

Исследование *in vitro* чувствительности биоплёнок к комплексу энзимов, входящих в состав препарата Вобэнзим

*К. В. ШАЛЕПО^{1,2}, Е. В. СПАСИБОВА^{1,2}, О. В. БУДИЛОВСКАЯ^{1,2}, А. А. КРЫСАНОВА^{1,2}, Т. А. ХУСНУТДИНОВА^{1,2}, А. С. ЧЕБЕРЯ^{1,3}, А. Р. ЧЕБЕРЯ^{1,3}, А. М. САВИЧЕВА^{1,2}

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта», Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

³ Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Актуальность. Бактериальные плёнки являются маркером хронических рецидивирующих инфекций. Биоплёнки на слизистых оболочках блокируют воспалительную реакцию макроорганизма, подавляя активность иммунных клеток, и тем самым, позволяют микроорганизмам достигать высоких концентраций. В настоящее время проводятся исследования по поиску препаратов, способных воздействовать на биоплёнки. Ферменты, особенно их комплекс, представляют собой субстанции, способные разрушать бактериальные плёнки. **Цель исследования** — определение *in vitro* чувствительности бактериальных плёнок, сформированных вагинальными микроорганизмами, к комплексу энзимов, входящих в состав препарата Вобэнзим®. **Материал и методы.** В исследование включены 72 клинических изолята чистых культур микроорганизмов, выделенных из вагинального биотопа: *Gardnerella vaginalis* (3), *Enterococcus faecalis* (9), *Escherichia coli* (18), *Klebsiella pneumoniae* (15), *Klebsiella aerogenes* (3), *Lactobacillus crispatus* (3), *Streptococcus pyogenes* (3), *Acinetobacter baumannii* (3), *Staphylococcus aureus* (3), *Candida albicans* (3), *Enterococcus faecium* (3), *Streptococcus agalactiae* (3), *Lactobacillus acidophilus* (3). Биоплёнкообразование бактерий определяли в полистироловых плоскодонных планшетах по модифицированному методу Christensen и соавт. (1985 г.). В исследовании использовали таблетированный препарат Вобэнзим. Оболочку таблетки отмывали физраствором, саму таблетку растворяли в 10 мл 0,9% NaCl и использовали для исследования *in vitro*. Результат определяли с помощью ридера на спектрофотометре с определением оптической плотности (ОП) сформированной биоплёнки. Считали, что препарат действовал на бактериальную плёнку при снижении ОП более чем в три раза. **Результаты.** При исследовании *in vitro* выявлены клинические изоляты бактерий, образующие биоплёнки разной степени выраженности. Из 72 клинических изолятов бактерий 38 образовывали биоплёнки. Отмечено выраженное действие комплекса энзимов, входящих в состав препарата Вобэнзим, на биоплёнки, сформированные такими микроорганизмами, как *A. baumannii*, *S. aureus*, *G. vaginalis* и *E. faecalis*. **Заключение.** Препарат Вобэнзим оказывает эффективное разрушающее действие на биоплёнки, образованные разными микроорганизмами, в том числе *Gardnerella vaginalis*, частыми возбудителями бактериального вагиноза, а также стафилококки, и энтерококки, возбудителей аэробного (неспецифического вагинита).

Ключевые слова биоплёнки микроорганизмов; матрикс; энзимы; Вобэнзим

Для цитирования: Шалепо К. В., Спасибова Е. В., Будиловская О. В., Крысанова А. А., Хуснутдинова Т. А., Чеберя А. С., Чеберя А. Р., Савичева А. М. Исследование *in vitro* чувствительности биоплёнок к комплексу энзимов, входящих в состав препарата Вобэнзим. *Антибиотики и химиотерапия*. 2024; 69 (5–6): 19–27. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-5-6-19-27>. EDN: SRRBKQ.

In vitro Study of Biofilm Sensitivity of to the Enzyme Complex Included in Wobenzym

*KIRA V. SHALEPO^{1,2,3}, ELENA V. SPASIBOVA^{1,2,3}, OLGA V. BUDILOVSKAYA^{1,2,3}, ANNA A. KRYSANOVA^{1,2,3}, TATIANA A. KHUSNUTDINOVA^{1,2,3}, ALEXANDRA S. CHEBERYA^{1,3}, ALEXANDR R. CHEBERYA^{1,3}, ALEVTINA M. SAVICHEVA^{1,2,3}

¹ D. O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia

² Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia

³ S. M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

Abstract

Background. Bacterial films are a marker of chronic recurrent infections. Biofilms on mucous membranes block the inflammatory response of the macroorganism, suppressing the activity of immunocytes, and thereby allow microorganisms to reach high concentrations. Currently, research is being conducted to find medications that can act on biofilms. Enzymes, especially

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: 2474151@mail.ru



*Correspondence to:
E-mail: 2474151@mail.ru

EDN: SRRBKQ



their complexes, are substances that can destroy bacterial films. **Objective.** To determine *in vitro* the sensitivity of bacterial biofilms formed by vaginal microorganisms to the complex of enzymes included in Wobenzym. **Materials and methods.** The study included 72 clinical isolates of pure microorganism cultures isolated from the vaginal biotope: *Gardnerella vaginalis* (3), *Enterococcus faecalis* (9), *Escherichia coli* (18), *Klebsiella pneumoniae* (15), *Klebsiella aerogenes* (3), *Lactobacillus crispatus* (3), *Streptococcus pyogenes* (3), *Acinetobacter baumannii* (3), *Staphylococcus aureus* (3), *Candida albicans* (3), *Enterococcus faecium* (3), *Streptococcus agalactiae* (3), *Lactobacillus acidophilus* (3). Bacterial biofilm formation was determined in polystyrene flat-bottom plates using a modified method of Christensen et al. (1985). The tablet form of Wobenzym was used in the study. The tablet shell was washed with saline, the tablet itself was dissolved in 10 ml of 0.9% NaCl and used for *in vitro* studies. The result was determined using a reader on a spectrophotometer to determine the optical density (OD) of the formed biofilm. It was believed that the drug acted on the bacterial film, reducing the OD by more than three times. **Results.** An *in vitro* study revealed clinical isolates of bacteria that formed biofilms of varying severity. Of the 72 clinical bacterial isolates, 38 formed biofilms. A pronounced effect of the complex of enzymes included in Wobenzym on biofilms formed by microorganisms such as *A. baumannii*, *S. aureus*, *G. vaginalis* and *E. faecalis* was noted. **Conclusion.** Wobenzym has an effective destructive effect on biofilms formed by various microorganisms, including *G. vaginalis*, common causative agents of bacterial vaginosis, as well as staphylococci and enterococci, causative agents of aerobic (nonspecific) vaginitis. **Conclusion.** The drug Wobenzym has an effective destructive effect on biofilms formed by various microorganisms, including *Gardnerella vaginalis*, common causative agents of bacterial vaginosis, as well as staphylococci and enterococci, causative agents of aerobic (nonspecific vaginitis).

Keywords: biofilms of microorganisms, matrix, enzymes, Wobenzym

For citation: Shalepo K. V., Spasibova E. V., Budilovskaya O. V., Krysanova A. A., Khusnutdinova T. A., Cheberya A. S., Cheberya A. R., Savicheva A. M. *In vitro* study of biofilm sensitivity of the enzyme complex included in Wobenzym. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2024; 69 (5–6): 19–27. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-5-6-19-27>. EDN: SRRBKQ.

Введение

Биоплёнка — структурированный консорциум бактериальных и/или грибковых клеток, прикрепляющихся к биотическим и абиотическим поверхностям с помощью пилей, белков адгезии и капсульных полисахаридов. Бактерии колонизируют биотоп либо свободно, обратимо прикрепляясь к поверхности эпителия (планктон), либо образуя биоплёнку, определяемую наличием бактериальных агрегатов, встроенных в самостоятельно продуцируемый внеклеточный матрикс [1]. Микробные биоплёнки — это способ выживания микроорганизмов в окружающей среде. Они могут покрывать поверхность клеток макроорганизма, а могут находиться и в слизистом слое, выделяемом клетками макроорганизма. Внеклеточный полимерный матрикс, образующий биоплёнку, состоит из различных типов катионных и анионных молекул, таких как гликопротеины, гликолипиды, экзополисахариды, белки и нуклеиновые кислоты [2]. В матрикс биоплёнки могут быть интегрированы компоненты макроорганизма, такие как фибрин, иммуноглобулины или тромбоциты. Часть бактерий непосредственно взаимодействует с поверхностью эпителиальных клеток, часть располагается в слизистом слое. Таким образом, в качестве биоплёнки следует рассматривать всю совокупность перечисленных выше клеточных и неклеточных элементов [3].

В настоящее время большое внимание уделяется изучению генов и белков, необходимых для образования биоплёнок. Недавние исследования показали, что горизонтальный перенос генов микроорганизмов и образование биоплёнок — взаимосвязанные процессы. Эти наблюдения очень важны для понимания адаптации и последующей эволюции бактерий. Скорость горизонтального переноса плазмид обычно выше в сообществах

биоплёнок по сравнению с таковыми в планктонных состояниях. Таким образом, плазмиды содействуют эволюции образования биоплёнок [4].

Восемьдесят процентов инфекций могут быть вызваны микроорганизмами, ассоциированными с биоплёнками [5, 6], а около 90% массы биоплёнки состоит из внеклеточного полимерного вещества — матрикса [7]. Патологические бактериальные плёнки обычно вызывают хронические воспалительные процессы. Это могут быть хронические заболевания: отиты, синуситы, эндокардиты, хронические заболевания лёгких (муковисцидоз), возможна колонизация имплантированных устройств, микробные отложения на протезах и зубах, раневые инфекции. Биоплёночными считают такие заболевания, как болезнь Крона и бактериальный вагиноз [8].

Следует подчеркнуть, что внеклеточный матрикс функционирует как физический барьер для противомикробных препаратов. Бактериальные клетки внутри биоплёнки демонстрируют повышенную клеточную плотность, повышенную реакцию на стресс и снижение метаболической активности, что способствует устойчивости к антибактериальным препаратам. Популяция клеток, называемая «персистерами», может существовать в базальном слое биоплёнки. Персистентные клетки являются неделяющимися клетками со сниженной метаболической активностью, что делает их высокоустойчивыми к противомикробным препаратам и может приводить к рецидивам заболевания после медикаментозного лечения.

Поскольку образование биоплёнок способствует увеличению степени патогенности бактерий и устойчивости к антибиотикам, необходимы определённые стратегии решения этой проблемы [9]: это и различные покрытия для искусственных субстратов для профилактики биообразование, и подходы для разрушения уже сформировавшихся биоплёнок.

Один из вариантов решения этой проблемы — использование комбинированной терапии биоплёночных инфекций вместо монотерапии антибактериальными или противогрибковыми препаратами. Комбинация активных веществ выгодна из-за различного функционирования отдельных компонентов: например, один может быть эффективен против персистентных клеток, а другой — против размножающихся клеток микроорганизмов. Более того, терапия также требует правильного назначения антибиотика с точки зрения дозировки и продолжительности. Всё чаще в качестве дополнения к этиотропной терапии при биоплёночных инфекциях используют ферменты или комплексы, содержащие энзимы. Ферменты, способствующие разрушению существующих биоплёнок, можно разделить на шесть основных групп: трансферазы, оксидоредуктазы, гидролазы, лиазы и лигазы или синтетазы. Связанная с ферментами активность против биоплёнки включает лизис клеток путём разрушения компонентов клеточной мембраны и дестабилизации её прикрепления к твёрдой поверхности. Сахаролитические ферменты, продуцируемые некоторыми бактериальными клетками, разрушают биоплёнку, что приводит к высвобождению бактерий [10]. Ферменты предотвращают выработку адгезинов и образование экзополисахаридов, тем самым предотвращая образование биоплёнки.

Препарат Вобэнзим (Мукос Фарма, Германия) представляет собой кишечнорастворимые таблетки, в состав которых входит комбинация натуральных энзимов, таких как панкреатин 300 прот. Ед., бромелаин 225 FIP Ед., амилаза 50 FIP Ед., папаин 90 FIP Ед., липаза 34 FIP Ед., трипсин 360 FIP Ед., химотрипсин 300 FIP Ед., рутозида тригидрат 50,00 мг., а также вспомогательные вещества: лактозы моногидрат — 149 мг; крахмал прежелатинизированный — 31,3 мг; магния стеарат — 6 мг; стеариновая кислота — 6 мг; кремния диоксид коллоидный безводный — 3 мг; тальк — 1,5 мг. Поступая в организм, энзимы всасываются в тонком кишечнике путём резорбции интактных молекул и, связываясь с транспортными белками крови, попадают в кровоток. В дальнейшем энзимы, мигрируя по сосудистому руслу и накапливаясь в зоне патологического процесса, оказывают иммуномодулирующее, противовоспалительное, фибринолитическое, противоотёчное, антиагрегантное и вторичноанализирующее действие [11].

Цель исследования — определение *in vitro* чувствительности бактериальных плёнок, сформированных вагинальными микроорганизмами, к комплексу энзимов, входящих в состав препарата Вобэнзим.

Материал и методы

В исследование включены 72 клинических изолята чистых культур микроорганизмов, выделенных из вагинального биотопа: *Gardnerella vaginalis* (3), *Enterococcus faecalis* (9), *Escherichia coli* (18), *Klebsiella pneumoniae* (15), *Klebsiella aerogenes* (3), *Lactobacillus crispatus* (3), *Streptococcus pyogenes* (3), *Acinetobacter baumannii* (3), *Staphylococcus aureus* (3), *Candida albicans* (3), *Enterococcus faecium* (3), *Streptococcus agalactiae* (3), *Lactobacillus acidophilus* (3).

Для культивирования, хранения и дальнейшего исследования использовали плотные и жидкие питательные среды: кровяной агар с 5% дефибринированной крови (КА), среда Сабуро (агар и бульон), Триптиказо-соевый агар (ТСА), Триптиказо-соевый бульон (ТСБ), Триптиказо-соевый бульон с 10% глицерина (ТСБ-Г), Сердечно-мозговой бульон (СМБ), агар Мюллера-Хинтон (МХА) простой и с добавлением 5% КА. Идентификацию микроорганизмов проводили методом MALDI-TOF спектрометрии на масс-спектрометре Bruker Microflex (Германия).

Эксперимент был основан на количественном определении биоплёнок в полистироловых плоскостных планшетах по модифицированному методу Christensen и соавт. (1985 г).

Для проведения эксперимента чистую суточную культуру каждого клинического изолята микроорганизмов, выращенных на плотной питательной среде, суспендировали в стерильном физиологическом растворе, достигая мутности 0,5 по McFarland, соответствующей 10^8 КОЕ/мл. Вортифицировали для разрушения ранее существовавших кластеров микробных клеток. Параллельно с этим лунки 24-луночного стерильного полистиролового планшета асептически заполняли 450 мкл питательной среды (ТСБ) с добавлением 1% глюкозы для последующей микроскопии. В каждую лунку вносили по 50 мкл суспензии микроорганизмов в концентрации 10^6 КОЕ/мл. Лунки отрицательного контроля (К-) содержали 500 мкл ТСБ с 1% глюкозы. Планшеты с помещёнными в них микроорганизмами накрывали крышкой и инкубировали 48 ч при 37°C.

После инкубации лунки опорожняли путём отсасывания питательной среды и трёхкратно промывали фосфатно-солевым буфером комнатной температуры (PSB; pH 7,2). Лунки со сформированными биоплёнками и К- заполняли ТСБ и добавляли препарат в двух концентрациях (цельный и в разведении 1:10). Инкубировали 24 ч при 37°C, закрыв крышку планшета.

Одна лунка из помещённых в неё микроорганизмов предназначена для контроля жизнеспособности и чистоты каждой культуры. Из неё проводили высеив на плотную питательную среду, селективную для каждого микроорганизма и инкубировали в течение 24 ч при 37°C. Лунки, промытые фосфатно-солевым буфером, высушивали на воздухе и добавляли 2% генцианвиолет. Окраску осуществляли в течение 15 мин для визуализации биоплёнок. 24-луночные планшеты заполняли 96% этанолом для элюации красителя (вносили 150 мл 96% этанола в каждую лунку и, накрыв крышкой, оставляли на 30 мин при комнатной температуре без встряхивания). Элюент из окрашенных лунок 24-луночного планшета переносили в 96-луночный планшет. После этого измеряли оптическую плотность (ОП) содержимого каждой лунки при 570 нм с помощью ридера.

Интерпретировали результаты следующим образом. Пороговое значение (ПЗ) определяли как три стандартных отклонения выше средней ОП отрицательного контроля. Окончательное значение ОП выражается как среднее значение ОП изолята, уменьшенное на величину порогового значения (рассчитывается для каждого эксперимента отдельно). Если получено отрицательное значение, оно представляется как ноль, любое положительное значение указывает на образование биоплёнки. Иными словами, если ОП бактериальной плёнки была более чем в три раза ниже после внесения препарата, считали, что препарат действовал на бактериальную плёнку.

В исследовании использовали таблетированный препарат Вобэнзим. Оболочку таблетки отмывали физраствором, саму таблетку растворяли в 10 мл 0,9% NaCl и использовали для исследования *in vitro*.

Результаты

В таблице представлены все клинические изоляты микроорганизмов, которые были включены в эксперимент. Полученные результаты представлены в таблице.

Из 72 клинических изолятов микроорганизмов 38 образовывали биоплёнки разной степени плотности. Высокая способность образовывать биоплёнки была у 18 изолятов (все *G. vaginalis* и *K. pneumoniae*, некоторые *E. coli*), что обозначено в таблице как три плюса (+++), 10 изолятов имели среднее биоплёнкообразование (часть штаммов кишечной палочки, энтерококки). Ряд клинических изолятов микроорганизмов (10), такие как *S. aureus*, *A. baumannii*, *E. coli*, *E. faecalis*, обладали слабой способностью образовывать биоплёнки. Тестируемые нами изоляты лактобацилл, дрожжеподобных грибов *C. albicans*, *S. agalactiae*, *S. pyogenes* (34 штамма из 72) биоплёнки не образовывали.

Поэтому в эксперимент по действию препарата Вобэнзим на бактериальные плёнки были включены 38 клинических изолятов биоплёнкообразующих микроорганизмов.

Препарат Вобэнзим подействовал на 12 из 38 изолятов микроорганизмов, образующих биоплёнки. Это все изоляты *A. baumannii*, *S. aureus*, *G. vaginalis* и три из пяти изолятов энтерококков. Следует подчеркнуть, что в основном это были биоплёнки с высокой степенью плотности.

На рисунке представлены графические данные по действию препарата Вобэнзим на бактериальные плёнки.

На рисунке представлены 12 (31,6%) из 38 штаммов микроорганизмов, образующих бактериальные плёнки (*G. vaginalis*, *A. baumannii*, *S. aureus* и *E. faecalis*), на которые подействовал препарат Вобэнзим, т. к. ОП различается с контролем более чем в три раза.

Обсуждение

Проблема биоплёночных инфекций актуальна во всём мире вследствие того, что большинство инфекций рецидивирует, а монотерапия не всегда эффективна. Поиск препаратов, способных разрушать эти плотные структуры, продолжается. И именно ферменты здесь могут играть существенную роль, поскольку биоплёнка может состоять из множества видов бактерий и грибов, окружённых сложной структурой полимеров. Внутри биоплёнки микроорганизмы секретируют защитный матрикс, состоящий из полимеров, включая белки, гликолипиды, полисахариды и ДНК, который защищает бактерии от антибиотиков и обеспечивает устойчивость инфекции. Кроме того, эти гетерогенные бактериальные колонии устойчивы к системным и местным антибиотикам, в основном из-за медленного метаболизма. Ощущение

Действие препарата Вобэнзим на сформированные разными микроорганизмами бактериальные плёнки The effect of Wobenzym on bacterial biofilms formed by various microorganisms

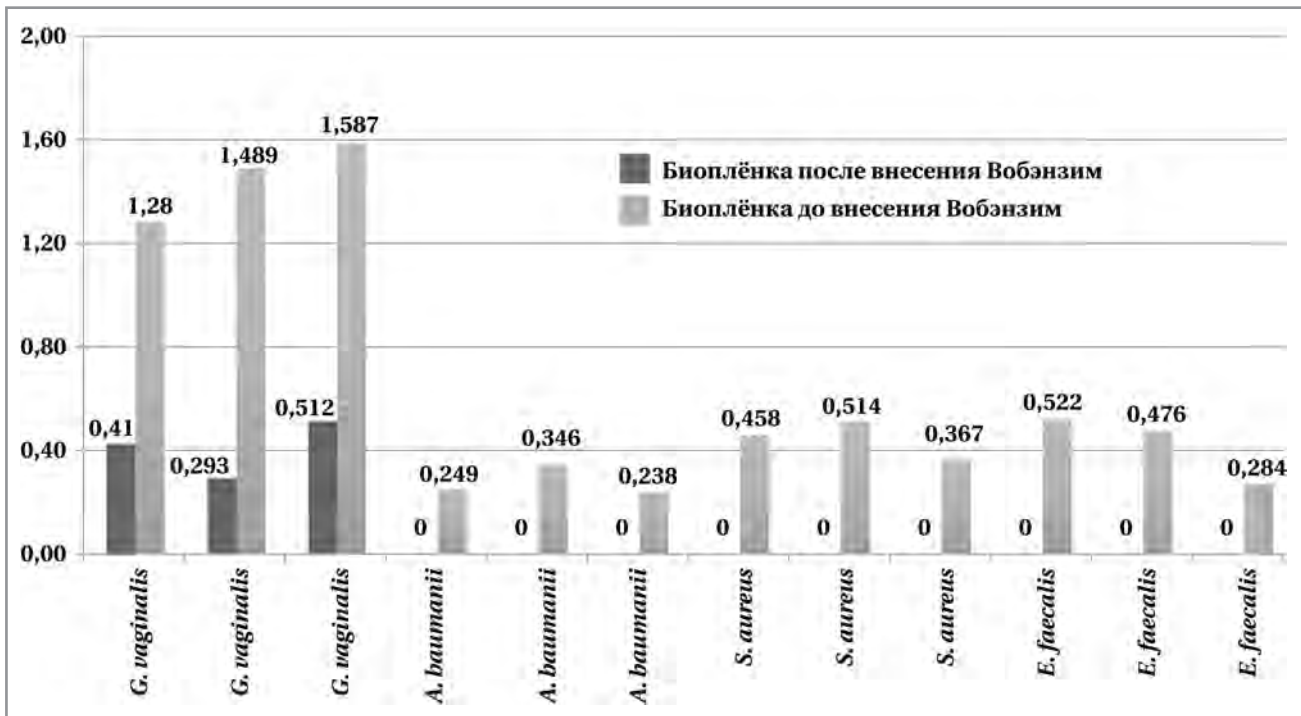
№	Название м/о	ОП	БП	ОП для В	Действие на БП
1.	<i>G. vaginalis</i>	1,283	+++	0,402	+
2.	<i>G. vaginalis</i>	1,489	+++	0,293	+
3.	<i>G. vaginalis</i>	1,587	+++	0,512	+
4.	<i>E. faecalis</i>	0,468	++	0,713	—
5.	<i>E. faecalis</i>	0,488	++	0,805	—
6.	<i>E. faecalis</i>	0,284	+	0	+
7.	<i>E. faecalis</i>	0,522	++	0	+
8.	<i>E. faecalis</i>	0,476	++	0	+
9.	<i>E. coli</i>	0,658	++	0,613	—
10.	<i>E. coli</i>	1,084	+++	1,186	—
11.	<i>E. coli</i>	0,514	+	0,281	—
12.	<i>E. coli</i>	0,743	++	0,752	—
13.	<i>E. coli</i>	0,519	+	0,526	—
14.	<i>E. coli</i>	1,125	+++	1,257	—
15.	<i>E. coli</i>	1,269	+++	1,154	—
16.	<i>E. coli</i>	0,875	++	0,763	—
17.	<i>E. coli</i>	0,516	+	0,645	—
18.	<i>K. pneumoniae</i>	2,048	+++	2,177	—
19.	<i>K. pneumoniae</i>	1,539	+++	1,638	—
20.	<i>K. pneumoniae</i>	1,095	+++	1,490	—
21.	<i>K. pneumoniae</i>	0,915	+++	0,699	—
22.	<i>K. pneumoniae</i>	0,974	++	0,648	—
23.	<i>K. pneumoniae</i>	2,052	+++	2,195	—
24.	<i>K. pneumoniae</i>	1,559	+++	1,269	—
25.	<i>K. pneumoniae</i>	1,195	+++	1,147	—
26.	<i>K. pneumoniae</i>	2,037	+++	1,987	—
27.	<i>K. pneumoniae</i>	1,548	+++	1,358	—
28.	<i>K. pneumoniae</i>	1,122	++	1,198	—
29.	<i>K. pneumoniae</i>	2,157	+++	2,104	—
30.	<i>K. pneumoniae</i>	1,562	+++	1,347	—
31.	<i>K. pneumoniae</i>	1,291	+++	1,168	—
32.	<i>K. pneumoniae</i>	1,074	++	0,985	—
33.	<i>A. baumannii</i>	0,238	+	0	+
34.	<i>A. baumannii</i>	0,249	+	0	+
35.	<i>A. baumannii</i>	0,346	+	0	+
36.	<i>S. aureus</i>	0,367	+	0	+
37.	<i>S. aureus</i>	0,458	+	0	+
38.	<i>S. aureus</i>	0,514	+	0	+

Примечание. ОП — оптическая плотность; БП — бактериальная плёнка; «+» — наличие биоплёнки и её плотность (от + до +++); В — препарат Вобэнзим.

Note. ОП — optical density; БП — bacterial biofilm; «+» — presence of biofilm and its density (from + to +++); В — Wobenzym.

кворума — это ещё один процесс, который приводит к устойчивости к антибиотикам [12].

Традиционно клинические лаборатории микробиологии культивируют чистые культуры планктонных форм микроорганизмов и тестируют их на чувствительность к антибиотикам. Однако в последнее время образование биоплёнок в медицинской микробиологии стало рассматриваться как признак патогенности микроорганизмов, способных привести к хронизации процесса и повышенной антибиотикорезистентности. Этой способностью могут обладать некоторые штаммы



Графическое изображение действия препарата Вобэнзим на бактериальные плёнки микроорганизмов.
Graphic representation of the effect of Wobenzym on bacterial biofilms.

известных бактерий. J. W. Costerton [7] предположил, что свойства микроорганизмов в биоплёнках могут отличаться от свойств планктонных форм бактерий. На примере *Pseudomonas* spp. у больных муковисцидозом N. Нøiby [13] предположил, что агрегации *Pseudomonas* в мокроте хронических больных отличаются от одиночных планктонных форм, а входящий в состав клеточной стенки этих бактерий гликокаликс по структуре подобен гликокаликсу других бактерий, образующих биоплёнку. Оценка биоплёнок в клинических условиях требует сложных методов. М. Magana и соавт. [14] подчёркивают необходимость комплексных подходов к характеристике, мониторингу и количественной оценке биоплёнок, а также созданию эффективных инструментов их визуализации.

Существуют разные методы исследования действия препаратов на биоплёнки. Нами использован модифицированный и адаптированный метод, описанный Christensen и соавт. ещё в 1985 г. Он основан на способности бактерий прикрепляться к поверхности и образовывать биоплёнку на полистироловых планшетах. Планктонные формы бактерий в процессе окрашивания 2% генцианвиолетом отмываются от дна планшета. Бактерии, образующие биоплёнку, плотно прикрепляются к поверхности планшета и окрашиваются. Элюированный с помощью этанола краситель количественно оценивается с помощью спектрофотометра.

Лечение биоплёнкообразующих инфекций может быть направлено на подавление различных механизмов плёнокообразования. В профилактических целях терапия должна быть направлена на подав-

ление адгезии микроорганизмов к поверхности клеток и формирования матрикса. Кроме того, антимикробные препараты могут быть использованы для подавления размножения и расселения микроорганизмов, образующих биоплёнку, а также для интенсификации проникновения бактерицидных веществ внутрь сформированной биоплёнки [14].

В настоящее время большинство диагностических методов ограничено, равно как и доступ к областям глубоких тканей, где биоплёнка может находиться в состоянии покоя, избегая обнаружения [15]. Устойчивость к противомикробным препаратам опосредована наличием внеклеточного матрикса, что делает обычные лекарства неэффективными. Этот эффект привёл к переходу от традиционных методов лечения к использованию в качестве терапевтических мер других агентов, таких как вторичные метаболиты растений, антимикробные пептиды и ферменты [16]. Новые терапевтические стратегии включают комбинации ферментов, нацеленных на различные компоненты матрикса, окружающие прикрепившиеся колонии биоплёнки, для комплексного подхода к разрушению устоявшейся биоплёнки [15].

В современном мире всё чаще возникают проблемы с терапией заболеваний, связанных с условно-патогенными бактериями, такими как *G. vaginalis*, *A. baumannii*, *S. aureus* и *E. faecalis*, связанные с быстрым появлением признаков множественной лекарственной устойчивости и трудноудаляемыми биоплёнками, образующимися внутри хозяина, организмов, а также на поверхностях больничного оборудования и про-

тезов. Эти особенности в сочетании с развитой естественной устойчивостью к антибиотикам привели к заметному увеличению вероятности негативных исходов, формированию персистирующей инфекции и распространению внутрибольничных инфекций.

В нашем исследовании *in vitro* было показано, что именно эти микроорганизмы (*A. baumannii*, *S. aureus*, *G. vaginalis* и *E. faecalis*) способны образовывать выраженные бактериальные плёнки, а препарат Вобэнзим подействовал на 12 изолятов этих микроорганизмов. Эти данные подтверждаются исследованиями, проводимыми в различных странах при использовании различных комбинаций энзимов.

Объяснение тому, что не все биоплёнки были разрушены, может быть в следующем. В основном препарат подействовал на плёнки, образованные грамположительными бактериями. А у грамотрицательных и грамположительных бактерий существуют различия как в их физиологии, геномах и внешних клеточных оболочках, так и в способности образовывать биоплёнки. Именно различия в липополисахаридах клеточной стенки грамотрицательных бактерий и гликопротеинах грамположительных бактерий влияют на образование биоплёнок. У грамотрицательных бактерий липополисахариды (ЛПС) или вариация в разных его частях играют ключевую роль в образовании биоплёнки. Аналогичным образом, ЛПС в *E. coli* были связаны с биоплёнками [17]. Грамположительные бактерии не имеют внешней мембраны как грамотрицательные бактерии, но эти бактерии производят толстый пептидогликан, который считается неизменным, и поверхностные гликолевые полимеры, которые могут быть разнообразными, как показано на гликополимерах клеточной стенки тейхоевой кислоты в пневмококках [17]. Также было показано, что биоплёнки, образованные разными грам-типами бактерий, разрушаются ферментами, относящимися к разным группам. Протеазы, нуклеазы или феноластворимые модулины, опосредованные поверхностно-активными веществами, могут диспергировать биоплёнки грамположительных бактерий, например, *S. aureus*, а рамнолипиды — *P. aeruginosa* [17]. Более сильные биоплёнки, образованные грамотрицательными бактериями, хуже всего поддаются разрушению. В нашем исследовании *K. pneumoniae* и *E. coli* образовывали выраженную биоплёнку высокой плотности, с большим количеством матрикса, содержащего ЛПС. По-видимому, концентрации ферментов, используемых в эксперименте, для разрушения этой биоплёнки было недостаточно. Тем более, что для опыта *in vitro* одна таблетка препарата растворялась в 10 мл физиологического раствора. По-видимому, для таких исследований необходимо иметь основу препарата в виде самих ферментов.

Нами показано, что в отношении биоплёнок, сформированных такими микроорганизмами, как *A. baumannii*, *S. aureus*, *G. vaginalis* и *E. faecalis* эффективность действия комплекса энзимов, входящих в состав препарата Вобэнзим, составила 86%.

В настоящее время появляются данные, указывающие на образование полимикробных или мультибактериальных биоплёнок (включая грамположительные и грамотрицательные бактерии, например *P. aeruginosa* и *S. aureus*) [17]. А это ещё одно направление будущих исследований.

Исследования по действию ферментов на биоплёнки проводятся давно. Например, было показано, что функции наночастиц оксида цинка в сочетании с панкреатином обладают антибактериальными, антибиоплёночными, антимобильными и антивирулентными свойствами в отношении MRSA. Для снижения токсичности оксида цинка, но увеличения антибактериальной и антибиоплёночной активности, комплекс с панкреатином был более эффективным в разрушении MRSA [18].

Исследовали антибактериальную и антибиоплёночную эффективность фермента липазы против некоторых патогенов человека. Результаты показали высокую антибактериальную эффективность с минимальной бактерицидной концентрацией (МБК) от 20 до 40 мкл/100 мкл против *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* и метициллинорезистентного золотистого стафилококка (MRSA). Интересно, что против тестируемых патогенов наблюдалась значительная антибиоплёночная эффективность с процентами ингибирования 95,3, 74,9, 77,1 и 93,6%, соответственно [19].

В исследовании В. Kalpana и соавт. [20], α -амилаза, полученная из *Bacillus subtilis*, обладала антибиоплёночной активностью против *S. aureus* (MRSA), *P. aeruginosa* и *V. cholerae*. Неочищенный фермент также был эффективен против *S. aureus* и *P. aeruginosa* и разрушал биоплёнки с эффективностью от 51,8 до 73,1%; очищенный фермент снизил образование биоплёнок на 43,8–61,7% [20]. Более сильный антибиоплёночный эффект был обнаружен в работе С. М. Watters и соавт. [21], где человеческую плазму (10%) добавляли в культуру биоплёнки *S. aureus*; α -амилаза была эффективна против как метициллиночувствительных, так и метициллинорезистентных организмов. Работа Р. Molobela и соавт. [22] показала успешное использование α -амилазы из *Bacillus amyloliquefaciens* и глюкоамилазы из *Aspergillus niger* для воздействия на флуоресценцию грамотрицательных биоплёнкообразующих псевдомонад. Были проведены микроскопические исследования для оценки уменьшения биоплёнки и способности фермента разрушать внеклеточный матрикс и диспергировать клетки, что приводило к уменьшению биоплёнки [22].

Однако проводимые ранее исследования использовали очищенные формы самих ферментов, а не растворы, элюированные из таблетированных форм. Наше исследование этим и отличается, что мы использовали комплекс энзимов, входивших в состав препарата Вобэнзим, включая и вспомогательные вещества. Иными словами, использовалась таблетированная форма препарата целиком.

Поскольку препарат Вобэнзим используется для применения внутрь, а не для локального использования, мы не можем напрямую экстраполировать наши результаты, полученные *in vitro*, на результаты, которые могут быть получены *in vivo*. В ранее проведенных исследованиях было показано, что применение комплексов ферментов эффективно *in vivo* при действии непосредственно на биоплёнку, образованную в макроорганизме. Большинство хронических ран содержат биоплёнку, и обработка ран остаётся центральным элементом лечения. Ферментативная обработка является эффективным инструментом удаления нежизнеспособных тканей, однако имеется мало доказательств, подтверждающих его влияние на планктонные и биоплёночные бактерии. При хронических инфекциях ран, изоляты *S. aureus*, являются биоплёнкообразующими в 60% случаев. Обработка смесью ферментов показала, что бромелайн уменьшал биомассу биоплёнок на 98%. Сканирующая электронная микроскопия подтвердила отслоение биоплёнки от поверхностей роста. Общие результаты этого исследования показали, что использование таких ферментов, как бромелайн, может быть эффективным в уничтожении биоплёнок и может быть многообещающей стратегией для улучшения лечения бактериальных инфекций с множественной лекарственной устойчивостью [12]. Наше исследование показало успешное использование ферментов против биоплёнок, образованных изолятами *S. aureus*, что актуально при раневых инфекциях и инфекциях мочеполового тракта.

Биоплёнка *Actinomyces* под действием протеаз папаина, актинидина и трипсина значительно уменьшалась при их пероральном приёме. Папаин и трипсин эффективно расщепляли основные фимбриальные белки FimP и FimA *Actinomyces*. Актинидин, папаин и трипсин уменьшали многовидовую биоплёнку, которая была реконструирована *in vitro*. Папаин и трипсин ингибировали образование мультивидовой биоплёнки *in vitro* [23]. Нами показано, что биоплёнки, сформированные *A. baumannii*, также поддаются воздействию комплекса ферментов.

Результаты систематического обзора и мета-анализа показали, что применение терапии, включающей комплекс ферментов и антимикробных препаратов, у пациентов с хроническим простатитом приводит к большему увеличению числа CD4+ и CD8+-лимфоцитов, фагоцитарной актив-

ности лимфоцитов, уровня комплимента СН-100 и иммуноглобулинов М, G, A и статистически достоверно чаще приводит к эрадикации возбудителя по сравнению со стандартной терапией [24].

Препарат Вобэнзим с успехом применяется в комплексном лечении простатита. Применение комплекса ферментов *in vivo* приводит к уменьшению отёка предстательной железы в послеоперационном периоде, достоверно снижает частоту бактериурии к 6-му месяцу наблюдения, а также демонстрирует стойкую положительную динамику снижения общей частоты рубцовых изменений в зоне оперативного вмешательства. Полученные результаты и отсутствие каких-либо выраженных побочных явлений положительно характеризуют использование ферментов в комплексной терапии хронических инфекционных процессов [25].

В нашей стране накоплен большой опыт применения Вобэнзима в акушерско-гинекологической практике. Показан положительный эффект при использовании Вобэнзима в комплексной терапии больных с воспалительными заболеваниями органов малого таза (ВЗОМТ) [26] и после инструментального аборта у пациенток с эндометритом и неразвивающейся беременностью [27].

Разработка стандартизированных протоколов борьбы с образованием биоплёнок, валидации *in vivo* и дальнейшее понимание механизмов, сигнальных каскадов, регуляции генов и участия сигнальных молекул, включая вторичные мессенджеры, и т. д. в создании, развитии, созревании и расселении биоплёнок является необходимостью времени [10].

Таким образом, комплекс энзимов, входящих в состав препарата Вобэнзим, оказывает *in vitro* разрушающее действие на биоплёнки, сформированные микроорганизмами, возбудителями вагинальных инфекций, таких как *A. baumannii*, *S. aureus*, *G. vaginalis* и *E. faecalis*. Необходимо проведение дальнейших исследований действия ферментов на большее количество и видовое разнообразие микроорганизмов, а также использования других методов изучения биоплёнкообразования.

Заключение

Препарат Вобэнзим, содержащий в своём составе панкреатин 300 прот. Ед., бромелайн 225 FIP Ед., амилазу 50 FIP Ед., папаин 90 FIP Ед., липазу 34 FIP Ед., трипсин 360 FIP Ед., химотрипсин 300 FIP Ед., рутозида тригидрат 50,00 мг, оказывает эффективное действие *in vitro* на биоплёнки, образованные разными микроорганизмами, в том числе *Gardnerella vaginalis*, частыми возбудителями бактериального вагиноза, а также стафилококков, и энтерококков, возбудителями аэробного вагинита.

Дополнительная информация

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

All authors report no conflicts of interest relevant to this article.

Вклад авторов. Шалено К. В. — методология и дизайн исследования, написание и редактирование рукописи; Спаськова Е. В. — разработка модели, анализ и интерпретация результатов; Будилова О. В., Крысанова А. А., Хуснутдинова Т. А. — участие в подготовке рукописи и редактирование

Литература/References

1. Mlugu E.M., Mohamedi J.A., Sangeda R.Z., Mwambete K.D. Prevalence of urinary tract infection and antimicrobial resistance patterns of uropathogens with biofilm forming capacity among outpatients in morogoro, Tanzania: a cross-sectional study. BMC Infect Dis. 2023; 23 (1): 660. Published 2023 Oct 5. doi:10.1186/s12879-023-08641-x.
2. Nadell C.D., Drescher K., Wingreen N.S., Bassler B.L. Extracellular matrix structure governs invasion resistance in bacterial biofilms. ISME J. 2015; 9 (8): 1700–1709. doi: 10.1038/ismej.2014.246.
3. Шалено К.В., Михайленко Т.Г., Савичева А.М. Роль бактериальных плёнок в формировании хронических патологических процессов во влагалище и эндометрии. Журнал акушерства и женских болезней. 2016; 65 (4): 65–75. doi: <https://doi.org/10.17816/JOWD65465-75>. [Shaleno K.V., Mikhailenko T.G., Savicheva A.M. Rol' bakterial'nykh plenok v formirovaniy khronicheskikh patologicheskikh protsessov vo vlagalishche i endometrii. Zhurnal Akusherstva i Zhenskikh Boleznej. 2016; 65(4): 65–75. doi: <https://doi.org/10.17816/JOWD65465-75>. (in Russian)]
4. Madsen J.S., Burmølle M., Hansen L.H., Sørensen S.J. The interconnection between biofilm formation and horizontal gene transfer. FEMS Immunol Med Microbiol. 2012; 65 (2): 183–195. doi:10.1111/j.1574-695X.2012.00960.x.
5. Donlan R.M., Costerton J.W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin Microbiol Rev. 2002; 15 (2): 167–193. doi: 10.1128/CMR.15.2.167-193.2002.
6. Lahiri D., Nag M., Sheikh H.I., Sarkar T., Edinur H., Siddhartha P. et al. Microbiologically synthesized nanoparticles and their role in silencing the biofilm signaling cascade. Front Microbiol. 2021; 12: 636588. doi: 10.3389/fmicb.2021.636588.
7. Costerton J.W. Introduction to biofilm. Int J Antimicrob Agents. 1999; 11 (3–4): 217–221. doi: 10.1016/S0924-8579(99)00018-7.
8. Swidsinski S., Moll W.M., Swidsinski A. Bacterial vaginosis-vaginal polymicrobial biofilms and dysbiosis. Dtsch Arztebl Int. 2023; 120 (20): 347–354. doi:10.3238/arztebl.m2023.0090.
9. Roy R., Tiwari M., Donelli G., Tiwari V. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. Virulence. 2018; 9 (1): 522–554. doi:10.1080/21505594.2017.1313372.
10. Gupta P., Sarkar S., Das B., Bhattacharjee S., Tribedi P. Biofilm, pathogenesis and prevention—a journey to break the wall: a review. Arch Microbiol. 2016; 198 (1): 1–15. doi: 10.1007/s00203-015-1148-6.
11. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Вобэнзим ЛП-№(002667) (PT-RU) от 30.06.2023. [Instruktsiya po meditsinskomu primeneniyu lekarstvennogo preparata Vobenzim LP-№(002667) (RG-RU) ot 30.06.2023. (in Russian)]
12. Snyder R.J., Singer A.J., Dove C.R. et al. An open-label, proof-of-concept study assessing the effects of bromelain-based enzymatic debridement on biofilm and microbial loads in patients with venous leg ulcers and diabetic foot ulcers. Wounds. 2023; 35 (12): E414–E419. doi: 10.25270/wnds/23099.
13. Hoiby N. A personal history of research on microbial biofilms and biofilm infections. Pathog Dis. 2014; 70 (3): 205–211. doi: 10.1111/2049-632X.12165.
14. Magana M., Sereti C., Ioannidis A., Mitchell C.A., Ball A.R., Magiorkinis E. et al. Options and limitations in clinical investigation of bacterial biofilms. Clin Microbiol Rev. 2018; 31 (3): e00084–16. doi: 10.1128/CMR.00084-16.
15. Jensen G.S., Cruickshank D., Hamilton D.E. Disruption of established bacterial and fungal biofilms by a blend of enzymes and botanical extracts. J Microbiol Biotechnol. 2023; 33 (6): 715–723. doi: 10.4014/jmb.2212.12010.
16. Juntarachot N., Sirilun S., Kantachote D., Sittiprapaporn P., Tongpong P., Peerajan S. et al. Anti-streptococcus mutans and anti-biofilm activities of dextranase and its encapsulation in alginate beads for application in toothpaste. PeerJ. 2020; 8: e10165–e10165. doi: 10.7717/peerj.10165.
17. Ruhul R., Kataria R. Biofilm patterns in gram-positive and gram-negative bacteria. Microbiol Res. 2021; 251:126829. doi: 10.1016/j.micres.2021.126829.
18. Banerjee S., Vishakha K., Das S. et al. Antibacterial, anti-biofilm activity and mechanism of action of pancreatin doped zinc oxide nanoparticles against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Colloids Surf B Biointerfaces. 2020; 190: 110921. doi: 10.1016/j.colsurfb.2020.110921.
19. Yassein A.S., Hassan M.M., Elamary R.B. Prevalence of lipase producer *Aspergillus niger* in nuts and anti-biofilm efficacy of its crude lipase against some human pathogenic bacteria. Sci Rep. 2021; 11 (1): 7981. Published 2021 Apr 12. doi: 10.1038/s41598-021-87079-0.
20. Kalpana B., Aarthi S., Karutha S. Antibiofilm activity of α -amylase from *Bacillus subtilis* S8-18 against biofilm forming human bacterial pathogens. Appl Biochem Biotechnol. 2012; 167 (6): 1778–794. doi: 10.1007/s12010-011-9526-2.
21. Watters C. M., Burton T., Kirui D. K., Millenbaugh N. J. Enzymatic degradation of *in vitro* *Staphylococcus aureus* biofilms supplemented with human plasma. Infect Drug Resist. 2016; 9: 71–78. doi: 10.2147/IDR.S103101.
22. Molobela P., Cloete T., Beukes M. Protease and amylase enzymes for biofilm removal and degradation of extracellular polymeric substances (EPS) produced by *Pseudomonas fluorescens* bacteria. Afr J Microbiol Res. 2010; 4: 1515–1524.
23. Mugita N., Nambu T., Takahashi K., Wang P.L., Komasa Y. Proteases, actinidin, papain and trypsin reduce oral biofilm on the tongue in elderly subjects and *in vitro*. Arch Oral Biol. 2017; 82: 233–240. doi: 10.1016/j.archoralbio.2017.04.035.
24. Куприянов Ю.А., Зайцев А.В., Берников А.Н., Ходырева Л.А., Пушкарь Д.Ю. Эффективность препарата Вобэнзим в комбинированной терапии хронического бактериального простатита. Результаты систематического обзора и метаанализа. Урологические ведомости. 2024; 14 (1): 51–64. doi: <https://doi.org/10.17816/uroved626639>. [Kupriyanov Yu.A., Zaitsev A.V., Bernikov A.N., Khodyreva L.A., Pushkar' D.Yu. Effektivnost' preparata Vobenzim v kombinirovannoy terapii khronicheskogo bakterial'nogo prostatita. Rezul'taty sistematicheskogo obzora i metaanaliza. Urologicheskie Vedomosti. 2024; 14 (1): 51–64. doi: <https://doi.org/10.17816/uroved626639>. (in Russian)]
25. Котов С.В., Пульбере С.А., Юсуфов А.Г., Болотов А.Д., Гуспанов Р.И., Семенов А.П., Богданов Д.А. Рандомизированное исследование эффективности Флогензима® (Phlogenzym®) у мужчин после трансуретральной лазерной энуклеации гиперплазии предстательной железы. Вестник урологии. 2024; 12 (2): 43–57. doi: <https://doi.org/10.21886/2308-6424-2024-12-2-43-57>. [Kotov S.V., Pul'bere S.A., Yusufov A.G., Bolotov A.D., Guspanov R.I., Semenov A.P., Bogdanov D.A. Randomizirovannoe issledovanie effektivnosti Flogenzima® (Phlogenzym®) u muzhchin posle transuretral'noj lazernoj enukleatsii giperplazii predstatel'noj zhelezy. Vestnik Urologii. 2024; 12 (2): 43–57. doi: <https://doi.org/10.21886/2308-6424-2024-12-2-43-57>. (in Russian)]
26. Кохно Н.И., Горшкова О.В., Молодцова Л.Ю. Эффективность системной энзимотерапии в комплексном лечении воспалительных заболеваний органов дыхания у женщин. Акушерство и гинекология. 2022; 12: 159–164. doi: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2022.294>. [Kokhno N.I., Gorshkova O.V., Molodtsova L.Yu. Effektivnost' sistemoj enzimoterapii v kompleksnom lechenii vospalitel'nykh zabolevaniy organov dykhaniya u zhenshchin. Akusherstvo i Ginekologiya. 2022; 12: 159–164. doi: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2022.294>. (in Russian)]
27. Ордиянц И.М., Коган Е.А., Барabasheva С.С., Молчанова О.К. Возможности системной энзимотерапии хронического эндометрита после неразвивающейся беременности. Акушерство и гинекология. 2020; 12: 186–193. doi: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.12.186-193>. [Ordians I.M., Kogan E.A., Barabasheva S.S., Molchanova O.K. Vozmozhnosti sistemoj enzimoterapii khronicheskogo endometrita posle nerazvivayuyushcheysya beremennosti. Akusherstvo i ginekologiya. 2020; 12: 186–193. doi: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.12.186-193>. (in Russian)]

Поступила / Received 02.02.2024
Принята в печать / Accepted 29.04.2024

Информация об авторах

Шалепо Кира Валентиновна — к. б. н., старший научный сотрудник группы экспериментальной микробиологии ФГБНУ «НИИАГиР им. Д. О. Отта»; доцент кафедры Клинической лабораторной диагностики ФГБОУ СПб ГПМУ МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0002-3002-3874. ResearcherID: K-1364-2018. eLIBRARY SPIN-код: 2527-7198. Scopus Author ID: 14071912500

Спасибова Елена Владимировна — врач-бактериолог лаборатории клинической микробиологии ФГБНУ «НИИАГиР им. Д. О. Отта»; преподаватель кафедры Клинической лабораторной диагностики ФГБОУ СПб ГПМУ МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0009-0002-6070-4651. eLIBRARY SPIN-код: 3585-8770

Будилова Ольга Викторовна — к. м. н., старший научный сотрудник группы экспериментальной микробиологии ФГБНУ «НИИАГиР им. Д. О. Отта»; преподаватель кафедры Клинической лабораторной диагностики ФГБОУ СПб ГПМУ МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0001-7673-6274. ResearcherID: K-1854-2018. eLIBRARY SPIN-код: 7603-6982. Scopus Author ID: 12545757500

Крысанова Анна Александровна — к. м. н., старший научный сотрудник группы экспериментальной микробиологии ФГБНУ «НИИАГиР им. Д. О. Отта»; преподаватель кафедры Клинической лабораторной диагностики ФГБОУ СПб ГПМУ МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0003-4798-1881. eLIBRARY SPIN-код: 2438-0230. Scopus Author ID: 57199643089. Researcher ID: K-3678-2018

Хуснутдинова Татьяна Алексеевна — к. м. н., старший научный сотрудник группы экспериментальной микробиологии ФГБНУ «НИИАГиР им. Д. О. Отта»; преподаватель кафедры Клинической лабораторной диагностики ФГБОУ СПб ГПМУ МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0002-2742-2655. ResearcherID: K-1852-2018. eLIBRARY SPIN-код: 9533-9754. Scopus Author ID: 57015542400

Чеберя Александра Сергеевна — лаборант исследователь лаборатории микробиологии «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта»; студентка 5 курса «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова», Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0009-0008-1091-5753

Чеберя Александр Романович — лаборант исследователь лаборатории микробиологии «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта»; студент 5 курса «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова», Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0009-0006-9058-6720

Савичева Алевтина Михайловна — д. м. н., профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации, заведующая отделом медицинской микробиологии ФГБНУ «НИИАГиР им. Д. О. Отта»; заведующая лабораторией клинической микробиологии ФГБНУ «НИИАГиР им. Д. О. Отта»; заведующая кафедрой Клинической лабораторной диагностики ФГБОУ СПб ГПМУ МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0003-3870-5930. ResearcherID: P-6788-2015. eLIBRARY SPIN-код: 8007-2630. Scopus Author ID: 6602838765

About the authors

Kira V. Shalepo — Ph. D. in Biology, Senior Researcher of the Experimental Microbiology Group, D. O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology; Associate Professor at the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Saint Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-3002-3874. ResearcherID: K-1364-2018. eLIBRARY SPIN: 2527-7198. Scopus Author ID: 14071912500

Elena V. Spasibova — Bacteriologist at the Laboratory of Clinical Microbiology, D. O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology; Lecturer at the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0009-0002-6070-4651. eLIBRARY SPIN code: 3585-8770

Olga V. Budilovskaya — Ph. D. in Medicine, Senior Researcher of the Experimental Microbiology Group, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology; Lecturer at the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0001-7673-6274. ResearcherID: K-1854-2018. eLIBRARY SPIN code: 7603-6982. Scopus Author ID: 12545757500

Anna A. Krysanova — Ph. D. in Medicine, Senior Researcher of the Experimental Microbiology Group, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology; Lecturer at the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0003-4798-1881. eLIBRARY SPIN code: 2438-0230. Scopus Author ID: 57199643089. Researcher ID: K-3678-2018

Tatiana A. Khusnutdinova — Ph. D. in Medicine, Senior Researcher of the Experimental Microbiology Group, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology; Lecturer at the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-2742-2655. ResearcherID: K-1852-2018. eLIBRARY SPIN code: 9533-9754. Scopus Author ID: 57015542400

Alexandra S. Cheberya — Laboratory Assistant, Researcher at the Microbiology Laboratory, D. O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology; 5th year student at the S. M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0009-0008-1091-5753

Alexandr R. Cheberya — Laboratory Assistant, Researcher at the Microbiology Laboratory, D. O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology; 5th year student at the S. M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0009-0006-9058-6720

Alevtina M. Savicheva — D. Sc. in Medicine, Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Head of the Department of Medical Microbiology, D. O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology; Head of the Laboratory of Clinical Microbiology, D. O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology; Head of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0003-3870-5930. ResearcherID: R-6788-2015. eLIBRARY SPIN code: 8007-2630. Scopus Author ID: 6602838765