* by amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA) / A. Ingianni, S. Petruzzelli, G. Morandotti, R. Pompei // *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. – 1997. – Vol. 18. – № 1. – P. 61–66.
144. Gilbert, N.M. Transient microbiota exposures activate dormant *Escherichia coli* infection in the bladder and drive severe outcomes of recurrent disease / N.M. Gilbert, V.P. O'Brien, A.L. Lewis // *PLoS Pathogens*. – 2017. – Vol. 13. – № 3. – Article e1006238.
145. Greenwood, J.R. Salient features of *Haemophilus vaginalis* / J.R. Greenwood, M.J. Pickett // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1979. – Vol. 9. – № 2. – P. 200–204.
146. Greenwood, J.R. Transfer of *Haemophilus vaginalis* Gardner and Dukes to a new genus, *Gardnerella*: *G. vaginalis* (Gardner and Dukes) / J.R. Greenwood, M.J. Pickett // *International Journal of Systematic Bacteriology*. – 1980. – Vol. 30. – № 1. – P. 170–178.
147. Grin, I. Electron microscopy techniques to study bacterial adhesion / I. Grin, H. Schwarz, D. Linke // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 2011. – Vol. 715. – P. 257–269.

148. *Haemophilus vaginalis* 594, a gram-negative organism? / B.S. Criswell, J.H. Marston, W.A. Stenback [et al.] // *Canadian Journal of Microbiology*. – 1971. – Vol. 17. – № 7. – P. 865–869.

149. Hallmarks of bacterial vaginosis / D.C. Pérez-Ibave, C.H. Burciaga-Flores, X. García-Mejía [et al.] // *Diagnostics*. – 2025. – Vol. 15. – № 9. – Article 1090.

150. High global burden and costs of bacterial vaginosis: a systematic review and meta-analysis / K. Peebles, J. Velloza, J.E. Balkus [et al.] // *Sexually Transmitted Diseases*. – 2019. – Vol. 46. – № 5. – P. 304–311.

151. Hill, G.B. Bacteriology of the vagina / G.B. Hill, D.A. Eschenbach, K.K. Holmes // *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology. Supplementum*. – 1984. – Vol. 86. – P. 23–39.

152. Høiby, N.A. Short history of microbial biofilms and biofilm infections / N.A. Høiby // *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica*. — 2017. — Vol. 125. — № 4. — P. 272–275.

153. Host-pathogen interactions during female genital tract infections / M. Pekmezovic, S. Mogavero, J.R. Naglik, B. Hube // *Trends in Microbiology*. – 2019. – Vol. 27. – № 12. – P. 982–996.

154. Hyaluronidase: an overview of its properties, applications, and side effects / H. Jung // *Archives of Plastic Surgery*. – 2020. – Vol. 47. – № 4. – P. 297–300.

155. Identification and characterization of novel endolysins targeting *Gardnerella vaginalis* biofilms to treat bacterial vaginosis / S. Arroyo-Moreno, M. Cummings, D.B. Corcoran [et al.] // *NPJ Biofilms and Microbiomes*. – 2022. – Vol. 8. – № 1. – Article 29.

156. Identification, quantification and subtyping of *Gardnerella vaginalis* in noncultured clinical vaginal samples by quantitative PCR / S.V. Balashov, E. Mordechai, M.E. Adelson, S.E. Gyax // *Journal of Medical Microbiology*. – 2014. – Vol. 63. – № 2. – P. 162–175.

157. Impact of oral metronidazole treatment on the vaginal microbiota and correlates of treatment failure / M.C. Verwijs, S.K. Agaba, A.C. Darby, J.H.H.M. van de Wijgert // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2020. – Vol. 222. – № 2. – Article 157.e1–157.e13.

158. Inhibitory activity of thymol on native and mature *Gardnerella vaginalis* biofilms: in vitro study / P.C. Braga, M. Dal Sasso, M. Culici, A. Spallino // *Arzneimittelforschung*. – 2010. – Vol. 60. – № 11. – P. 675–681.

159. In vitro bacterial vaginosis biofilm community manipulation using endolysin therapy / W. Johnston, A. Ware, W.F. Kuiters [et al.] // *Biofilm*. – 2022. – Vol. 5. – Article 100101.

160. Ismat, S. Comparison of efficacy of 2% clindamycin vaginal cream and oral metronidazole for management of bacterial vaginosis in non-pregnant females / S. Ismat, A. Kazi, P. Aslam // *Medical Forum*. – 2021. – Vol. 32. – № 1. – P. 136–139.

161. Ison, C.A. Validation of a simplified grading of Gram stained vaginal smears for use in genitourinary medicine clinics / C.A. Ison, P.E. Hay // *Sexually Transmitted Infections*. – 2002. – Vol. 78. – № 6. – P. 413–415.

162. Javed, A. Bacterial vaginosis: An insight into the prevalence, alternative treatments regimen and its associated resistance patterns / A. Javed, F. Parvaiz, S. Manzoor // *Microbial Pathogenesis*. – 2019. – Vol. 127. – P. 21–30.

163. Kenyon, C. The global epidemiology of bacterial vaginosis: a systematic review / C. Kenyon, R. Colebunders, T. Crucitti // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2013. – Vol. 209. – № 6. – P. 505–523.

164. Kwon, M.S. Host and microbiome interplay shapes the vaginal microenvironment / M.S. Kwon, H.K. Lee // *Frontiers in Immunology*. – 2022. – Vol. 13. – Article 919728.

165. Lactic acid-containing products for bacterial vaginosis and their impact on the vaginal microbiota: A systematic review / E.L. Plummer, C.S. Bradshaw, M. Doyle [et al.] // *Public Library of Science ONE*. – 2021. – Vol. 16. – № 2. – Article e0246953.

166. Lactic acid gel versus metronidazole for recurrent bacterial vaginosis in women aged 16 years and over: the VITA RCT / L. Armstrong-Buisseret, C. Brittain, J. Kai [et al.] // *Health Technology Assessment*. – 2022. – Vol. 26. – № 2. – P. 1–170.

167. *Lactobacillus iners* and genital health: molecular clues to an enigmatic vaginal species / J.B. Holm, K.A. Carter, J. Ravel, R.M. Brotman // *Current Infectious Disease Reports*. – 2023. – Vol. 25. – № 4. – P. 67–75.

168. *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus casei* affect various stages of *Gardnerella* species biofilm formation / Y. He, R. Na, X. Niu, B. Xiao, H. Yang // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2021. – Vol. 11. – Article 568178.

169. Leopold, S. Heretofore undescribed organism isolated from the genitourinary system / S. Leopold // *U.S. Armed Forces Medical Journal*. – 1953. – Vol. 4. – P. 263–266.

170. Lewis, A.L. Roles of the vagina and the vaginal microbiota in urinary tract infection: evidence from clinical correlations and experimental models / A.L. Lewis, N.M. Gilbert // *GMS Infectious Diseases*. – 2020. – Vol. 8. – Article Doc02.

171. Male-Partner Treatment to Prevent Recurrence of Bacterial Vaginosis / L.A. Vodstrcil, E.L. Plummer, C.K. Fairley [et al.] // *The New England Journal of Medicine*. – 2025. – Vol. 392. – № 10. – P. 947–957.

172. Marshall, A.O. Managing recurrent bacterial vaginosis: insights for busy providers / A.O. Marshall // *Sexual Medicine Reviews*. – 2015. – Vol. 3. – № 2. – P. 88–92

173. Masoudi, M.A. Comparison of the efficacy of metronidazole vaginal gel and *Myrtus* (*Myrtus communis*) extract combination and metronidazole vaginal gel alone in the treatment of recurrent bacterial vaginosis / M. Masoudi, M. Rafieian Kopaei, S. Miraj // *Avicenna Journal of Phytomedicine*. – 2017. – Vol. 7. – № 2. – P. 129–136.

174. Mechanisms of *S. agalactiae* promoting *G. vaginalis* biofilm formation leading to recurrence of BV / M. Li, Z. Zeng, X. Wang [et al.] // *NPJ Biofilms and Microbiomes*. – 2024. – Vol. 10. – № 1. – Article 138.

175. Microbiotoxicity: antibiotic usage and its unintended harm to the microbiome / A.A. Theodosiou, C.E. Jones, R.C. Read, D. Bogaert // *Current Opinion in Infectious Diseases*. – 2023. – Vol. 36. – № 5. – P. 371–378.

176. Microscopic observation of bacteria: review highlighting the use of environmental SEM / L. Bergmans, P. Moisiadis, P. Van Meerbeek [et al.] // *International Endodontic Journal*. – 2005. – Vol. 38. – № 11. – P. 775–788.

177. Mitchell, C.M. Assessment and treatment of vaginitis / C.M. Mitchell // *Obstetrics and Gynecology*. – 2024. – T. 144. – № 6. – P. 765–781.

178. Molecular Diagnosis of Bacterial Vaginosis: an Update / J.S. Coleman, C.A. Gaydos // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2018. – Vol. 56. – № 9. – Article e00342-18.

179. Molecular diagnosis of vaginitis: comparing quantitative PCR and microbiome profiling approaches to current microscopy scoring / T. Lynch, G. Peirano, T. Lloyd [et al.] // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2019. – Vol. 57. – Article e00300-19.

180. Multi-omics of the gut microbial ecosystem in inflammatory bowel diseases / J. Lloyd-Price, C. Arze, A.N. Ananthakrishnan [et al.] // *Nature*. – 2019. – Vol. 569. – P. 655–662.

181. Murshid, R.M. Microbial vaginosis and its relation to single or multi-species biofilm in Iraqi women: clinical and microbiological study / R.M. Murshid, M.T.S. Al-Ouqaili, B.A.J. Kanaan // *Pakistan Journal of Biological Sciences*. – 2024. – Vol. 27. – № 8. – P. 404–412.

182. Muzny, C.A. The role of antimicrobial resistance in refractory and recurrent bacterial vaginosis and current recommendations for treatment / C.A. Muzny, J.D. Sobel // *Antibiotics (Basel)*. – 2022. – Vol. 11. – № 4. – Article 500.

183. Muzny, C.A. Understanding and preventing recurring bacterial vaginosis: important considerations for clinicians / C.A. Muzny, J.D. Sobel // *International Journal of Women's Health*. – 2023. – Vol. 15. – P. 1317–1325.

184. Oral metronidazole versus clindamycin to treat bacterial vaginosis in high risk pregnancies for preterm labor / E. Yefet, S. Soltsman, A. Narane [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2023. – Vol. 228. – P. S299–S300.

185. Payne, D.E. Emerging interactions between matrix components during biofilm development / D.E. Payne, B.R. Boles // *Current Genetics*. – 2016. – Vol. 62. – № 1. – P. 137–141.

186. Piot, P. Gardnerella, Streptobacillus, Spirillum and Calymmatobacterium // *Manual of clinical microbiology*. – 5th ed. / ed. by A. Balows. – Washington: American Society for Microbiology, 1991. – P. 483–487.

187. Plummer, E.L. Unravelling the vaginal microbiome, impact on health and disease / E.L. Plummer, L.A. Vodstrcil, C.S. Bradshaw // *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology*. – 2024. – Vol. 36. – № 5. – P. 338–344.

188. Polymicrobial consortia in the pathogenesis of biofilm vaginosis visualized by FISH. Historic review outlining the basic principles of the polymicrobial infection theory / A. Swidsinski, R. Amann, A. Guschin [et al.] // *Microbes and Infection*. – 2024. – Vol. 26. – № 8. – Article 105403.

189. Polymicrobial Gardnerella biofilm resists repeated intravaginal antiseptic treatment in a subset of women with bacterial vaginosis: a preliminary report / A. Swidsinski, V. Loening-Baucke, S. Swidsinski, H. Verstraelen // *Archives of Gynecology and Obstetrics*. – 2015. – Vol. 291. – P. 605–609.

190. Preclinical data on the Gardnerella-specific endolysin PM-477 indicate its potential to improve the treatment of bacterial vaginosis through enhanced biofilm removal and avoidance of resistance / C. Landlinger, V. Oberbauer, L. Podpera Tisakova [et al.] // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2022. – Vol. 66. – № 5. – Article e02319-21.

191. Prevalence of Gardnerella vaginalis infection and antibiotic resistance pattern of isolates of gynecology clinic patients at Shahriar Noor Hospital from January to June 2020 by PCR and culture methods / S. Rashidifar, N. Harzandi, S. Honarmand Jahromi, M.J. Gharavi // *Iranian Journal of Microbiology*. – 2023. – Vol. 15. – № 4. – P. 513–520.

192. Probiotics for the treatment of women with bacterial vaginosis: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials / C. Li, T. Wang, Y. Li [et al.] // *European Journal of Pharmacology*. – 2019. – Vol. 864. – Article 172660.

193. Proteome-wide prediction of bacterial carbohydrate-binding proteins as a tool for understanding commensal and pathogen colonisation of the vaginal microbiome / F. Bonnardel, S.M. Haslam, A. Dell [et al.] // *NPJ Biofilms and Microbiomes*. – 2021. – Vol. 7. – Article 49.

194. Qin, H. Research progress on the correlation between Gardnerella typing and bacterial vaginosis / H. Qin, B. Xiao // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2022. – Vol. 12. – Article 858155.

195. Quantitation of all four *Gardnerella vaginalis* clades detects abnormal vaginal microbiota characteristic of bacterial vaginosis more accurately than putative *G. vaginalis* sialidase A gene count / E. Shipitsyna, A. Krysanova, G. Khayrullina [et al.] // *Molecular Diagnosis & Therapy*. – 2019. – Vol. 23. – P. 139–147.

196. Rapid and profound shifts in the vaginal microbiota following antibiotic treatment for bacterial vaginosis / B.T. Mayer, S. Srinivasan, T.L. Fiedler [et al.] // *Journal of Infectious Diseases*. – 2015. – Vol. 212. – № 5. – P. 793–802.

197. Rather, M.A. Microbial biofilm: formation, architecture, antibiotic resistance, and control strategies / M.A. Rather, K. Gupta, M. Mandal // *Brazilian Journal of Microbiology*. – 2021. – Vol. 52. – P. 1701–1718.

198. Restoring vaginal microbiota: biological control of bacterial vaginosis. A prospective case-control study using *Lactobacillus rhamnosus* BMX 54 as adjuvant treatment against bacterial vaginosis / N. Recine, E. Palma, L. Domenici [et al.] // *Archives of Gynecology and Obstetrics*. – 2016. – Vol. 293. – № 1. – P. 101–107.

199. Reyn, A. An electron microscope study of thin sections of *Haemophilus vaginalis* (Gardner and Dukes) and some possibly related species / A. Reyn, A. Birch-Andersen, S.P. Lapage // *Canadian Journal of Microbiology*. – 1966. – Vol. 12. – № 6. – P. 1125–1136.

200. Safety and efficacy of an intravaginal prebiotic gel in the prevention of recurrent bacterial vaginosis: a randomized double-blind study / I. Coste, P. Judlin, J.P. Lepargneur, S. Bou-Antoun // *Obstetrics and Gynecology International*. – 2012. – Article 147867.

201. Savicheva, A.M. Molecular Testing for the Diagnosis of Bacterial Vaginosis / A.M. Savicheva // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 25. – № 1. – Article 449.

202. Schwebke, J.R. Role of *Gardnerella vaginalis* in the pathogenesis of bacterial vaginosis: a conceptual model / J.R. Schwebke, C.A. Muzny, W.E. Josey // *Journal of Infectious Diseases*. – 2014. – Vol. 210. – № 3. – P. 338–343.

203. Sequence comparison of vaginolysin from different *Gardnerella* species / E.M. Garcia, M.G. Serrano, L. Edupuganti [et al.] // *Pathogens*. – 2021. – Vol. 10. – № 2. – Article 86.

204. Simões, M. Species association increases biofilm resistance to chemical and mechanical treatments / M. Simões, L.C. Simões, M.J. Vieira // *Water Research*. – 2009. – Vol. 43. – № 1. – P. 229–237.

205. Six bacterial vaginosis-associated species can form an in vitro and ex vivo polymicrobial biofilm that is susceptible to *Thymbra capitata* essential oil / A.S. Rosca, J. Castro, L.G.V. Sousa [et al.] // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2022. – Vol. 12. – Article 824860.

206. Scott, T.G. Electron microscopy of adhesive interactions between *Gardnerella vaginalis* and vaginal epithelial cells, McCoy cells and human red blood cells / T.G. Scott, B. Curran, C.J. Smyth // *Journal of General Microbiology*. – 1989. – Vol. 135. – № 3. – P. 475–480.

207. Screening and characterization of vaginal fluid donations for vaginal microbiota transplantation / L.J. Yockey, F.A. Hussain, A. Bergerat [et al.] // *Scientific Reports*. – 2022. – Vol. 12. – № 1. – Article 17948.

208. Sobel, J.D. Bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis pathophysiologic interrelationship / J.D. Sobel, Y.S. Vempati // *Microorganisms*. – 2024. – Vol. 12. – № 1. – Article 108.

209. Sousa, L.G.V. Fighting polymicrobial biofilms in bacterial vaginosis / L.G.V. Sousa, S.A. Pereira, N. Cerca // *Microbial Biotechnology*. – 2023. – Vol. 16. – № 7. – P. 1423–1437.

210. Study of the Vaginal Microbiota in Healthy Women of Reproductive Age / M.C. Alonzo Martínez, E. Cazorla, E. Cánovas [et al.] // *Microorganisms*. – 2021. – Vol. 9. – № 5. – Article 1069.

211. Surapaneni, S. Recurrent bacterial vaginosis: an unmet therapeutic challenge. Experience with a combination pharmacotherapy long-term suppressive regimen / S. Surapaneni, R. Akins, J.D. Sobel // *Sexually Transmitted Diseases*. – 2021. – Vol. 48. – № 10. – P. 761–765.

212. Susceptibility of bacterial vaginosis (BV)-associated bacteria to secnidazole compared to metronidazole, tinidazole and clindamycin / M.A.B. Petrina, L.A. Cosentino, L.K. Rabe, S.L. Hillier // *Anaerobe*. – 2017. – Vol. 47. – P. 115–119.

213. Swidsinski, S. Bacterial vaginosis–vaginal polymicrobial biofilms and dysbiosis / S. Swidsinski, W.M. Moll, A. Swidsinski // *Deutsches Ärzteblatt International*. – 2023. – Vol. 120. – № 20. – P. 347–354.

214. Synthetic bacterial consortia transplantation attenuates vaginal inflammation and modulates the immune response in a mouse model of *Gardnerella vaginalis*-induced bacterial vaginosis / Y. Liu, L. He, Y. Hu [et al.] // *Heliyon*. – 2024. – Vol. 10. – № 20. – Article e38218

215. Targeting microbial biofilms using Ficin, a nonspecific plant protease / D.R. Baidamshina, E.Y. Trizna, M.G. Holyavka [et al.] // *Scientific Reports*. – 2017. – Vol. 7. – Article 46068.

216. Taylor-Robinson, D. The bacteriology of *Gardnerella vaginalis* / D. Taylor-Robinson // *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology. Supplementum*. – 1984. – Vol. 86. – P. 41–55.

217. The association of *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* with bacterial vaginosis and recurrence after oral metronidazole therapy / C.S. Bradshaw, S.N. Tabrizi, C.K. Fairley [et al.] // *Journal of Infectious Diseases*. – 2006. – Vol. 194. – № 6. – P. 828–836.

218. The bovhyluronidase azoximer (Longidaza®) disrupts *Candida albicans* and *Candida albicans*-bacterial mixed biofilms and increases the efficacy of antifungals / A. Gatina, E. Trizna, A. Kolesnikova [et al.] // *Medicina (Kaunas)*. – 2022. – Vol. 58. – № 12. – Article 1710.

219. The effect of *Calendula officinalis* versus metronidazole on bacterial vaginosis in women: a double-blind randomized controlled trial / Z. Pazhohideh, S. Mohammadi, N. Bahrami [et al.] // *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. – 2018. – Vol. 9. – № 1. – P. 15–19.

220. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases / C. Chen, X. Song, W. Wei [et al.] // *Nature Communications*. – 2017. – Vol. 8. – № 1. – Article 875.

221. The role of lactic acid production by probiotic *Lactobacillus* species in vaginal health / G. Tachedjian, M. Aldunate, C.S. Bradshaw, R.A. Cone // *Research in Microbiology*. – 2017. – Vol. 168. – № 9–10. – P. 782–792.

222. The vaginal microbiome in women of reproductive age with healthy weight versus overweight/obesity / N.G. Allen, L. Edupuganti, D.J. Edwards [et al.] // *Obesity (Silver Spring)*. – 2022. – Vol. 30. – № 1. – P. 142–152.

223. The vaginal microbiome: II. Vaginal dysbiotic conditions / A. Lev-Sagie, F. De Seta, H. Verstraelen [et al.] // *Journal of Lower Genital Tract Disease*. – 2022. – Vol. 26. – № 1. – P. 79–84.

224. The vaginal microbiome: V. Therapeutic modalities of vaginal microbiome engineering and research challenges / P. Vieira-Baptista, F. De Seta, H. Verstraelen [et al.] // *Journal of Lower Genital Tract Disease*. – 2022. – Vol. 26. – № 1. – P. 99–104.

225. The vaginal microbiota: what have we learned after a decade of molecular characterization? / J.H. van de Wiggert, H. Borgdorff, R. Verhelst [et al.] // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9. – № 8. – Article e105998.

226. Treatment of bacterial vaginosis: a comparison of oral metronidazole, metronidazole vaginal gel, and clindamycin vaginal cream / D.G. Ferris, M.S. Litaker, L. Woodward [et al.] // *Journal of Family Practice*. – 1995. – Vol. 41. – № 5. – P. 443–449.

227. Unraveling *Gardnerella vaginalis* surface proteins using cell shaving proteomics / E. Marín, A. Haesaert, L. Padilla [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2018. – Vol. 9. – Article 975.

228. Use of locally delivered dequalinium chloride in the treatment of vaginal infections: a review / W. Mendling, E.R. Weissenbacher, S. Gerber [et al.] // *Archives of Gynecology and Obstetrics*. – 2016. – Vol. 293. – № 3. – P. 469–484.

229. Utility of Amsel criteria, Nugent score, and quantitative PCR for *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, and *Lactobacillus* spp. for diagnosis of bacterial vaginosis in human immunodeficiency virus-infected women / B.E. Sha, H.Y. Chen, Q.J.

Wang [et al.] // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2005. – Vol. 43. – № 9. – P. 4607–4612.

230. Vaginal microbiome: considerations for reproductive health / C. Chopra, I. Bhushan, M. Mehta [et al.] // *Future Microbiology*. – 2022. – Vol. 17. – P. 1501–1513.

231. Vaginal microbiome in early pregnancy and subsequent risk of spontaneous preterm birth: a case-control study / N. Tabatabaei, A.M. Eren, L.B. Barreiro [et al.] // *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. – 2019. – Vol. 126. – № 3. – P. 349–358.

232. Vaginal microbiome transplantation in women with intractable bacterial vaginosis / A. Lev-Sagie, D. Goldman-Wohl, Y. Cohen [et al.] // *Nature Medicine*. – 2019. – Vol. 25. – № 10. – P. 1500–1504.

233. Verstraelen, H. The biofilm in bacterial vaginosis: implications for epidemiology, diagnosis and treatment / H. Verstraelen, A. Swidsinski // *Current Opinion in Infectious Diseases*. – 2013. – Vol. 26. – № 1. – P. 86–89.

234. Visualization of adherent microorganisms using different techniques / C. Hannig, M. Follo, E. Hellwig, A. Al-Ahmad // *Journal of Medical Microbiology*. – 2010. – Vol. 59. – № 1. – P. 1–7.

235. World Health Organization: official website. Bacterial vaginosis (WHO, 2024) [Electronic resource] – URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/bacterial-vaginosis> (дата обращения 25.07.2024).

236. Yarbrough, V.L. Antimicrobial peptides in the female reproductive tract: a critical component of the mucosal immune barrier with physiological and clinical implications / V.L. Yarbrough, S. Winkle, M.M. Herbst-Kralovetz // *Human Reproduction Update*. – 2015. – Vol. 21. – № 3. – P. 353–377.

237. Zinnemann, K. The taxonomic position of *Haemophilus vaginalis* (*Corynebacterium vaginale*) / K. Zinnemann, G. Turner // *Journal of Pathology and Bacteriology*. – 1963. – Vol. 85. – P. 213–219.

ПРИЛОЖЕНИЕ А. Симптоматический опросник

Протокол	Longidaza-BacVag
Центр №	
Название центра:	
Главный исследователь	Спивак Леонид Григорьевич
Соисследователь	Россоловская Ксения Антоновна

Данные симптоматического опросника субъекта исследования

Фамилия, имя, отчество		
Инициалы субъекта исследования		
Присутствие/отсутствие признака (да/нет)	Комментарии	
Выделения из влагалища белого/бело-серого цвета		
Неприятный запах из влагалища («рыбный», «тухлый», «несвежий»)		
Зуд наружных половых органов/во влагалище		
Жжение наружных половых органов/во влагалище		
Диспареуния		
Дизурия		

Соисследователь (ФИО): Россоловская Ксения Антоновна

Подпись: _____ Дата: _____