

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРОБЛЕМ ЗДОРОВЬЯ СЕМЬИ
И РЕПРОДУКЦИИ ЧЕЛОВЕКА»**

На правах рукописи

Кунгурцева Екатерина Александровна

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ МИКРОБИОЦЕНОЗОВ
РАЗЛИЧНЫХ БИОТОПОВ У ЖЕНЩИН
С ХРОНИЧЕСКИМ ЭНДОМЕТРИТОМ**

14.03.03 – патологическая физиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:

д.б.н. Даренская Марина Александровна

Научный консультант:

д.м.н. Лещенко Ольга Ярославовна

ИРКУТСК – 2019

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ГЕНЕЗЕ И ДИСБИОЗЕ АССОЦИАТИВНОЙ МИКРОБИОТЫ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК ВАГИНАЛЬНОГО, КИШЕЧНОГО И НОСОГЛОТОЧНОГО БИОТОПОВ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).	11
1.1. Этиология и патогенез хронического эндометрита как причина репродуктивных нарушений у женщин.	13
1.2. Особенности вагинального микробиоценоза у женщин репродуктивного возраста в норме и при воспалительных заболеваниях органов малого таза.	18
1.3. Характеристика и функции кишечного микробиоценоза человека.	23
1.4. Особенности микробиоценоза носоглоточного биотопа человека в норме и при воспалительных процессах верхних дыхательных путей.	26
1.5. Нарушения ассоциативной микробиоты слизистых оболочек различных биотопов как фактор воспалительных заболеваний репродуктивного тракта женщин.	29
1.6. Роль энтерококков в патогенезе воспалительных заболеваний у человека, характеристика основных факторов патогенности. . .	32
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.	38
2.1. Материалы исследования.	38
2.2. Методы исследования.	40
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.	49
3.1. Характеристика микробиоценоза вагинального тракта у женщин с хроническим эндометритом.	49
3.2. Структура биоценоза кишечника у женщин с хроническим эндометритом.	55

3.3. Особенности носоглоточного микробиоценоза у женщин с хроническим эндометритом.	61
3.4. Характеристика генетических детерминант патогенности в аутоштаммах бактерий рода <i>Enterococcus</i> spp., выделенных из различных биотопов у женщин исследованных групп.	66
3.5. Сравнительный анализ изменений функциональных связей между индигенной и условно-патогенной микробиотой, генетическими детерминантами патогенности энтерококков и морфологическими признаками хронического эндометрита в различных биотопах у женщин с хроническим эндометритом. . .	69
3.6. Определение наиболее информативных показателей микробиоценозов различных биотопов и генов патогенностиэнтерококков у женщин с хроническим эндометритом.	79
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.	83
ВЫВОДЫ.	94
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.	96
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.	97

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень её разработанности

Хронический эндометрит (ХЭ) относится к клинико-морфологическим синдромам, характеризующимся множеством морфофункциональных изменений в слизистой оболочке тела матки. Среди данного рода изменений выделяют нарушения механизмов клеточной пролиферации, апоптоз, ангиогенез и фиброз, нарушающие циклическую трансформацию и рецептивность слизистой оболочки [50, 58, 146, 266, 232].

В основном ХЭ диагностируется у женщин репродуктивного возраста, и его частота в среднем составляет около 14 % от всех воспалительных заболеваний органов малого таза (ВЗОМТ), колеблясь от 10 до 85 % случаев [44, 72, 176, 187]. Наиболее высокие показатели распространённости ХЭ выявлены у женщин с диагнозом «привычное невынашивание беременности» (33,5–86,7 %) [17, 79, 99, 129, 182, 184, 238].

В настоящее время выяснены основные патогенетические механизмы развития данного заболевания. Так, в работах сотрудников ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (г. Иркутск) у женщин с хроническим эндометритом показаны изменения в системе нейроэндокринной регуляции, иммунитета, цитокиновой регуляции, а также в процессах перекисного окисления липидов [28, 44, 139].

Известно, что в основе ХЭ лежит воспалительный процесс, характеризующийся длительным течением с преобладанием бессимптомных и субклинических форм [7, 82, 188, 209, 222, 253]. К данному моменту установлен факт тесной взаимосвязи воспаления слизистой оболочки матки с нарушениями микробиома целостного организма [32, 33, 44, 102, 107, 172, 214, 284, 289].

Совокупность всех микробиоценозов человека рассматривают как своеобразную жизненно необходимую многофункциональную микробно-

метаболическую систему, которая напрямую участвует в реализации физиологических функций, обеспечивающих гомеостатическое состояние организма в целом [2, 203, 284]. Изменение взаимодействий макроорганизма и бактерий приводит к трансформации качественного состава последних и появлению штаммов с наличием факторов патогенности [13, 15, 22, 107, 284]. В результате в организме накапливаются атипичные штаммы, формируются патологические сообщества, изменяются физиологические, биохимические и иммунологические показатели [22, 217].

В настоящее время получены данные об изменениях этиологической структуры микробиоценозов при ХЭ, таких, например, как значительное количественное увеличение вирусной и условно-патогенной микрофлоры и преобладание микробных ассоциаций с более выраженными патогенными свойствами в микрофлоре влагалища [7, 8, 14]. Имеются также результаты относительно изучения остальных микробиоценозов при ХЭ, но эти данные зачастую разрозненны и противоречивы, касаются отдельного биотопа и не отражают анализа взаимодействий биотопов различной локализации.

Значимыми представителями условно-патогенной микробиоты, населяющей вагинальный биотоп, являются энтерококки, которые способны вызывать серьёзные гнойно-воспалительные процессы [77, 124, 195]. Эти бактерии часто обнаруживаются при воспалительных заболеваниях урогенитального тракта у гинекологических больных, при эндокардите, остеомиелите и других заболеваниях [75, 77, 115, 195]. Высока частота встречаемости данных микроорганизмов и при ХЭ [176, 266]. Известно, что энтерококки обладают широким набором генов патогенности, определяющих способность вызывать тяжёлый патологический процесс [14, 18, 195, 239]. Однако в литературе отсутствуют сведения относительно результатов исследования генов патогенности энтерококков при ХЭ, а также относительно взаимосвязей данных факторов с морфологическими признаками, подтверждающими ХЭ.

В связи с вышеизложенным была сформулирована **цель исследования:** установить при формировании хронического эндометрита закономерности

нарушений микробиоценозов вагинального, кишечного и носоглоточного биотопов для патогенетического обоснования принципов их коррекции.

Для решения поставленной цели решались следующие **задачи**:

1. Определить у женщин с хроническим эндометритом особенности структуры микробиоты вагинального, кишечного и носоглоточного биотопов.
2. Оценить у женщин с хроническим эндометритом частоту встречаемости генов патогенности энтерококков (*asa1*, *cytM*, *gelE*, *sprE*) в вагинальном, кишечном и носоглоточном биотопах.
3. Выявить у женщин с хроническим эндометритом в исследованных биотопах взаимосвязь генов патогенности энтерококков с морфологическими изменениями эндометрия.
4. Установить у женщин репродуктивного возраста с хроническим эндометритом наиболее информативные показатели изменений микробиоценозов вагинального, кишечного и носоглоточного биотопов, и генов патогенности энтерококков.

Научная новизна

Впервые установлено, что у пациенток с хроническим эндометритом изменения микробного консорциума проявляются расширением видового спектра и частотой встречаемости патогенных и условно-патогенных видов (с доминированием в вагинальном, кишечном и носоглоточном биотопах условно-патогенного микросимбионта вида *E. faecalis* и *E. faecium*) на фоне отсутствия или дефицита нормофлоры в исследованных биотопах.

Выявлено, что у женщин с ХЭ во всех исследованных биотопах представители нормофлоры состоят в синергетических взаимоотношениях с условно-патогенной микробиотой, что говорит о снижении колонизационной резистентности нормофлоры и её неспособности конкурировать с патологической биотой с последующим формированием патологических симбиозов и дисбиозов.

Приоритетными являются данные о наличии у женщин с ХЭ повышенного уровня патогенности у доминирующего вида *E. faecalis* и *E. faecium* в разных

биотопах (вагинальный, кишечный и носоглотка), по сравнению с группой женщин без ХЭ, что проявляется в увеличении количества аутоштаммов энтерококков с нуклеотидными последовательностями гена патогенности, синтезирующего сериновую протеиназу (*sprE*) (пенетрация, колонизация, повреждение тканей).

Новыми являются данные о том, что наличие морфологических признаков ХЭ (воспалительных инфильтратов, фиброза стромы эндометрия, склеротических изменений стенок артерий и плазматических клеток) ассоциируется с наличием генасериновой протеиназы (*sprE*) у преобладающих энтерококков в вагинальном, кишечном и носоглоточном биотопах.

На основе микробиологических критериев сформулирована концептуальная схема развития нарушений микробиоценозов вагинального, кишечного и носоглоточного биотопов у женщин с хроническим эндометритом.

Выявление наиболее информативных показателей нарушений микробиоценозов исследуемых биотопов позволило разработать математическую модель, способную патогенетически обосновать необходимость их коррекции у женщин с хроническим эндометритом.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные данные расширяют и углубляют представления о структуре и характере взаимодействий микробиоты влагалища, кишечника и носоглотки, что позволит оптимизировать диагностику, профилактику и коррекцию нарушений микробиоты.

Доказано, что для оценки объективной информации о циркуляции энтерококков с наличием детерминант патогенности целесообразно проведение детекции генов *asa1*, *cyfM*, *gelE*, *sprE* и других генов патогенности у энтерококков.

Результаты исследования могут быть использованы в составлении методических рекомендаций для практического здравоохранения по прогнозированию риска развития нарушений микробиоты различных биотопов с целью разработки новых схем лечения женщин с хроническим эндометритом.

Материалы диссертации внедрены в учебный процесс кафедры нормальной физиологии и кафедры патологической физиологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Иркутского государственного медицинского университета» Минздрава России, а также используются в лекционных курсах и научно-исследовательской работе и производственной практике студентов специальности 06.03.01. Биология (профили «физиология» и «микробиология») биолого-почвенного факультета ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет».

Методология и методы исследования

Использованы бактериологические (выявление показателя постоянства как способ интегральной оценки микробиоценоза и коэффициента сходства Жаккара (в целях определения характера взаимодействия между членами микробиоценоза), молекулярно-генетические (детекция генов патогенности в аутоштаммах энтерококков) и статистические методы исследования.

Основные положения, выносимые на защиту

1. У женщин с хроническим эндометритом структура микробиоценозов характеризуется определёнными нарушениями в различных биотопах: преобладанием аутоштаммов энтерококков и стафилококков – в вагинальном; наличием дисбиоза 1-й и 2-й степени – в кишечном; высокой частотой встречаемости энтерококков и дефицитом нормобиоты – в носоглоточном.

2. У женщин с хроническим эндометритом морфологические изменения в тканях эндометрия (воспалительные инфильтраты, плазматические клетки, фиброз стромы эндометрия и склеротические изменения стенок артерий) ассоциируются с наличием генасериновой протеиназы (*sprE*) у преобладающих энтерококков в вагинальном, кишечном и носоглоточном биотопах.

3. Наиболее информативными показателями нарушений микробиома у женщин с хроническим эндометритом в вагинальном биотопе являются бактерии рода *Corynebacterium* spp., *CNS*, *Lactobacterium* spp. и грибы рода

Candida; в кишечном – бактерии вида *Enterococcus faecalis* и грибы рода *Candida*; в носоглоточном – *Neisseria* spp., *Streptococcus* β -гемолитический и *Enterococcus faecium*.

Степень достоверности

Научные положения и выводы обоснованы достаточным объёмом исследований, выполненных с использованием современных методов, сертифицированного оборудования и реактивов. Статистическая обработка полученных результатов проведена с помощью пакета современных статистических компьютерных программ.

Апробация результатов работы проведена на расширенном заседании Учёного совета ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека».

Основные материалы диссертации представлены на: межрегиональной научно-практической конференции молодых учёных, посвящённой 10-летию организации Научных центров ВСНЦ СО РАМН и проходящей в рамках «Декады молодёжи» (Иркутск, 2008); межрегиональной конференции молодых учёных Иркутского научно-исследовательского противочумного института и специалистов ФГБУ «НЦ ПЗСРЧ» СО РАМН (Иркутск, 2013); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвящённой 60-летию Читинской государственной медицинской академии «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины» (Чита, 2013); 3-й международной научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные аспекты в репродуктологии» (Иркутск – Листвянка, 2014); I межрегиональной научно-практической конференции молодых учёных «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 2014); Всероссийской научной конференции с международным участием «Экосистемы озера Байкал и Восточной Азии», посвящённой юбилею биолого-почвенного факультета Иркутского государственного университета (Иркутск, 2014); II межрегиональной научно-практической конференции молодых учёных «Фундаментальные и прикладные

аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 2016); Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы инфекционной патологии» (Санкт-Петербург, 2017); V конгрессе Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням (Новосибирск, 2018); V междисциплинарном форуме с международным участием «Шейка матки и вульвовагинальные болезни. Эстетическая гинекология» (Москва, 2018).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 10 научных работы, из них 9 – в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикаций материалов диссертационных работ, из которых 5 работ – в ведущих зарубежных рецензируемых изданиях, индексируемых в международной базе данных Scopus.

Личный вклад соискателя

Автору принадлежит ведущая роль в проведении экспериментов, анализе и обобщении полученных результатов. В работах вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования: от постановки задач, их экспериментально-теоретической реализации до обсуждения результатов в научных публикациях и докладах.

Объём и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, глав собственных исследований и обсуждения результатов, выводов и списка использованных литературных источников. Работа изложена на 128 страницах машинописного текста, иллюстрирована 13 таблицами и 7 рисунками. Список использованной литературы включает 219 отечественных и 72 зарубежных источника литературы.

ГЛАВА 1

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ГЕНЕЗЕ И ДИСБИОЗЕ АССОЦИАТИВНОЙ МИКРОБИОТЫ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК ВАГИНАЛЬНОГО, КИШЕЧНОГО И НОСОГЛОТОЧНОГО БИОТОПОВ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Микрофлора является важной составляющей любой части биосферы. Во всех природных системах микроорганизмы сосуществуют в виде биоценозов – сложных многокомпонентных сообществ, внутри каждого из которых формируются определённые взаимоотношения, определяющие жизнеспособность микробных популяций. Микробные популяции населяют все наружные поверхности и слизистые человека, образуя особенную экологическую систему с многообразным разветвлённым механизмом взаимовыгодных отношений, способствующие поддержанию жизнеспособности всех компонентов данной системы. В процессе филогенеза совершенствовались взаимоотношения человека с его микрофлорой, в результате которых микробиота макроорганизма (хозяина) преобразовалась в жизненно важный регуляторный орган, число микробных клеток в котором на 1–3 порядка выше числа собственных клеток человека [107, 143, 212, 226, 283].

Все покровы и слизистые открытых полостей человека в процессе эволюции заселили микроорганизмы, более приспособленные к конкретным условиям в конкретном биолокусе. Качественный и количественный состав микробиоты контролируют физиологические факторы организма хозяина в процессе его жизни. Микробные популяции являются чувствительными системами, реагирующими на многие факторы [23, 217]. Заселение микробиотой организма человека начинается с момента прохождения плода через половой тракт матери во время родов, и представители вагинального биотопа матери являются главным

источником первых микроорганизмов, на основе которых далее формируются биоценозы у каждого отдельного индивидуума [217].

Система выбора наиболее эффективных симбионтов и формирования состава микробных популяций в разных биотопах сложилась филогенетически и подчиняется общим закономерностям. При этом отдельные микробные биоценозы взаимодействуют друг на друга и с организмом хозяина, образуя единую систему, являющуюся важной интегральной частью организма человека [29, 112].

Наиболее заселённым является биотоп толстого кишечника, в котором сосредоточено около 60 % микрофлоры человека [19, 23, 224, 285]. 15–16 % микроорганизмов находятся в ротоглотке, 15–20 % микробных популяций населяют кожные покровы, в вагинальном биотопе женщин содержится около 9–10 % микробиоты. Число микробных клеток, колонизирующих организм человека, достигает 10^{14} – 10^{15} , т. е. это, как уже отмечалось, на 1–3 порядка больше собственных клеток человека. Однако в любом биоценозе всегда преобладают отдельные группы микроорганизмов, видовой состав которых невелик, но в численном отношении они образуют основу биоценоза. Это так называемая индигенная (облигатная, главная, постоянная, резидентная, аутохтонная) микрофлора или нормофлора. Другая группа представителей любого биоценоза – факультативная (добавочная, сопутствующая) микробиота, плотность которой не превышает 5 % от общей численности [93, 111, 217, 219, 221, 226].

Третья группа представителей биоценоза в количественном отношении в норме не должна превышать 0,01 % и называется транзиторной или аллохтонной (случайной, остаточной) микробиотой [217, 219, 221].

В настоящее время большое значение в развитии острых воспалительных процессов бактериальной этиологии приобретают условно-патогенные микроорганизмы (УПМ) [92, 100, 101]. С одной стороны, они являются представителями нормальной микрофлоры человека, с другой – возбудителями инфекционных заболеваний. Реализация условной патогенности зависит от вирулентности микроба и резистентности хозяина и решается в индивидуальных

системах «макро – микроорганизм» [80, 81, 150]. Повышенная чувствительность характерна для лиц с ослабленным местным или общим иммунитетом, специфическим или неспецифическим [80, 81, 101, 130]. Патогенность или болезнетворность – видовой признак микроорганизма. Её степень может быть различной и определяет вирулентность внутри штаммов одного вида [161, 170, 223]. Благодаря генетическим модификациям патогенность штаммов может изменяться в довольно широких пределах: среди возбудителей особо опасных инфекций могут быть получены авирулентные штаммы, и, наоборот, носителями генов вирулентности могут стать безвредные бактерии [101].

Так, исследования последних лет показали, что у женщин с диагнозом «хронический эндометрит» в 87 % случаев наблюдается персистенция именно условно-патогенных микроорганизмов в эндометрии [182, 242, 258]. Вследствие чего представляет значительный интерес анализ изменений качественно-количественного состава вагинального и других биотопов, наличие у микроорганизмов генов патогенности (ГП), а также выяснение вопроса об их взаимосвязи с маркерами воспаления и факторами, способствующими хроническому процессу в матке.

1.1. Этиология и патогенез хронического эндометрита как причина репродуктивных нарушений у женщин

Хронический эндометрит – это заболевание женщин преимущественно репродуктивного возраста (76–88 %), что свидетельствует о влиянии данной патологии на детородную функцию. ХЭ является волнообразным и прогрессирующим видом патологического процесса [27, 58, 160, 192, 201].

По этиологическому фактору хронический эндометрит делят на специфический и неспецифический. Специфический эндометрит бывает бактериальным, грибковым, хламидийным, вирусным, протозойным, паразитарным и др. [85, 230].

Неспецифический эндометрит развивается при бактериальном вагинозе на фоне использования внутриматочной спирали, лучевой терапии органов малого таза и у ВИЧ-инфицированных женщин. При этом типе в эндометрии специфическая микрофлора не диагностируется, а наличие УПМ в эндометрии может диагностироваться в 87 % проб [182, 242, 258].

Возбудителями воспалительного процесса в эндометрии могут быть факультативно-анаэробные виды (энтерококки, стрептококки группы В, кишечная палочка) в союзе с анаэробными микроорганизмами (бактероиды, пептострептококки) и микроаэрофилами (микоплазмы, гарднереллы). При диагнозе «невынашивание беременности» хронический эндометрит диагностируется в 12,3 % случаев только с бактериальной контаминацией эндометрия, в 51,8 % – у женщин с моновирусно-бактериальной контаминацией и в 55,1 % – у женщин с бактериально-вирусной контаминацией эндометрия [65, 179, 181, 238].

Однако в 30 % и более случаев при гистологически подтверждённом хроническом эндометрите могут выявляться и стерильные посевы из эндометрия, что свидетельствует о важной роли условно-патогенной микробиоты в развитии воспалительного процесса в эндометрии [67].

Доказано, что нарушение микроценоза влагалища значительно увеличивает риск инфицирования эндометрия. Так, при персистенции микроорганизмов в эндометрии у 70 % женщин обнаружены проявления дисбиоза влагалища, которые характеризовались глубоким дефицитом лактобактерий и преобладанием анаэробных и факультативно-анаэробных условно-патогенных микроорганизмов. В этих случаях ХЭ характеризуется высоким уровнем рецидивов и уменьшением периодов ремиссии. Связано это с наличием у микроорганизмов, выделенных из полости матки, протеолитической и гемолитической активности, концентрацией более 10^4 КОЕ/мл исследуемого материала [95, 156, 162].

Так, в 56 % случаев на фоне бактериального вагиноза были выделены различные представители рода *Staphylococcus* (в том числе и *S. aureus*), у 53 % выявлена колонизация бактериями семейства *Streptococcaceae* и бактериями видов *E. faecium* и *E. faecalis*. Из числа грамотрицательных микроорганизмов

у 38 % женщин с бактериальным вагинозом было отмечено значительное преобладание семейства *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *E. aerogenes* и др.). Указанные микроорганизмы являются потенциальными патогенами благодаря входящему в состав их клеточной стенки липополисахариду (ЛПС), который играет ведущую роль в возникновении воспалительных заболеваний женской репродуктивной системы. Липополисахарид, взаимодействуя с клетками макроорганизма, повреждает их или способен вызвать токсический шок [178, 180, 279].

По данным других авторов, у 40 % женщин с гнойным цервицитом также верифицируется хронический эндометрит, который ассоциируется с присутствием в цервикальном канале таких антигенов, как *N. gonorrhoeae*, *Str. agalactiae* (группы В) и *C. trachomatis* [159, 164, 238, 240, 242].

Необходимо отметить, что воспаление – это защитная реакция организма на действие экзогенных и эндогенных факторов, в результате которой происходит обезвреживание и уничтожение этих факторов. Однако при хронической форме воспаление утрачивает биологическую значимость в качестве защитного процесса, так как утрачивается способность уничтожения повреждающего агента и, как следствие, восстановления ткани [168, 171, 172].

Кроме патогенных микроорганизмов, хроническому течению воспалительного процесса в эндометрии способствуют также нарушения в иммунной системе женщины. Даже незначительные дефекты в сложной цепи событий, запускаемых антигеном, могут способствовать срыву защиты и длительной персистенции микробных агентов. Наиболее частыми клиническими проявлениями иммунодефицитов являются смешанные, рецидивирующие, затяжные и тяжело протекающие инфекции [182].

Важным в патогенезе ХЭ является изменение ангиоархитектоники эндометрия, а именно склерозирование стенок сосудов и образование периваскулярного склероза вокруг спиральных артерий, что приводит к развитию ишемии эндометрия. Процессы склерозирования выражены больше при большем повреждении. Кровеносные сосуды при ХЭ умеренно полнокровные, стенки артерий мелкого калибра, а просвет сужен. Изменения микроциркуляции

приводят к повышению коагуляционного потенциала крови. Вследствие персистенции инфекции происходит повреждение сосудистой эндотелиальной поверхности и нарушаются продукция и соотношение простациклина и тромбоксана, что приводит к образованию тромбозов [182, 214].

В последнее время широко обсуждается вопрос о роли дисбаланса про- и антиоксидантной систем, а также о влиянии активных форм кислорода на развитие и прогрессирование хронического воспалительного процесса эндометрия. Антиоксидантная система человека – это система, блокирующая образование высокоактивных свободных радикалов (активные формы кислорода). Продукция свободных радикалов, приводящая к окислению липидов клеточных мембран, является одним из наиболее мощных стимулов, повреждающих клетки и ткани при воспалительном процессе [17, 44, 139, 172, 287].

Следует отметить, что вирусные агенты, нередко вызывающие развитие скрытых вариантов заболевания, достаточно сложны для лабораторной верификации ввиду волнообразного течения вирусных инфекций. Кроме этого, постепенно значение первичного возбудителя утрачивается, и главную роль в заболевании играют вторичное инфицирование, иммунологические расстройства и нарушение функции поражённого органа. В ответ на внедрение патогенного фактора в очаге воспаления происходит активация нейтрофилов и макрофагов, что нарушает микроциркуляцию и реологические свойства крови [8, 17, 34, 52, 54]. Далее в тканях возникают ишемия и гипоксия, вырабатываются активные формы кислорода и перекиси водорода, запуская процесс перекисного окисления липидов, что повреждает клеточные мембраны. Далее клетки воспалительного инфильтрата интенсивно продуцируют провоспалительные цитокины, факторы роста и ряд других биологически активных веществ. Продолжающаяся депрессия локальной фибринолитической активности под влиянием провоспалительных факторов усиливает ангиогенез в первичных фибриновых сращениях, что усугубляет морфологические изменения в тканях матки и способствует формированию внутриматочных синехий [17, 89, 285, 286].

Персистенция нормальной и условно-патогенной микрофлоры в организме человека связана с тем, что они имеют общие антигены с тканевыми антигенами организма, поэтому важное место в патогенезе хронического воспаления занимает аутоиммунная агрессия [32, 288]. В результате аутоиммунных реакций при помощи перекрёстных антигенов и развития вторичного иммунодефицита микроорганизмы становятся нечувствительными к влиянию иммунной системы организма с одной стороны, а с другой – аутоантитела разрушают и повреждённые, и здоровые ткани органа. Таким образом, условно-патогенная биота в полости матки может стать ведущим микробным фактором воспалительного процесса, так как иммунный ответ слизистой оболочки неполноценен [41, 68].

Другие авторы считают, что инфекционный фактор является начальным, но на определённом этапе элиминируется из ткани, оставляя доминировать аутоиммунный процесс. По мнению некоторых исследователей, аутоиммунное повреждение ткани может развиваться как дополнительный, а не как основной компонент хронического воспаления, особенно при наличии вирусной инвазии [5, 24, 64, 88].

При длительности заболевания 2 месяца и более причиной хронизации воспалительного процесса является незавершённость регенерации ткани и формирующиеся в тканях эндометрия множественные нарушения тканевого гомеостаза. В литературе продолжается обсуждаться возможность поддержания хронического воспаления в эндометрии за счёт аутоиммунных механизмов [32, 288].

При склерозе кровеносных сосудов при тяжёлой форме хронического эндометрита затрудняется обмен между кровью и тканями, а также поступление гормонов к клеткам эндометрия [4, 45, 96, 270, 228, 255, 257].

Структурные нарушения в эндометрии вызывают нарушения его функции, необходимые для успешной беременности, что свидетельствует о неполноценности эндометрия у женщин с хроническим эндометритом [96, 228, 270, 277].

Таким образом, происходящие изменения в эндометрии при ХЭ блокируют нормальную имплантацию и формируют патологический ответ на беременность, что приводит к невынашиванию беременности.

1.2. Особенности вагинального микробиоценоза у женщин репродуктивного возраста в норме и при воспалительных заболеваниях органов малого таза

Микробиота, населяющая половой тракт женщины, является ассоциативным симбиозом, состоящим из макросимбионта (человека), доминантного симбионта (лактобактерии) и ассоциативных симбионтов [56, 173].

Интерес к данному биоценозу в последние годы вызван тем, что роль микробных популяций вагинального биотопа заключается в поддержании колонизационной резистентности всей мочеполовой системы и в формировании микроэкологического здоровья новорождённых, а значит и всей человеческой популяции в целом [217, 219, 221].

Микробиота вагинального биотопа также состоит из резидентной (постоянная, автохтонная), факультативной (добавочная) и транзиторной (аллохтонная). Постоянная микрофлора формируется сразу после рождения ребёнка за счёт флоры матери при прохождении родовых путей. К 8–9 годам у девочек начинается постепенная активация репродуктивной системы, увеличение секреции половых гормонов, пролиферация вагинального эпителия и накопление в нём гликогена, что ведёт к заселению влагалища основной резидентной флорой – лактобактериями. Микробиота постепенно переходит в кокково-бациллярную, а затем в палочковую. Постепенно смещается в кислую сторону реакция вагинальной среды. Концентрация микроорганизмов во влагалище в норме, как правило, не превышает 10^8 – 10^9 КОЕ/мл вагинального секрета и состоит преимущественно из грамположительных микроорганизмов [206, 290].

На особую группу лактобактерий, получивших название палочки *Doderlein*, приходится до 97 % от общего количества вагинальной микробиоты [137, 157].

Изначально предполагали, что в группу *Doderlein* входят только лактобациллы. Но позже было установлено, что пропионовокислые бактерии и бифидобактерии также входят в состав вагинальной индигенной флоры [136, 219]. Эти группы сахаролитических анаэробов выполняют важную роль

в поддержании нормального функционирования микроэкосистемы репродуктивного тракта женщины [219]. Доминирующее положение в вагинальном биотопе данных групп микроорганизмов вызвано наличием у них высоких эволюционно сформировавшихся адаптационных механизмов, благодаря которым они способны активно развиваться в данном биотопе и колонизировать эпителий, образуя с ним прочные симбиотические связи, что важно для успешной конкуренции с факультативной и транзиторной микробиотой. Морфологически вагинальные лактобациллы являются палочками, от крупных до очень мелких, прямых или иногда слегка изогнутых [119, 120]. В вагинальном секрете здоровых женщин концентрация лактобацилл высокая и может достигать 10^9 КОЕ/мл [119, 120].

Бифидобактерии выделяют из влагалища с частотой около 10–15 % [47]. Морфологически это прямые или разветвлённые формы грамположительных палочек, булабовидных или в виде запятых [30, 50].

У здоровых женщин в вагинальном биотопе бифидобактерии встречаются в значительно меньшей концентрации, чем лактобациллы (до 10^7 КОЕ/мл), однако во время беременности и особенно в предродовом периоде их численность резко возрастает. Это вызвано эволюционно сформированной функцией бифидофлоры матери как мощного фактора для защиты новорождённого от колонизации его возможными патогенами [29, 223].

Пропионовокислые бактерии, присутствующие в вагинальном биоценозе, представляют собой грамположительные, аспорогенные, полиморфные мелкие палочки, отличающиеся строгим анаэробизмом. Они обладают антиоксидантными, антиканцерогенными, антимутагенными и иммуностимулирующими свойствами [29, 223]. Большое значение имеет высокая витаминсинтезирующая способность пропионибактерий, особенно относительно витамина B12 [29, 223].

Защита урогенитальной системы от внедрения в неё болезнетворной микрофлоры осуществляется несколькими механизмами: поддержание во влагалище низких значений pH, неблагоприятных для большинства патогенов,

и синтез перекиси водорода, снижающей рост облигатных анаэробов, не имеющих каталазы, в частности бактерий родов *Mobiluncus*, *Bacteroides*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Clostridium*, а также факультативно-анаэробных и аэробных микроорганизмов *G. vaginalis*, *S. aureus*, *Pseudomonas* ssp., *E. coli*, *C. albicans* и др.[119, 120].

Важным защитным фактором вагинальной индигенной микрофлоры является также её способность синтезировать бактериоцины и лизоцим [6]. Прикрепление к поверхности эпителиоцитов и формирование на слизистой влагалища биоплёнки, состоящей из вагинальной слизи, колоний индигенной микрофлоры и её метаболитов, является мощным защитным фактором, предотвращающим адгезию и чрезмерное развитие условно-патогенных микроорганизмов и проникновение их клеток и метаболитов за пределы вагинального биотопа [221].

Существенный интерес вызывает иммуностимулирующая активность микробиоты, в норме заселяющей вагинальный биотоп. Данная способность в основном связана с мурамилдипептидом клеточной стенки лактобактерий, бифидофлоры и пропионовокислых бактерий [217, 219, 221].

Доказано влияние этого структурного компонента на систему локального иммунитета путём стимуляции его гуморального и клеточного звеньев [119, 120]. В результате наблюдается повышение количества активированных макрофагов и иммуноглобулинов, которые препятствуют процессам адгезии и транслокации условно-патогенных микроорганизмов [217, 221].

В состав вагинального биотопа входят также более 40 видов бактерий, включая широкий спектр микроаэрофилов, факультативных и облигатных анаэробов, однако их количество не превышает 5 % [177]. Вагинальная флора у каждой женщины строго индивидуальна и может изменяться в различные фазы менструального цикла и количественно, и качественно: число аэробных микроорганизмов в течение всего менструального цикла является постоянным, а количество анаэробов может изменяться. Кроме этого, понятие нормы различно для разных возрастных, этнических групп и даже географических зон [193, 208],

поэтому вариации нормального микробиоценоза влагалища могут быть различны [23, 49, 98, 142, 213].

К представителям нормальной биоты генитального тракта у женщин также относят такие грамотрицательные строго анаэробные палочковидные бактерии, как *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., *Porphyromonas* spp. и *Prevotella* spp. [177].

Важное место отводится *Prevotellabivia* и *Prevotella disiens* – уникальным микроорганизмам женского полового тракта, встречающимся у женщин в 60 % случаев. Их роль приравнивается к роли *Bacteroides fragilis* в кишечнике. Из половых путей здоровых женщин *B. fragilis* выделяют, по разным данным, в 5–12 % случаев [177].

Кроме лактобактерий, во влагалище здоровых женщин из числа микроаэрофилов выделяют также *Gardnerella vaginalis*, встречающуюся, по данным различных авторов, в 6–60 % случаев [177]. При этом анаэробная флора превалирует над аэробной в соотношении 10:1 [177, 242, 243].

Из факультативно-анаэробных микроорганизмов в репродуктивном тракте женщин часто выделяют каталазопозитивные, коагулазоотрицательные или коагулазонегативные (CNS) стафилококки, стрептококки («зеленящие» (или β), альфа (или гамма), гемолитические), энтерококки и непатогенные коринебактерии. Кишечную палочку (*E. coli*), по разным данным, выделяют у 5–30 % женщин. Другие энтеробактерии (*Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp.) встречаются менее чем у 10 % здоровых женщин. Для нормоценоза характерно присутствие генитальных микоплазм – *M. hominis* и *U. urealyticum*, – которые выявляются у 2–15 % сексуально активных женщин, в то время как *M. fermentas* определяется реже [242, 243]. В вагинальном биотопе здоровых женщин могут также выявляться дрожжеподобные грибы рода *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis* и *C. glabrata*) [41].

Постоянство нормальной (индигенной) микробиоты вагинального биотопа поддерживается иммунной системой вагинальной стенки, на которую влияют такие факторы, как антибиотикотерапия, дисбактериоз кишечника, инфекционно-воспалительные заболевания органов малого таза и желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и многое другое [97].

По результатам других исследований было показано, что сообщества, состоящие из анаэробо-аэробных представителей, более устойчивы к фагоцитозу и внутриклеточному уничтожению, так как они способны продуцировать полный набор важнейших ростовых факторов, что увеличивает их патогенную роль в возникновении и развитии воспалительных процессов [112].

В 80 % случаев анаэробы являются этиологическим фактором ВЗОМТ, чаще всего в виде микст-инфекций: бактериоиды – в 57–78 % случаев, пептококки и пептострептококки в сочетании с грамотрицательными аэробами (*Escherichia coli*) и энтерококками – в 33–69 %, с клостридиями – в 5 % случаев [126, 127].

Известно также, что в значительном числе наблюдений (10–46 %) колонизация вульвы и влагалища представителями семейства *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*) вызывает неспецифические вульвовагиниты [78, 161]. Так, влагалищный дисбиоз, по данным ряда отечественных работ, рассматривают как потенциальный патогенетический кофактор цервикального рака [152, 157].

Вегетация УПМ в репродуктивном тракте (чаще *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., колиформные бактерии) также повышает риск возникновения ВЗОМТ, приводя к интраамниальной инфекции, развитию хориоамнионита, послеродового эндометрита, послеоперационных воспалительных осложнений [78, 150, 161].

Женщины с диагнозом ВЗОМТ в 10 раз чаще, чем здоровые женщины, страдают хроническим болевым синдромом, их в 10 раз чаще оперируют по поводу внематочной беременности, им в 8 раз чаще производится удаление матки, у них в 6 раз чаще диагностируют эндометриоз [41, 72].

По данным отечественных и зарубежных авторов выявлена сильная прямая парциальная связь между изменениями вагинальной микрофлоры и наличием УПМ в биоптате эндометрия [176]. Так, в пилотном исследовании итальянских авторов у 438 из 2190 женщин был диагностирован хронический эндометрит. Доля инфекционных агентов, выявленных во влагалище и эндометрии, составила

в группе женщин с ХЭ 58 % и 73 %, в группе женщин без ХЭ ($n = 100$) – 5 % и 41 % соответственно. Из эндометрия у женщин с ХЭ были детектированы *Streptococcus* spp. (122 случая), *Enterococcus faecalis* (62 случая), *E. coli* (50 случаев), *Staphylococcus* spp. (20 случаев). Популяционная плотность выявленных аэробных микроорганизмов в слизистой эндометрия была значительно выше, чем в цервикальном канале и влагалище [220]. Следовательно, восходящий путь инфекции является преобладающим, что особенно характерно при активной вегетации стафилококков и стрептококков [131]. Энтерококки также являются возбудителями 5–10 % гинекологических инфекций [289]. Однако воспалительный процесс может развиваться и в результате активизации нормальной эндогенной флоры влагалища, например, при снижении местного иммунитета или изменениях в эндокринной системе (роды, аборт) [15].

Таким образом, микробный фактор (как представители индигенной микробиоты, так и УПМ) считается пусковым механизмом инфекционно-воспалительных заболеваний репродуктивного тракта женщины, что может являться основной причиной формирования патологических процессов. Поэтому роль микроорганизмов в физиологии и патологии человека диктует необходимость изучения их взаимодействия с организмом носителя.

1.3. Характеристика и функции кишечного микробиоценоза человека

Самым многочисленным в количественном отношении и по видовому разнообразию является ассоциативный симбиоз толстого кишечника. Состав кишечной микробиоты уникален и индивидуален, а масса микробиоты у взрослого человека достигает 3,0 кг [19, 276]. Общее число ранее (500) и недавно выделенных (1000) видов насчитывает около полутора тысяч [13, 15, 19, 23].

Кишечный микробиом контролирует многочисленные метаболические функции, действуя как мощный биореактор [23, 57, 107, 227]. Микробиом кишечника можно считать дополнительным «микробным органом», так как метаболические возможности его микробиоты равны возможностям печени [107, 133, 275].

Структуру тонкой и толстой кишки формируют до 20 ассоциаций, состоящих в основном из анаэробов (развиваются без кислорода), факультативных анаэробов (развиваются и в присутствии O₂) и аэробных бактерий (развиваются только при наличии кислорода), включая представителей родов *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Escherichia*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* и др. [13, 15, 23, 31].

Нормофлоратолстой кишки, несмотря на видовое многообразие этой экосистемы, представлена только несколькими группами сахаролитических анаэробных бактерий, выполняющих ключевые функции. Главным образом, это представители родов *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* и *Propionibacterium*, являющиеся основой толстокишечного нормобиоценоза, формирующегося как у здорового новорождённого ещё в неонатальном возрасте, так и у взрослых людей всех возрастов. Другие компоненты биоценоза, относящиеся к добавочной (факультативной) и случайной (транзиторной) микробиоте, в норме не превышают 5 % [19, 31].

Бифидобактерии синтезируют аминокислоты, полисахариды, витамины рибофлавин (витамин B₂), пиридоксина гидрохлорид (витамин B₆), тиамин бромид (витамин B₁), фолиевую и пантотеновую кислоты и другие биологически активные метаболиты. Бифидобактерии улучшают процессы гидролиза и всасывания липидов, углеводов, белков, препятствуют колонизации кишечника условно-патогенными микроорганизмами [225].

Представителей рода *Bacteroides* и *Fusobacterium* также относят к постоянной микрофлоре из-за их высокой концентрации в кишечном биотопе [241]. Однако они относятся к условно-патогенным видам и при нарушении физиологического баланса между основными компонентами биоценоза могут приводить к многочисленным инфекционным осложнениям [80, 81, 198].

В толстом кишечнике здоровых людей распространены представители рода строго анаэробных бактерий – *Eubacterium*. Установлено, что представители

их 16 видов могут являться этиологическим фактором разных инфекционных заболеваний [198, 224].

Из аэробной факультативной нормофлоры толстокишечного биоценоза наибольшее значение имеют также микроорганизмы видов *Enterococcus faecium*. Это наиболее численная аэробная часть нормофлоры (до 0,01 % от общей численности), которая в норме стимулирует иммунореактивность организма за счёт постоянного антигенного раздражения системы локального иммунитета. Также *Escherichia coli* синтезирует антибактериальные вещества (колицины и микроцины), витамины группы В и К [94, 142, 163, 197]. При дефиците и ослаблении протекторных свойств сахаролитических анаэробов плотность аэробной флоры может увеличиваться, проявляя патогенные свойства (продукция энтеротоксинов, гемолизинов, подавление фагоцитоза и др.) [94, 163, 197]. Повышение концентрации эшерихий и энтерококков может способствовать миграции этих микроорганизмов в мезентеральные лимфатические узлы и кровь, провоцируя инфицирование паренхиматозных органов (почки, лёгкие, печень, селезёнка, мозг) с развитием многочисленных экстраинтестинальных инфекций (сепсис, менингит, перитонит, пиелонефрит и др.) [74, 94, 142].

Энтерококки и эшерихии приспособлены к развитию в различных биотопах человека, благодаря наличию широкого спектра факторов агрессии, позволяющих им в определённых условиях перемещаться во внутреннюю среду организма и вызывать у иммунодефицитных больных бактериемию, сепсис и др. [36].

Известно, что в современных условиях этиологическим агентом развития 10 % неонатальных инфекций, половина из которых завершается летально, являются энтерококки [62, 216]. Они же являются возбудителями гинекологических инфекций в 5–10 % случаев [289]. Установлено, что при воздействии некоторых антибиотиков *E. faecium* может повышать природную способность к подавлению фагоцитоза и защите от иммуноглобулинов, а также трансформироваться в устойчивые L-формы, благодаря чему энтерококки длительное время могут находиться в организме хозяина [20, 289].

Транзиторная (ещё её называют случайной, аллохтонной, остаточной) микробиота толстого кишечника представлена следующими родами условно-патогенных энтеробактерий: *Citrobacter*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Morganella*, *Hafnia*, а также бактериями родов *Staphylococcus* и *Pseudomonas*, грибами рода *Candida* и др. Суммарно плотность микроорганизмов данной группы не должна превышать 0,001 % от общего количества микрофлоры [48, 94].

Популяционная плотность (концентрация) стафилококков в кишечнике здорового человека не должна превышать 10^3 КОЕ/г. Патогенные стафилококки, такие как *S. aureus*, могут присутствовать в количестве не выше 10^2 КОЕ/г и при нормальном функционировании микробиологической системы не вызывают в организме патологических процессов. Однако при снижении колонизационной резистентности организма возможно развитие эндогенных стафилококковых инфекций [114, 280].

Таким образом, толстокишечный микробиоценоз является основным резервуаром микрофлоры человека и выполняет широкий спектр функций, необходимых для поддержания нормального состояния не только кишечника, но и других жизненно важных органов и систем макроорганизма.

1.4. Особенности микробиоценоза носоглоточного биотопа человека в норме и при воспалительных процессах верхних дыхательных путей

Нормальная микробиота слизистой респираторного тракта является важнейшим фактором, препятствующим проникновению патогенных микробов во внутреннюю среду организма. Слизистая гортани, трахеи, бронхов и всех нижерасположенных отделов остаётся стерильной благодаря защитным свойствам эпителия, биоплёнки, макрофагов, а также продукции секреторного иммуноглобулина А. Несостоятельность данных защитных факторов, снижение их функционирования влечёт за собой поступление патогенных микроорганизмов в нижние отделы дыхательного тракта [9, 63, 140].

Состояние сложившейся локальной экосистемы данного биоценоза зависит от возраста, времени года, состояния питания, реактивности защитных сил организма и множества других эндогенных и экзогенных факторов. Для нормальной микрофлоры носовой полости характерно незначительное присутствие микроорганизмов. Автохтонная микробиота носоглотки представлена коринебактериями (дифтероидами), лактобактериями, нейссериями, коагулазонегативными стафилококками, альфа-гемолитическими стрептококками. Среди случайных (транзиторных) видов могут присутствовать *S. aureus*, *E. coli* и β -гемолитические стрептококки [70, 76, 116].

У детей бактерии родов *Bacillus*, *Neisseria*, *Corynebacterium*, грибы рода *Candida* встречаются в микробиоценозе носовой полости значительно реже. Микробный биоценоз слизистой носа взрослых характеризуется более выраженным представительством бактерий *Corynebacterium*, КОС и *Bacillus* [26, 78].

Состав ротоглотки более разнообразен, так как здесь смешивается микрофлора полости рта и воздухоносных путей [93, 156].

Негемолитические и зеленящие стрептококки, получившие название «оральные», вегетируют на слизистой ротоглотки и встречаются у 100 % здоровых людей в количестве 10^4 – 10^7 КОЕ/тампон. Бактерии рода *Lactobacillus* обнаруживаются в количестве 10^3 – 10^4 КОЕ/тампон [92, 109, 110, 132]. С возрастом микробный фон меняется в связи с особенностями иммунитета и под влиянием различных внешних факторов и приближается к показателям взрослого человека только к 5–8 годам [25, 109].

Благодаря защитным факторам слюны, содержащей лизоцим, лактоферрин, иммуноглобулины, пероксидазу и др., осуществляется контроль избыточного роста микрофлоры и защита ротоглотки от колонизации нетипичных для данного биотопа микроорганизмов [221].

Транзиторными (случайными) микроорганизмами ротоглотки являются: *S. aureus*, *E. coli*, β -гемолитические стрептококки, *Str. pneumoniae*, дрожжеподобные грибы рода *Candida*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* spp.,

Hafnia, *Proteus*, а также микроорганизмы родов *Micrococcus*, *Moraxella*, *Branhamella*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas* [9, 26, 138, 162].

При развитии воспалительного процесса эпителий верхних дыхательных путей (ВДП) теряет свою защитную способность, и из ротоглотки и носовой полости элиминируют физиологически полезные облигатные лактобактерии, оральные стрептококки и создаются оптимальные условия для адгезии и колонизации слизистой патогенными и условно-патогенными микроорганизмами [138].

В результате данной трансформации может развиваться инфекционный процесс. Доминирование представителей УПМ и выявление патогенных микроорганизмов в составе ротоглотки имеют место при возникновении тонзиллита [43, 167]. Тонзиллит является одним из наиболее частых инфекционных заболеваний ВДП. Острый тонзиллит может перейти в хроническую форму. Хронический тонзиллит (ХТ) – это инфекционно-аллергическое заболевание всего организма с местными проявлениями в виде стойкой воспалительной реакции лимфоидного аппарата глотки, а также небных миндалин [113, 167].

По данным ВОЗ, более 100 соматических заболеваний могут быть связаны с ХТ [86, 200]. Исследована взаимосвязь с воспалительными заболеваниями женских внутренних половых органов [46], прослеживается некоторая аналогия с изменениями в эндометрии при хроническом эндометрите.

Так, в исследовании Т. М. Мотовиловой (2015) отмечено сходство ведущих инфекционных агентов, обнаруженных в эндометрии и небных миндалинах у женщин с хроническим эндометритом. Лидирующей флорой, персистирующей в эндометрии и миндалинах, являлись *CNS* (22,4 % и 46,3 % соответственно), *E. coli* (16,4 % и 10,4 % соответственно), *Enterococcus* spp. (16,4 % и 7,5 % соответственно) и *Streptococcus* spp. (8,9 % и 25,4 % соответственно) [179].

Таким образом, носоглоточный биотоп, являясь открытой полостью, способствует возникновению очагов хронических инфекций, каждый из которых может являться источником постоянной контаминации организма

патогенной микробиотой и аллергизации организма в целом. Всё это определяет значимость изучения данного биотопа для нормального функционирования организма человека.

1.5. Нарушения ассоциативной микробиоты слизистых оболочек различных биотопов как фактор воспалительных заболеваний репродуктивного тракта женщин

Результаты научных исследований последних лет установили взаимосвязь биотопов разных полостей человека, однако механизмы взаимодействия микроорганизмов и хозяина, обеспечивающие колонизационную резистентность слизистых, до настоящего времени выяснены не полностью и активно изучаются [112].

Выявлено, что вместе с характерными представителями в вагинальном биотопе обнаруживается микрофлора, несвойственная для данной ниши, что свидетельствует о процессе транслокации микроорганизмов из одного биотопа в другой вследствие снижения колонизационной резистентности слизистых оболочек у женщин с воспалительными заболеваниями полового тракта [53, 84, 91].

Бактериальная транслокация – это прохождение бактерий через слизистый барьер ЖКТ в кровотоки (или) лимфоток. Данный процесс в определённых количествах присутствует всегда. Нарушение баланса поступления и элиминации вызывает как минимум сочетание трёх таких факторов, как увеличение проницаемости слизистой, неконтролируемый рост микрофлоры кишечника, изменение её нормального состава (дисбактериоз) и нарушение местного иммунитета кишечника [36, 190].

В патогенезе транслокации бактерий ведущую роль играет воспаление, формируя порочный замкнутый круг. Численность бактерий и пребывание микробиоты в устойчивом конкурирующем равновесии является одним из немаловажных факторов, влияющих на миграцию бактерий через стенку

кишечника. При эубиозе (нормоценозе) микроорганизмы кишечника пребывают в состоянии устойчивого равновесия [190].

Установлено, что при дисбиозах вагинального тракта в урогенитальном тракте всегда резко возрастает концентрация кишечных микроорганизмов, чаще всего из родов *Bacteroides*, *Escherichia*, *Enterococcus*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Veillonella* и др. [150, 161, 176]. При этом в кишечном и вагинальном микробиоценозах статистически значимо снижается популяционный уровень индигенных сахаролитических бактерий родов *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* и *Propionibacterium*. Интересно также и то, что даже такие микроорганизмы, как *Gardnerella* и *Mycoplasma hominis*, *Mobiluncus*, которые всегда считались исключительно вагинально-дисбиозной флорой, достаточно часто выделяются и из кишечника (не только у женщин, но и у мужчин) [155, 175].

Так, например, аэробный вагинит не сопровождается увеличением анаэробных микробов, тогда как в значительной степени увеличивается частота выделения грамположительных кокков: *Streptococcus agalactiae* (особенно стрептококки группы В), *S. aureus*, *Enterococcus* spp., а также грамотрицательных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, особенно *E. coli*. Все эти микроорганизмы имеют кишечное происхождение и колонизируют влагалище, приводя к изменениям вагинальной флоры [11, 139].

Установлена статистическая значимость острой респираторной вирусной инфекции, перенесённой за 15–45 дней до обследования, в качестве фактора, способствующего нарушениям микрофлоры как в ротоглотке, так и в кишечнике. Маркерами перенесённой респираторной инфекции являются обнаружение энтеробактерий и грибов на слизистой ротоглотки, а также пролиферация гемолизин-продуцирующих эшерихий в толстом кишечнике [109, 141].

Известно, что тонзиллярная инфекция может быть источником кожного пустулеза, связанного с миграцией лимфоцитов из миндалин в кожу с образованием пустул, развитием атрофии эпидермиса, а также с появлением циркулирующих аутоантител [247]. Прослеживается также некоторая аналогия

с изменениями в эндометрии при хроническом тонзиллите. Обращает на себя внимание существенная доля микроорганизмов так называемой «кишечной группы» в эндометрии при ХТ [179].

Исследование микрофлоры, персистирующей в эндометрии и небных миндалинах у женщин с ХЭ, доказало общность этиопатогенетических механизмов развития и поддержания патологических процессов различной локализации, что заставляет пересмотреть значимость экстрагенитальных воспалительных заболеваний и необходимость уделять пристальное внимание в ходе обследования и лечения женщин с ХЭ санации не только эндометрия, но и других очагов хронической инфекции, что позволит улучшить результаты лечения хронического эндометрита [179, 190, 219].

Комплексные исследования микрофлоры слизистых вагинального, кишечного и ротоглоточного микробиоценозов выявили наличие изменений микробиоценоза во всех биотопах у пациенток с невынашиванием и хроническим эндометритом, по сравнению со здоровыми пациентками (фертильными и беременными), которые проявляются в доминировании ассоциаций и высокой колонизации условно-патогенных микроорганизмов [166].

Необходимо отметить, что изменения микробиоценоза вагинального биотопа, возникшие на ранних сроках беременности, наиболее неблагоприятно сказываются на течении беременности, родов, послеродового периода и состоянии здоровья новорождённых [71, 121, 166, 191]. Причиной фетоплацентарной недостаточности являются также бактериальные инфекции при беременности [71]. Данная патология способствует развитию гестозов, невынашиванию, развитию синдрома задержки роста плода, перинатальной смертности. Изменения, заложенные внутриутробно, особенно у лиц женского пола, формируют в дальнейшем порочный круг, ведущий к хронической патологии в детородный период и к заболеваниям новорождённого [69, 199].

Таким образом, выраженность нарушений в различных биотопах организма женщины свидетельствует о высоком риске хронизации воспалительных процессов в органах малого таза и увеличения риска неблагоприятного исхода

беременности, а наличие тесной связи между биотопами служит обоснованием комплексного исследования, что позволит расширить научные знания о профилактике данной группы заболеваний и снизить уровень эндогенного инфицирования у женщин репродуктивного возраста.

1.6. Роль энтерококков в патогенезе воспалительных заболеваний у человека, характеристика основных факторов патогенности

Энтерококки являются естественными обитателями организма человека и выполняют неоднозначную роль. Они одними из первых населяют организм новорождённого, и система врождённого иммунитета не распознает их как врагов. Обитают они в ротовой полости, кишечнике, женском генитальном тракте, коже, а также в уретре мужчин. Некоторые штаммы энтерококков, приобретая ряд признаков патогенности, вызывают разные воспалительные заболевания, и доказательства их участия в последнее время только увеличиваются [83, 106]. Но односторонняя оценка энтерококков очень часто не позволяет объективно оценить их значение, так как многие из них являются составной частью нормальной микрофлоры. Выявление у больного энтерококков часто является неразрешимой задачей для клиницистов в плане определения врачебной тактики [106, 251].

Род *Enterococcus* включает 16 основных видов, из которых наиболее распространёнными являются *E. faecalis* и *E. faecium*. В клиническом материале от человека чаще других видов встречаются *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. gilvus* и *E. pallens*.

Большинство инфекций, вызываемых энтерококками, носят эндогенный характер и обусловлены инвазией микроорганизмов при избыточной колонизации данными бактериями сайтов адгезии. Исследованиями убедительно показана возможность возникновения нозокомиальной инфекций, особенно при высокой частоте применения цефалоспоринов широкого спектра действия [55, 59]. Особую опасность представляет пролиферация мультирезистентных видов *E. faecium* и *E. faecalis*. Эти микроорганизмы обладают способностью быстро приобретать

устойчивость ко многим антибактериальным препаратам (АБП) и передавать её другим бактериям. Энтерококки являются одними из наиболее распространённых участников развития анаэробно-аэробных микстинфекций [184, 269]. Являясь факультативными аэробами, они способны эффективно стимулировать рост и усиливать вирулентный потенциал облигатно-анаэробных патогенов [10].

Существующий ранее феномен оппозитного (усиление/подавление) влияния микроорганизмов на биологические свойства других микросимбионтов в условиях микросимбиоза получил подтверждение и в отношении энтерококков, и может быть важным для понимания патогенетических особенностей формирования эндогенных инфекций и дисбиозов в различных биотопах организма человека [173]. Так, проведённые исследования по межмикробным взаимодействиям энтерококков, отличающихся по наличию генетических детерминант вирулентности, с *C. albicans* показали, что *E. faecium* способны подавлять биоплёнкообразование и антилизоцимную активность грибов *C. albicans*, тогда как *E. faecalis*, выделенные из репродуктивного и кишечного биотопов, напротив, способны повышать их персистентные свойства [3, 145].

Так, при сокультивировании генитальных *E. faecalis*, выделенных из влагалища и цервикального канала женщин с воспалительными заболеваниями, с микоплазмами различной вирулентности возрастает частота встречаемости всех генов: *cps* (адгезия и колонизация), *cytm* (токсигенность, цитолизин) и *cpd* (бактериоциогенность), – по сравнению с показателями, полученными до сокультивирования, что приводило к формированию более выраженной патогенности видов *E. faecium* и *E. faecalis* [95].

Известно, что *Enterococcus* spp. также выступает в качестве копатогена с *E. coli*, которая является наиболее распространённым возбудителем тяжёлых эндогенных инфекций [153, 171]. Однако рядом авторов выявлена способность энтерококков ингибировать рост листерий, стафилококков, лактобацилл, клостридий, энтеробактерий и псевдомонад *in vitro* [182, 260]. При изучении Н. В. Бугеро с соавт. персистентных свойств энтерококков в монокультуре

и при сокультивировании с *Blastocystis hominis* выявлено нарастание экспрессии персистентных характеристик у энтерококков, которое ограничивает размножение паразитов (*B. hominis*) в кишечнике больных, что представляет собой процесс взаимной адаптации, направленный на обеспечение совместного длительного паразитирования в макроорганизме [18].

По этиологической значимости энтерококки занимают второе место после коагулазоотрицательных стафилококков: так, в 7–10 % случаев бактериемии имеют энтерококковую этиологию [153]. В последнее десятилетие основную долю выделенных от человека энтерококков составляли *E. faecalis* (80–90 %), и всего 5–10 % приходилось на долю *E. faecium* [10, 153, 237, 291]. В настоящее время ситуация изменяется с точностью до наоборот, но бактерии вида *E. faecalis* характеризуются большей вирулентностью [145].

Патогенные свойства энтерококков определяются несколькими основными механизмами и связаны в первую очередь с факторами устойчивости к эффекторам иммунитета и так называемым «факторами агрессии» [51, 256]. Для энтерококков характерна природная способность приобретать, аккумулировать и трансформировать экстрахромосомные элементы, кодирующие вирулентность и дающие им преимущество при выживании в необычных внешних условиях, стрессовых и неблагоприятных состояниях, что может объяснить их возрастающую важность как нозокомиальных патогенов. С помощью иммуноблотинга у энтерококков были определены стресс-протеины, отвечающие за устойчивость к действию тепла, этанола, повышенной концентрации (6,5 %) NaCl, перекиси водорода и сдвига pH [204].

В настоящее время установлено, что участки генома с генами вирулентности являются мобильными элементами и способны передаваться от одного штамма другому. Данные генетические элементы, называемые «островами» патогенности (ОП), могут содержать различный набор генов вирулентности, включая гены устойчивости к антибиотикам [261, 263, 272, 282]. Большинство исследователей полагают, что именно данные гены наиболее важны для развития энтерококкового инфекционного процесса [236].

Основным механизмом горизонтального переноса генов вирулентности, по данным С. В. Шестакова (2007), является плазмидная передача. У клинических изолятов *E. faecalis* обнаружена плаزمида, кодирующая синтез поверхностного белка, сообщающего способность энтерококкам к интеграции с клетками кишечного эпителия. Также описана новая конъюгативная плазмида pBEE99у штамма *E. faecalis*, которая обеспечивает повышенную устойчивость к действию ультрафиолета и способность к образованию биоплёнки [231, 232].

На «островах» патогенности в геноме энтерококков обнаруживают комплекс генов цитолизина или гемолизина (*cyl*) [14], гены адгезии и последующей инвазии (*esp*, *asa1* и *efaA*), ген поверхностно экспрессируемой сериновой протеиназы (*sprE*), гидролазы желчных кислот (*bhs*), гены устойчивости к ванкомицину (*vanA*, B, C) и ряд других генов. Одновременное присутствие в некоторых штаммах генов желатиназы (*gelE*), сериновой протеиназы (*sprE*) и адгезина (*efaA*) предполагает наличие ОП в их геноме [120, 153, 233]. Цитолизины, сериновая протеиназа (*sprE*), гиалуронидаза и липазы вызывают токсическое повреждение тканей [120]. Цитолизины (гемолизины) – это бактериоцины с широкой литической активностью в отношении эритроцитов, которые кодированы на плазмиде, но могут быть кодированы на хромосоме. Мишенями их действия являются эритроциты, полиморфно-ядерные лейкоциты, нейтрофилы, макрофаги и широкий круг грамположительных бактерий [266]. Экспрессия гемолизина или цитолизина определяется двухкомпонентной регулирующей системой через *quorum sensing* [252]. Гиалуронидаза деполимеризует мукополисахаридные фрагменты соединительной ткани и таким образом повышает бактериальную инвазивность [248, 249]. Кроме того, она способствует распространению бактерий и их токсинов в ткани организма-хозяина [92].

Одним из наиболее изученных факторов *Enterococcus faecalis* является ген *gelE*, который кодирует гидролиз желатина, казеина, коллагена и других пептидов и контролируется двухкомпонентной системой FSR, состоящей из четырёх генов (*fsrA*, *fsrB*, *fsrD* и *fsrC*) [235, 278]. Выработка двух вирулентных факторов:

желатиназы (GelE) и сериновой протеазы (SprE), – является кворум-зависимым процессом [281]. В нескольких независимых исследованиях было показано, что наличие гена *gelE* обуславливает тяжесть системных заболеваний. При этом гены, кодирующие синтез белка GelE, могут передаваться от более вирулентных менее вирулентным штаммам энтерококков посредством горизонтального переноса [196].

Многие исследователи показали, что в клинических штаммах *E. faecalis*, в отличие от штаммов, выделенных от здоровых людей, ген *gelE* обнаруживается, по данным разных авторов, в 55–100 % случаев [250, 245] и играет важную роль в формировании биоплёнок энтерококков вида *faecalis* [278]. К факторам вирулентности относят также факторы, индуцирующие воспаление [196, 210, 234].

Обнаружена связь между наличием в штаммах энтерококков тех или иных генов патогенности и характером течения патологического процесса [37].

К заболеваниям человека, вызываемым энтерококками, относят эндокардит, инфекции кожи и мягких тканей, мочеполовой системы, остеомиелит, септический артрит, бактериемии, катетер-ассоциированные инфекции, инфекции дыхательных путей, интраабдоминальные инфекции, эндофтальмит. Риск развития энтерококковых инфекций значительно увеличивается у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника [115, 254].

В исследовании Т. Ю. Пестриковой (2009) у женщин с кольпитом, сальпингоофоритом из репродуктивного тракта и кишечника чаще выделялись *Enterococcus faecalis*, а гены патогенности (*esp*, *gelE*, *asa*, *cylA*, *cylB*, *cylM*) были обнаружены только у изолятов вида *Enterococcus faecalis* [145].

У 168 женщин с воспалительными заболеваниями (аднексит, кольпит, эндоцервицит) энтерококки были выделены из влагалища и цервикального канала в 85,1 % и 55,9 % случаев соответственно, у здоровых женщин – в 46,6 % и 26,6 % случаев соответственно [136]. Плотность микробного обсеменения *E. faecalis* при воспалительных заболеваниях увеличивалась во влагалище также в 2,1 раза, в цервикальном канале – в 3,4 раза [136].

Одним из важных критериев оценки вирулентности энтерококков является устойчивость к антибиотикам [244, 262]. Способность энтерококков приобретать устойчивость к АБП осуществляется путём переноса плазмид, транспозонов, хромосомным обменом или вследствие мутаций [262]. Кроме сложностей антибиотикотерапии при лечении заболеваний, вызванных мультирезистентными штаммами энтерококков, существует риск переноса приобретённой устойчивости к патогенным бактериям, таким как *Staphylococcus aureus* [264, 267] и *Listeria spp.* [229]. Также была обнаружена способность энтерококков модулировать вирулентность организма путём селективного удаления конкретных ОП. Способность к изменениям подобного рода позволяет энтерококку перемещаться в различные биотопы хозяина, вызывая развитие патологического процесса [273].

Следует указать, что энтерококки редко являются причиной инфицирования здоровых лиц. Только при значительном снижении резистентности макроорганизма, особенно при травмах кишечника или мочеполового тракта, в результате инструментальных исследований они могут проникать в стерильные в нормальных условиях органы и ткани организма хозяина, вызывая оппортунистические инфекции мочевыводящих путей, бактериемию, сепсис, подострый септический эндокардит, инфекции желчных путей или абсцессы в брюшной полости [168, 172, 194, 204].

Таким образом, приведённые данные литературы и результаты исследований указывают на неоднозначную роль энтерококков. Следовательно, участие представителей рода *Enterococcus* в патогенезе воспалительных заболеваний у человека не подвергается сомнению, но остаётся недостаточно изученным.

ГЛАВА 2

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы исследования

Работа выполнена в период с 2013 по 2017 гг. в лаборатории микробиома и микроэкологии (заведующая – к.б.н. Е. И. Иванова) и в Центре инновационной медицины клиники ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (директор – д.м.н., профессор РАН Л. В. Рычкова).

В клинику обратились 116 женщин с подозрением на хронический эндометрит. Их средний возраст составил $31,3 \pm 5,6$ года (Рисунок 1).

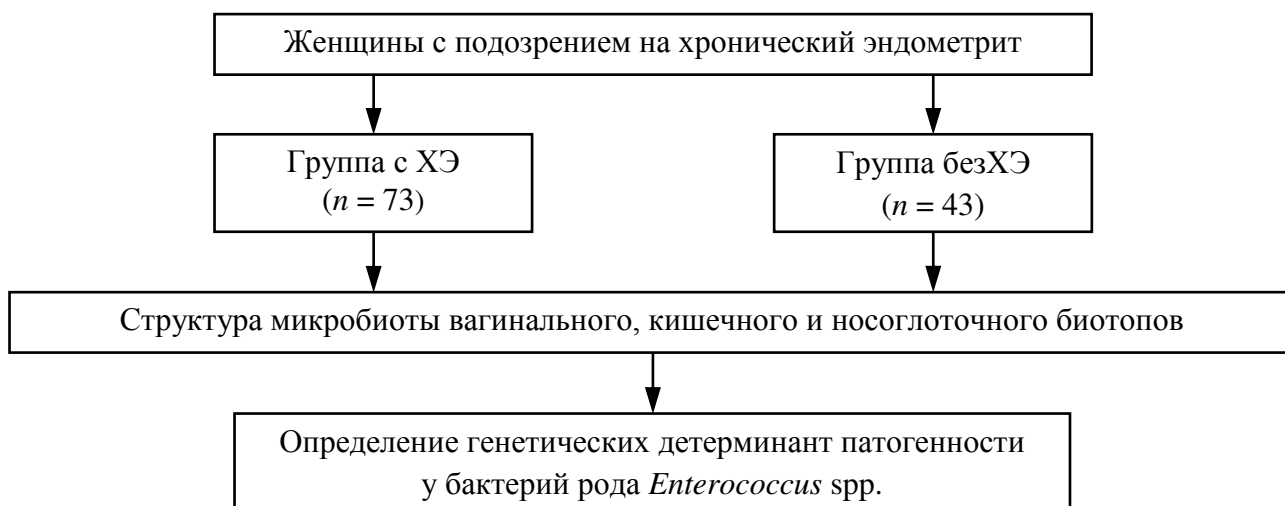


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Критериями включения в группы были: репродуктивный возраст; наличие информированного согласия на исследование; жалобы на перименструальные и/или межменструальные кровянистые выделения; тянущие боли внизу живота; бесплодие (первичное или вторичное); невынашивание беременности; данные анамнеза, свидетельствующие о наличии острого эндометрита в послеродовом периоде; внутриматочные манипуляции (лечебно-диагностические выскабливания, гистероскопии, медицинские аборты).

Критерии исключения: эндокринные причины репродуктивных нарушений; врождённые тромбофилии; антифосфолипидный синдром; острые воспалительные заболевания органов малого таза на момент исследования.

Женщины исследованных групп были сопоставимы по возрасту, индексу массы тела и социальному статусу, то есть отобраны по типу «копия – пара».

Диагноз ХЭ верифицирован по результатам патогистологического исследования эндометрия, проводимого на 4–9-й день менструального цикла. Обследование проводилось в соответствии с общепринятыми стандартами обследования пациенток с ХЭ (N71).

При работе с больными соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2008 ред.)).

Были сформированы две группы: в первую вошли 73 пациентки с ХЭ (средний возраст $31,0 \pm 5,3$ года), во вторую – 43 пациентки без ХЭ (средний возраст $31,5 \pm 5,9$ года).

Анализ анамнеза показал, что бесплодие в группе женщин с ХЭ было выявлено в 73 % случаев, в группе без ХЭ – в 77 % случаев ($p > 0,05$). Невынашивание беременности (самопроизвольные выкидыши, неразвивающаяся беременность) отмечено в группе с ХЭ в 55 % случаев, в группе без ХЭ – в 56 % случаев ($p > 0,05$). В анамнезе роды были у 37 % и 44 % женщин в группах с ХЭ и без ХЭ соответственно ($p > 0,05$). Родоразрешены путём операции кесарево сечение 7 % женщин в каждой из групп ($p > 0,05$). Аборты в анамнезе были у 18 % женщин группы с ХЭ и у 30 % женщин без ХЭ ($p > 0,05$). Оперативное вмешательство на органах малого таза имели 15 % женщин группы с ХЭ и 12 % женщин группы без ХЭ ($p > 0,05$).

В анамнезе обследованные женщины имели следующие гинекологические заболевания: сальпингоофорит (хронические заболевания маточных труб и яичников (N70–N77) – в 30 % и 35 % случаев в группе с ХЭ и без ХЭ соответственно ($p > 0,05$); эндометриоз (N80) и миома матки (D25) – в 14 % и 23 % ($p > 0,05$) и 16 % и 21 % случаев соответственно ($p > 0,05$); полип

эндометрия (N84.0) – в 21 % и 19 % случаев соответственно ($p > 0,05$); киста яичников (N70–N77) – в 16 % и 14 % случаев соответственно ($p > 0,05$); воспалительные заболевания шейки матки (N72) – в 80 % и 98 % случаев соответственно ($p > 0,05$). Среди вариантов нарушений менструального цикла (N91–N93) в группах с ХЭ и без ХЭ были выявлены дисменорея – в 34 % и 37 % случаев соответственно ($p > 0,05$), аменорея и маточные кровотечения – в 2,7 % и 2,3 % случаев соответственно ($p > 0,05$).

Характер выявленных гинекологических нарушений у женщин исследованных групп рубрифицирован в соответствии с МКБ-10.

Из сопутствующих соматических заболеваний в группах с ХЭ и без ХЭ в анамнезе отмечены: цистит – в 21 % и 19 % случаев соответственно ($p > 0,05$); пиелонефрит – в 16 % и 9 % случаев соответственно ($p > 0,05$); гастрит – в 11 % и 9 % случаев соответственно ($p > 0,05$); холецистит – в 7 % и 2 % случаев соответственно ($p > 0,05$); пневмония – в 10 % и 2 % случаев соответственно ($p > 0,05$); хронические ЛОР-заболевания – в 37 % и 23 % случаев соответственно ($p > 0,05$).

Таким образом, пациентки исследуемых групп были сопоставимы по большинству анамнестических данных.

2.2. Методы исследования

Анализ медицинской документации и анкетного опроса

На первом этапе проводили сбор информации путём выборки данных из первичной медицинской документации – амбулаторной карты пациентки, в которую включались жалобы, данные анамнеза, результаты клинико-лабораторных и инструментальных методов исследования.

Микробиологические методы исследования

Микробиологическое исследование биотопа влагалища и носоглотки проводили согласно Приказу МЗ СССР № 535 от 22.04.1985 г. «Об унификации

микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». Клинический материал забирали с заднего свода влагалища стерильным ватным тампоном в пробирку с транспортной средой AMIES, являющуюся модификацией среды STUART. Материал со слизистых оболочек зева и носовой полости забирали натошак или через 2 часа после еды ватным тампоном в пробирку с транспортной средой с соблюдением правил асептики. Посев материала на питательные среды осуществляли не позднее чем через 2 часа после забора анализа. Первичный посев осуществляли на 5%-й кровяной агар, желточно-солевой агар и агар Сабуро. Посев производили на среды, хранившиеся при комнатной температуре или согретье в термостате. При посеве тампоном материал втирали в среду со всей поверхности тампона на небольшом участке в 1–2 см², а затем штрихами по всей поверхности питательной среды. Посевы помещали в термостат при 37 °С. Посевы исследуемого материала просматривали после 24–48-часовой инкубации при 37 °С. Культивирование микрофлоры проводили в аэробных и микроаэрофильных условиях. Учитывали количество выросших колоний, соотношение отдельных ассоциантов, описывали характер колоний. Выделяли чистые культуры микроорганизмов, проводили их родовую и видовую идентификацию с использованием коммерческих тест-систем (STREPTOtest, STAPHtest, ENTEROtest, LACHEMA, Чехия) и определяли чувствительность к АБП.

Бактериологическое исследование качественного и количественного составов содержимого кишечника проводили согласно Отраслевому стандарту «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» 91500.11.0004-2003 (2003).

Сбор копроматериала осуществлялся в стерильные одноразовые контейнеры с завинчивающейся крышкой. Собранный копроматериал доставляли в лабораторию в течение 2 часов с момента дефекации. Высев на питательные среды осуществляли из десятикратных разведений.

Посевы инкубировали в термостате в течение 24–48 ч при 37 °С с последующим изучением культуральных, морфологических, тинкториальных

свойств выросших колоний. Идентификацию выделенных культур семейства *Enterobacteriaceae* проводили с использованием общепринятых схем идентификации как классическим методом, так и с использованием коммерческих тест-систем для биохимической идентификации энтеробактерий: СИБ (НИИЭМ, г. Нижний Новгород), ENTEROtest 16 и ENTEROtest 24 (PLIVA-Lachema, Чехия), среды Гисса. Инкубация посевов на плотных средах для выделения лакто- и бифидобактерий осуществлялась в микроанаэроостате с использованием газогенерирующих пакетов «Анаэрогаз». Идентификацию дрожжеподобных грибов осуществляли с использованием хромогенного агара (HiMedia, Индия). Для идентификации неферментирующих бактерий использовалась стандартная схема [104, 134]. В результате микробиологического исследования идентифицировались виды микроорганизмов кишечного содержимого и определялось количество микробов. С этой целью после ночной инкубации производили подсчёт колоний аэробных бактерий на плотных питательных средах с учётом степени разведения фекалий и величины посевной дозы по формуле:

$$M = N \times 10^{n+1}, (1)$$

где: M – количество микроорганизмов в 1 г фекалий;

N – количество выросших на чашке колоний;

n – степень разведения фекалий.

Оценка результатов проводилась согласно Отраслевому стандарту «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» 91500.11.0004-2003. Степень обсеменённости образцов выражали в виде десятичного логарифма на 1 г фекальной массы (lg КОЕ/г).

Степень нарушения количественного и качественного состава микроорганизмов кишечника определялась по классификации В. Б. Гриневича с соавт. (2003), И. Б. Куваевой и К. С. Ладодо (1991) и согласно Отраслевому стандарту «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» 91500.11.0004-2003. Для I степени дисбиотических нарушений характерно

снижение на 1–2 порядка количества бифидо- и лактобактерий, кишечной палочки и появление атипичных кишечных палочек. II степень дисбиотических нарушений характеризуется увеличением количества условно-патогенных микроорганизмов – стафилококков, протей (до 10^5 – 10^7 КОЕ/мл) – на фоне снижения на 3–4 порядка содержания бифидо- и лактобактерий. Условно-патогенная флора приобретает незначительно выраженные гемолитические свойства, т. е. уже способна проявлять агрессивность. При III степени дисбиотических нарушений отмечается значительное уменьшение количества анаэробов (бифидо- и лактобактерий – до 10^5 – 10^6 КОЕ/мл) и постепенное увеличение аэробов (до 10^6 – 10^7 КОЕ/мл и выше). Условно-патогенная флора приобретает выраженные агрессивные свойства. На этой стадии в большом количестве выявляют грибы рода *Candida*, энтеробактерии, стафилококки. Отмечают значительные изменения количественных соотношений облигатных и факультативных микроорганизмов, их биологических свойств, накопление энтеро- и цитотоксинов.

При интегральной оценке микрoэкологических характеристик в аналитической части работы для выявления долевого участия разных видов в структуре биоценоза мы использовали коэффициент постоянства (C), определяемый по формуле:

$$C = (p/P) \times 100\%, (2)$$

где: C – коэффициент постоянства;

p – число наблюдений, содержащих изучаемый вид;

P – общее число наблюдений.

Интерпретация результатов: $> 50\%$ – постоянный вид; 25 – 50% – добавочный вид; $< 25\%$ – случайный вид. При этом доминирующими считали виды, встречающиеся более чем в 50% случаев, добавочными – виды, встречающиеся от 25 до 50% случаев, случайными – виды, встречающиеся менее чем в 25% случаев [40, 61, 183].

В целях определения количественного взаимодействия между членами микробиоценоза вычисляли коэффициент сходства Жаккара (q) по формуле:

$$q = c/a + b - c \times 100 \%,$$

где: a – число наблюдений с видом a ;

b – число наблюдений с видом b ;

c – число наблюдений, содержащих оба вида.

Интерпретация: $q \leq 30 \%$ –антагонистические условия в биотопе; $q = 30–70 \%$ – бактерии способны к сосуществованию, а их экологическая общность велика (синергизм); $q \geq 70 \%$ – возможно только совместное существование бактерий (мутуализм) [35].

Молекулярно-генетические исследования

Выделение ДНК для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР)

Бактериальную ДНК выделяли из суточной культуры энтерококка, выращенной при 37 °С на энтерококкагаре (ФБУН ГНЦ Прикладной микробиологии и биотехнологии, г. Оболенск) и (или) на желчно-эскулиновом агаре (HiMedia). Материал, полученный в результате нескольких касаний газона петлёй, помещали в 200 мкл Tris-EDTA (TE) буфера в пробирки «Eppendorf» и ресуспендировали с помощью вортекса. Выделение ДНК из суспензии осуществляли с помощью комплекта реагентов «ДНК-сорб-АМ» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, г. Москва). Метод экстракции заключается в следующем: исследуемый материал обрабатывается лизирующим раствором в присутствии частиц силики – сорбента. В результате происходит деструкция клеточных мембран и высвобождение ДНК. Растворённая ДНК в присутствии лизирующего раствора связывается с частицами сорбента, в то время как другие компоненты лизированного исследованного материала остаются в растворе и удаляются при осаждении сорбента центрифугированием и последующей отмывкой. При добавлении раствора для элюции ДНК к сорбенту происходит переход ДНК с поверхности силики в раствор, который отделяется от частиц сорбента

центрифугированием. В результате указанной процедуры получается высокоочищенный препарат ДНК, свободный от ингибиторов реакции амплификации, что обеспечивает высокую аналитическую чувствительность.

В пробирки «Eppendorf» согласно инструкции вносили сорбент универсальный и лизирующий раствор в необходимых количествах. Далее вносили 100 мкл образца, перемешивали на вортексе и инкубировали в течение 5 мин в термостате при 65 °С. После инкубации содержимое вновь перемешивали на вортексе и оставляли при комнатной температуре на 2 мин. Далее осаждали сорбент в пробирках центрифугированием при 10 тыс. об./мин в течение 30 сек.

Надосадочную жидкость удаляли с помощью вакуумного отсасывателя в колбу-ловушку, после чего в пробы добавляли 1 мл отмывочного раствора, перемешивали на вортексе, вновь центрифугировали и удаляли надосадочную жидкость. Затем помещали пробирки с открытыми крышками в термостат на 5–10 мин для подсушивания сорбента, добавляли 100 мкл ТЕ-буфера для элюции ДНК, перемешивали на вортексе до полного ресуспендирования сорбента и помещали в термостат на 5 мин. Последний этап – центрифугирование при 12 тыс. об./мин в течение 1 мин на микроцентрифуге. Надосадочная жидкость содержала очищенную ДНК.

Проведение ПЦР-амплификации фрагментов генома бактерий видов

E. faecalis и E. faecium

Амплификацию проводили с использованием коммерческого набора AmpliSens-200-1 (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, г. Москва). Реакционная смесь в объёме 15 мкл включала: 3 мкл 5 × ПЦР-буфера; 1,5 мкл MgSO₄; 7,2 мкл H₂O; 0,3 мкл dNTPmix; по 1 мкл F-R-праймеров; 0,05 мкл Taq-полимеразы; 2 мкл ДНК исследуемого микроорганизма. ПЦР проводили с 4 парами специфических праймеров (Таблица 1), определяющих наличие генов, ассоциированных с «островами» патогенности. В работе нами использовались специфичные праймеры, указанные в литературных источниках, нуклеотидная

последовательность которых тесным образом связана с генами патогенности: генами, кодирующими участие в процессе адгезии и последующей инвазии (*asa1*), кодирующими синтез сериновой протеиназы (*sprE*) и желатиназы (*gelE*), отвечающими за проникновение и разрушение тканей, цитолизинном (*cyIM*), вызывающим гемолиз и токсигенность. Характеристика и структура праймеров взята из литературных источников [14, 15, 16]. Праймеры синтезированы в ЗАО «Евроген Ру» (Москва).

Таблица 1 – Характеристики праймеров, используемых в работе

Виды, гены		Последовательности ДНК праймеров (5'-3')	Размер ампликона, п. н.
<i>asa1</i>	F	CCAGCCAACTATGGCGGAATC	529
	R	CCTGTCGCAAGATCGACTGTA	
<i>gelE</i>	F	ACCCCGTATCATTTGGTTT	419
	R	ACGCATTGCTTTTCCATC	
<i>cyIM</i>	F	GATTGGAATGTGGGAATCCTAA	825
	R	ACTTCCGGCAACSTTTAGTGTA	
<i>sprE</i>	F	GCGTCAATCGGAAGAATCAT	233
	R	CGGGGAAAAAGCTACATCAA	

Термическая программа цикла амплификации проводилась на амплификаторе (Applied Biosystems 2720 Thermal Cycles) и определялась подбором оптимальных программ, при которых результат был наиболее чётким. ПЦР проводили в условиях: 95 °С– 2 мин; 95 °С – 20 с; 50–55 °С – 20 с; 72 °С – 30 с; 35 циклов. Для праймеров *sprE* использовали температуру отжига 50 °С, с остальными парами праймеров ПЦР проводили при температуре отжига 55 °С.

Продукты амплификации анализировали путём электрофоретического разделения в 1,5%-м агарозном геле, окрашенном бромистым этидием (10 мг/мл). В качестве буферной системы использовали трис-ацетатный буфер. Электрофорез

проводили в режиме: 100 В, 50 мА, 1 час 30 мин. В качестве маркера использовали O'RangeRuler 100 bp DNA Ladder («Fermentas», Литва), в качестве отрицательного контроля использовали реакционную смесь, не содержащую ДНК. Результаты визуализировали в ультрафиолетовом свете и документировали с помощью программы inVCR на трансиллюминаторе UVT 1 bioком.

Методы статистического анализа

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.1 (StatSoft Inc., США), BioStatv. 5.0.1.2008 (правообладатель лицензии – ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека») [39].

Характер распределения (нормальность) оценивали методами Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро – Уилка. Для качественной оценки использовали абсолютные и относительные показатели (доли, %). Биометрический анализ включал анализ таблиц сопряжённости с оценкой значений статистики Пирсона хи-квадрат (χ^2) или точного одностороннего критерия Фишера. Внутригрупповые взаимосвязи количественных признаков определяли корреляционным анализом Пирсона (для нормально распределённых величин) и непараметрическим методом Спирмена [60].

Для оценки рисков использовали четырёхпольные таблицы сопряжённости. Воздействие конкретного фактора оценивали по величине относительного риска (ОР) и 95% доверительного интервала (ДИ). Подсчёт 95% ДИ для частот и долей производился с использованием онлайн-калькулятора, разработанного J. Sauro в 2005 г. [271] (<http://www.measuringu.com/wald#point>) и онлайн-калькулятора, предложенного порталом Vassar Stats: Web Site for Statistical Computation (<http://vassarstats.net/>). Если значения нижней и верхней границ находились по одну сторону от 1, ДИ не включал 1, то делался вывод о статистической значимости выявленной связи между фактором и исходом с вероятностью ошибки $p < 0,05$.

Для классификации полученных результатов, оценки качества классификации и выбора наиболее информативных признаков с целью отнесения женщин, больных ХЭ, в группы риска по возникновению нарушений микробиома при ХЭ был использован многофакторный дискриминантный анализ. Различия сравниваемых показателей считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

ГЛАВА 3

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Характеристика микробиоценоза вагинального тракта у женщин с хроническим эндометритом

Микробиоту слизистой вагинального биотопа следует рассматривать как своеобразную экологическую систему, и её состояние имеет большое значение для репродуктивного здоровья женщины [108, 163, 205]. Изменение качественного и количественного составов микроорганизмов этого биологуса, а также их соотношения с клетками макроорганизма может привести к развитию дисбиоза влагалища или вульвовагинита [167, 207, 219]. На фоне данных нарушений микрофлоры влагалища и цервикального канала очень часто происходит развитие воспалительных заболеваний внутренних половых органов женщин, являясь отражением наибольшей степени дисбиоза, повышением патогенного потенциала бактерий и следствием дисбаланса защитных сил организма [66, 103, 163, 165, 174, 218].

Согласно современным представлениям, все микроорганизмы, обнаруживаемые во влагалищно-шеечной экосистеме, за исключением лактобактерий и бифидобактерий, могут инициировать развитие эндометрита [125, 179]. Мнение о превалировании в генезе эндометрита микробных ассоциаций, особенно условно-патогенных аэробных и анаэробных бактерий, в условиях, когда вирулентность составляющих биоплёнку микроорганизмов и их устойчивость к антибиотикам возрастает, сегодня является наиболее популярным [41].

На первом этапе исследования нами была проведена оценка количественного и качественного составов микробиоценоза вагинального тракта женщин с ХЭ и без ХЭ. Мы оценивали частоту выделения индигенной

(лактобактерии) и условно-патогенной микрофлоры у женщин обеих групп (Таблица 2). Для этой цели использовали следующие показатели: коэффициент постоянства (C) (доля участия разных видов в структуре биоценоза) и показатель популяционной плотности (степень обсеменённости образцов выражали в виде десятичного логарифма на 1 г материала (\lg КОЕ/г)).

Таблица 2 – Частота выделения и популяционная плотность микроорганизмов вагинального биотопа у женщин исследованных групп

Наименование микроорганизма	Группа с ХЭ		Группа без ХЭ	
	Коэффициент постоянства (C), % ($n = 61$)	Показатель популяционной плотности, \lg КОЕ/г	Коэффициент постоянства (C), % ($n = 38$)	Показатель популяционной плотности, \lg КОЕ/г
<i>Инดิгенная микробиота</i>				
<i>Lactobacterium spp.</i> , вт. ч.:	59 (96,7)	4,4	37 (97,4)	6,3
в пределах нормы ($\geq 6 \lg$ КОЕ/г)	27 (44,3)	6,3	26 (68,4)*	6,3
дефицит ($\leq 6 \lg$ КОЕ/г)	32 (52,5)	2,7	11 (28,9)*	2,4
<i>Условно-патогенная микробиота</i>				
<i>E. faecalis, E. faecium</i>	36 (59)	4,5	12 (31,6)*	4,0
CNS	35 (57,4)	3,4	10 (26,3)*	2,8
<i>Streptococcus spp.</i>	12 (19,7)	4,5	4 (10,5)	4,0
<i>E. coli</i>	12 (19,7)	4,6	9 (23,7)	3,4
<i>Enterobacter, Klebsiella</i>	8 (13,1)	4,6	0	0
Грибы рода <i>Candida</i>	7 (11,5)	4,5	7 (18,4)	3,9
<i>S. aureus</i>	4 (6,6)	3,3	1 (2,6)	3,0
<i>Corynebacterium spp.</i>	2 (3,3)	3,0	6 (15,8)	3,0

Примечание: * – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

При анализе количественно-качественного состава микробиоты вагинального биотопа женщин группы с ХЭ по отношению к данным группы без ХЭ был выявлен более высокий процент встречаемости энтерококков ($\chi^2 = 6,001$; $p = 0,014$) и коагулазоотрицательных стафилококков ($\chi^2 = 7,902$;

$p = 0,005$), низкий процент выделения лактобактерий в пределах нормы ($\chi^2 = 4,565$; $p = 0,033$), и ниже нормы или полное отсутствие лактобактерий ($\chi^2 = 4,355$; $p = 0,037$) (Таблица 2).

Полученные результаты подтверждают снижение колонизационной резистентности индигенной микробиоты влагалища, и, как следствие, заселение его УПМ (энтерококки, стафилококки и др.). Наши данные согласуются с результатами ряда исследований, на основании которых основными этиологическими факторами ХЭ являются именно данные виды УПМ (стафилококки, энтерококки) [41, 176].

Доминирующее положение этих видов в данном случае говорит о снижении иммуностимулирующей активности у лактобактерий и другой нормофлоры, что может являться одной из причин развития вагинального дисбиоза у женщин группы с ХЭ [41, 176].

Можно предположить, что установленные нарушения экосистемы влагалища в дальнейшем будут принимать участие в формировании хорошо структурированной полимикробной плёнки (биоплёнки), которая может блокировать воспалительные процессы, снижать активность иммуноцитов, позволяя бактериям достигать высоких концентраций и увеличивать риск присутствия УПМ в эндометрии пациенток [176, 211]. Выяснено, что патологические биоплёнки способствуют развитию хронических воспалительных процессов [231, 232].

Малосимптомное течение ХЭ, вероятно, также может быть связано со способностью УПМ к трансэндоцитозу, при котором они захватывают мембраны и проникают внутрь эукариотической клетки, не разрушая её [13, 15].

Высокий процент выделения энтерококков в группе с ХЭ, кроме того, может быть обусловлен их природной способностью к подавлению фагоцитоза и защите от иммуноглобулинов, а также риском для появления штаммов с наличием ряда факторов патогенности, вызывающих инфекционные процессы, описанные в других исследованиях [17, 185].

Коэффициент постоянства является важным параметром, характеризующим процент долевого участия разных видов в структуре биоценоза. Данный метод позволил нам выявить постоянные (если частота выделения составила 50 % и более), добавочные (если частота встречаемости составила от 25 до 50 %) и случайные виды (если частота встречаемости составила менее 25 %) в исследованном микробиоценозе пациенток.

Так, при определении долевого участия разных видов в вагинальном биотопе женщин обеих групп мы установили, что лактобактерии были постоянными участниками у женщин групп с ХЭ и без ХЭ ($C = 96,7\%$ и $C = 97,4\%$ соответственно) (Таблица 2). Однако популяционная плотность лактобактерий была почти на 2 порядка ниже в группе с ХЭ. Если учесть только количество лактобактерий в пределах нормы ($\lg \geq 6$ КОЕ/г), то в группе с ХЭ они будут являться только добавочными видами ($C = 44,3\%$). В группе без ХЭ лактобактерии в пределах нормы при этом по-прежнему будут попадать в категорию постоянных видов ($C = 68,4\%$).

В группе женщин с ХЭ к постоянным видам нами также были отнесены энтерококки ($C = 59\%$) и *CNS* ($C = 57,4\%$), тогда как в группе без ХЭ они относились к категории случайных, что указывает на снижение антагонистической активности лактобактерий по отношению к УПМ у женщин группы с ХЭ. Все остальные представители микробиоты в обеих группах имели показатель постоянства менее 25 % и были отнесены в категорию случайных видов.

Интересным представляется анализ межмикробных взаимоотношений между индигенной и УПМ в вагинальном микробиоценозе в данных группах пациенток с помощью коэффициента Жаккара (Таблица 3).

Данный анализ, проведённый нами, показал, что в группе женщин с ХЭ нормофлора (лактобактерии) не проявляла антагонистической активности по отношению к УПМ (*Enterococcus* spp. и *CNS*), тогда как у в группе без ХЭ выявлен антагонизм между данными видами, что подтверждает способность лактобактерий успешно конкурировать с факультативной и транзиторной микробиотой и выполнять ключевую роль в поддержании нормального

функционирования микрэкосистемы урогенитального тракта женщины [13, 18, 87, 208, 213].

Таблица 3 – Характеристика взаимодействия между членами микробиоценоза вагинального биотопа у женщин исследованных групп (коэффициент Жаккара (q))

Наименование микроорганизмов	Группа с ХЭ		Группа без ХЭ	
	синергизм	антагонизм	синергизм	антагонизм
<i>Lactobacterium</i> spp.+ <i>Enterococcus</i> spp.	+			+
<i>Lactobacterium</i> spp. + CNS	+			+
<i>Enterococcus</i> spp.+ CNS	+			+
<i>E. coli</i> + CNS	+			+
<i>E. coli</i> + <i>Enterococcus</i> spp.		+	+	

Синергизм, выявленный между лактобактериями и УПМ (*Enterococcus* spp., CNS) в группе с ХЭ, также говорит о снижении колонизационной резистентности нормофлоры и формировании патологических симбиозов с УПМ.

Склонность к совместному сосуществованию и высокая экологическая общность отмечены также между энтерококками и CNS, *E. coli* и CNS в группе с ХЭ, что и является результатом их доминирования в данном биотопе этих женщин.

Ассоциации различных микроорганизмов рассматривают в качестве этиологических факторов. Необходимость изучения микроорганизмов как ассоциантов в сообществе, а не как суммы монокультур обосновывается тем, что в ассоциациях микробные продукты действуют синергически, способствуя росту и размножению бактерий, экспрессии факторов патогенности [21].

Так, в группе с ХЭ в 2 раза чаще, чем в группе без ХЭ, нами были выявлены ассоциации УПМ ($\chi^2 = 10,563$; $p = 0,001$) (Таблица 4). В группе женщин с ХЭ наиболее часто встречались ассоциации, состоящие из энтерококков и CNS (21,3 %), *E. coli* и CNS и *E. coli* и энтерококков (по 9,8 %). Выявление энтерококков в ассоциациях с CNS и кишечной палочкой обусловлено их склонностью к совместному сосуществованию и высокой экологической

общности, что отмечено нами ранее при анализе межмикробных взаимоотношений в составе микробиоценоза.

Таблица 4 – Ассоциации условно-патогенной микробиоты вагинального биотопа женщин исследованных групп (абс./%)

Ассоциации	Группа с ХЭ (n = 61)	Группа без ХЭ (n = 38)
<i>Enterococcus spp.</i> и <i>CNS</i>	13 (21,3)	2 (5,3)
<i>E. coli</i> и <i>CNS</i>	6 (9,8)	0
<i>E. coli</i> и <i>Enterococcus spp.</i>	6 (9,8)	2 (5,3)
<i>E. coli</i> , <i>CNS</i> и <i>Enterococcus spp.</i>	3 (4,9)	0
<i>E. coli</i> , <i>CNS</i> и грибы рода <i>Candida</i>	3 (4,9)	2 (5,3)
<i>CNS</i> и <i>Klebsiella spp.</i>	3 (4,9)	0
<i>Enterococcus spp.</i> , <i>CNS</i> и <i>S. aureus</i>	3 (4,9)	0
<i>Enterococcus spp.</i> и грибы рода <i>Candida</i>	0	1 (2,6)
<i>Enterococcus spp.</i> и <i>S. aureus</i>	0	1 (2,6)
<i>E. coli</i> и <i>Streptococcus spp.</i>	0	1 (2,6)
<i>CNS</i> и <i>Enterobacter spp.</i>	2 (3,3)	0
<i>E. coli</i> , <i>CNS</i> и <i>S. aureus</i>	1 (1,6)	0
<i>E. coli</i> , <i>CNS</i> и <i>Klebsiella spp.</i>	1 (1,6)	0
<i>E. coli</i> , <i>Enterococcus spp.</i> и <i>Corynebacterium spp.</i> (и грибы рода <i>Candida</i> или <i>Streptococcus spp.</i>)	0	3 (7,9)
Общее количество ассоциаций	41 (67,2)	12 (31,6)*

Примечание: * – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

Таким образом, в группе с ХЭ нами было выявлено снижение популяционной плотности и дефицит индигенной микробиоты (лактобактерий), персистенция УПМ и формирование ими многокомпонентных ассоциаций и патологических симбиозов с нормофлорой. Такой дисбаланс может вносить определённый вклад в развитие и прогрессирование воспалительных заболеваний влагалища и расположенных выше органов малого таза, что подтверждается многими источниками [41, 126, 176]. Высокая частота выделения из влагалища

этих женщин энтерококков является риском для появления штаммов с наличием ряда факторов патогенности. Наличие кишечной палочки и энтерококков как резидентов кишечного биотопа подтверждает процесс транслокации микроорганизмов из кишечника этих женщин на фоне иммунодефицита, вызванного наличием сопутствующих соматических заболеваний и (или) ввиду течения хронического эндометрита.

3.2. Структура биоценоза кишечника у женщин с хроническим эндометритом

Микрофлора желудочно-кишечного тракта рассматривается в качестве ключевого элемента экосистемы и представляет собой резервуар микроорганизмов, которые при определённых условиях способны выходить за пределы кишечного биотопа, контаминируя слизистые соседних органов, приводя к развитию патологических процессов, в первую очередь в мочеполовой системе [117, 118, 137]. Большинство инфекций урогенитального тракта являются результатом аутоинфицирования патогенными или условно-патогенными микроорганизмами, обитающими в кишечнике [118, 217, 219].

Поэтому характеристика состояния кишечного биотопа как основного резервуара микробиоты у женщин группы с ХЭ является необходимой. По результатам бактериологического исследования копрологических проб практически у всех женщин исследованных групп нами были выявлены нарушения состава индигенной микробиоты кишечника (Таблица 5). Нарушения проявлялись в снижении популяционной плотности на 1–2 порядка от физиологической нормы.

Статистически значимых различий в группах женщин с ХЭ и без ХЭ относительно дефицита содержания облигатных анаэробных микроорганизмов – бифидобактерий, а также *E. coli* с нормальной ферментативной активностью – не было выявлено ($p > 0,05$). Дефицит лактобактерий выявили только в 1 случае в группе с ХЭ ($p > 0,05$).

Таблица 5 – Частота выделения и популяционная плотность микроорганизмов
кишечного биотопа у женщин исследованных групп

Наименование микроорганизмов	Группа с ХЭ		Группа без ХЭ	
	Коэффициент постоянства (С), % (n = 37)	Показатель популяционной плотности, lg КОЕ/г	Коэффициент постоянства (С), % (n = 17)	Показатель популяционной плотности, lg КОЕ/г
<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	23 (62,2)	6,3	5 (29,4)*	6,2
<i>Bifidobacterium</i> spp. (в пределах нормы)	17 (46)	9,0	7 (41,2)	9,0
N <i>E. coli</i> (общее количество)	35 (91,9)	5,6	13 (76,5)	4,7
N <i>E. coli</i> (в пределах нормы)	15 (40,5)	7,2	5 (29,4)	7,2
<i>E. coli</i> с атипичными свойствами:	12 (32,4)	7,3	3 (17,6)	7,0
<i>E. coli</i> слф.	8 (21,6)	6,8	2 (11,8)	7,0
<i>E. coli</i> гем+	4 (10,8)	7,8	1 (5,9)	7,0
<i>Klebsiella</i> spp.	7 (18,9)	5,7	3 (17,6)	5,0
Грибы рода <i>Candida</i> spp.	4 (10,8)	4,8	4 (23,5)	4,0
<i>Enterobacter</i> spp.	4 (10,8)	5,3	1 (5,9)	6,0
<i>Clostridium</i> spp.	3 (8,1)	3,0	0	–
<i>Citrobacter</i> spp.	2 (5,4)	6,5	1 (5,9)	5,0
<i>P. aeruginosa</i>	2 (5,4)	6,5	1 (5,9)	5,0
Дефицит N <i>E. coli</i>	19 (51,4)	5,2	8 (47,1)	5,6
Дефицит бифидобактерий	20 (54,1)	7,1	10 (58,8)	8,1
Дефицит лактобактерий	1 (2,7)	6,9	0	–

Примечание: * – различия статистически значимы при $p < 0,05$; N *E. coli* – нормальная кишечная палочка; *E. coli* слф. – слабоферментативная кишечная палочка; *E. coli* гем+ – гемолитическая кишечная палочка.

Бифидобактерии и нормальная *E. coli* в концентрации в пределах нормы (9–10 lg КОЕ/г и 7–8 lg КОЕ/г соответственно) были выделены менее чем в половине случаев у женщин обеих групп ($p > 0,05$).

На фоне резкого угнетения представителей облигатной (индигенной) микробиоты, обеспечивающей защитную функцию и поддержание микрoэкологического гомеостаза, частота идентификации представителей УПМ отмечалась в диагностически значимой концентрации в обеих группах ($\geq 4 \lg \text{КОЕ/г}$) (Таблица 4). Частота выделения энтерококков в группе с ХЭ была в два раза выше, чем в группе без ХЭ ($\chi^2 = 6,370$; $p = 0,012$).

Статистически значимых различий в частоте встречаемости другой микробиоты выявлено не было.

Далее при более подробном анализе спектра и концентрации выявленной микробиоты у каждой пациентки нами были обнаружены дисбиотические изменения (1-я или 2-я степень дисбиоза) или нормоценоз (эубиоз) (Рисунок 2). Нарушение видового и количественного составов микробных популяций и рост УПМ в определённом биотопе, приводящие к нарушению динамического равновесия (эубиоза) в экосистеме данного биотопа, называют дисбиозом. Дисбиотические изменения (1-я или 2-я степень дисбиоза) в составе микробиоты кишечника были чаще зарегистрированы в группе с ХЭ ($\chi^2 = 6,882$; $p = 0,009$). Нормоценоз кишечника был выявлен, наоборот, статистически значимо чаще в группе без ХЭ ($\chi^2 = 8,626$; $p = 0,003$) (Рисунок 2).

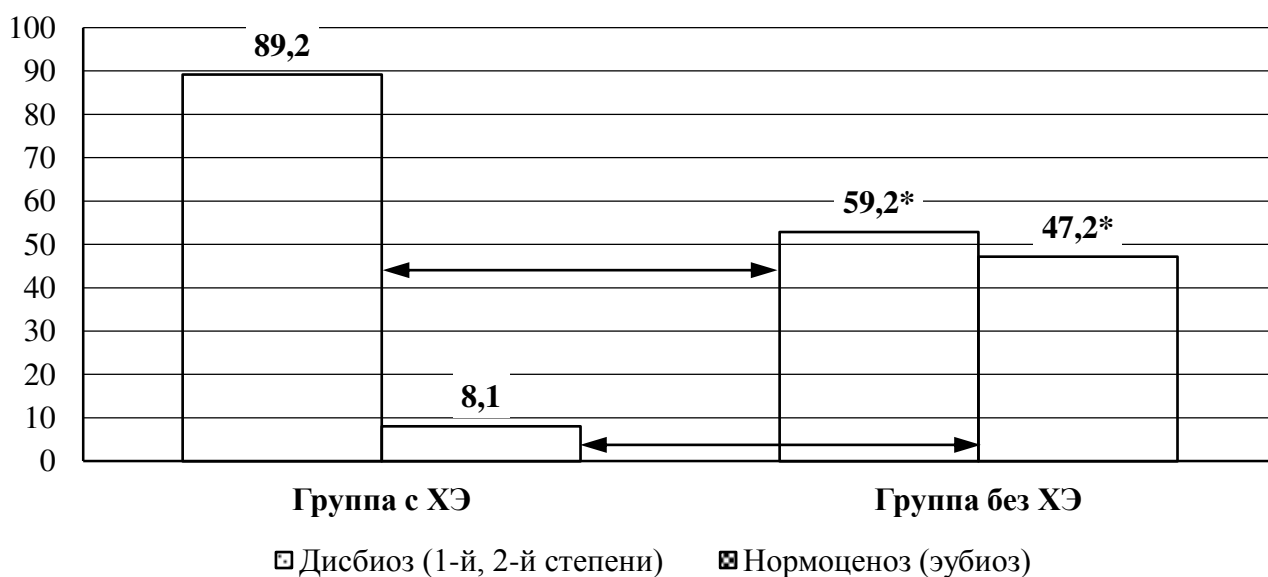


Рисунок 2 – Микрoэкологическое состояние кишечной микробиоты у женщин исследованных групп: * – различия статистически значимы при $p < 0,05$

Далее с помощью коэффициента постоянства C нами был вычислен процент долевого участия каждого из выделенных видов в структуре микробиоценоза кишечника в каждой из групп.

Так, в группе с ХЭ постоянными видами были энтерококки ($C = 62,2 \%$), лактобактерии ($C = 100\%$), бифидобактерии ($C = 100 \%$) и нормальная *E. coli* ($C = 91,9 \%$), так как коэффициент постоянства составил более 50 %. Обязательные представители, такие как бифидобактерии и нормальная *E. coli*, зарегистрированы в концентрации, соответствующей пределу нормы (согласно ОСТ), что позволяет отнести их в группу добавочных видов ($C = 46 \%$ и $C = 40,5 \%$ соответственно). Кроме того, в группу добавочных видов в структуре микробиоценоза кишечника у женщин в группе с ХЭ входили *E. coli* с атипичными свойствами ($c = 32,4 \%$). Все остальные детектируемые виды были отнесены нами в группу случайных, так как их коэффициент постоянства составил менее 25 %.

В группе без ХЭ лактобактерии ($C = 100 \%$), бифидобактерии ($C = 100 \%$) и нормальная *E. coli* ($C = 76,5 \%$) также являлись преобладающими (постоянными) видами, формирующими ядро микробиоценоза кишечника. Однако зарегистрированная концентрация *E. coli* и бифидобактерий в пределах допустимой нормы позволяет отнести их к видам-наполнителям (добавочным) с коэффициентами постоянства 29,4 % и 41,2 % соответственно. Представители бактерий рода *Enterococcus* у женщин группы без ХЭ, по сравнению с женщинами группы с ХЭ, перешли в группу добавочных видов ($C = 29,4 \%$). Все остальные виды попали в категорию случайных.

При анализе межмикробных взаимоотношений в составе данного микробиоценоза с помощью коэффициента Жаккара нами было выявлено, что в группе с ХЭ представители нормофлоры – бифидобактерии – не проявляли антагонизма по отношению к УПМ, что свидетельствует о снижении колонизационной резистентности индигенной микробиоты. При этом наблюдается формирование симбиотических отношений с атипичной *E. coli* и энтерококками, играющими неоднозначную роль в организме человека (Таблица 6) [13, 18]. Полученные данные являются одной из причин

патобиоценоза кишечника и определяют доминирующее положение энтерококков у женщин группы с ХЭ.

У женщин группы без ХЭ, напротив, бифидобактерии проявляли антагонизм к УПМ (атипичная *E. coli* и энтерококки), а симбиотические отношения формировались только между атипичной *E. coli* и представителями семейства *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp.). Полученные нами результаты свидетельствуют о сохранении защитной роли индигенной микробиоты у женщин без хронического воспаления эндометрия. Данная способность бифидофлоры заключается в увеличении иммуномодулирующего эффекта на организм посредством IgA-реакции к патогенной грамотрицательной микробиоте, противодействуя адгезии, росту и перемещению в другие системы организма [23, 142, 197, 212].

Таблица 6 – Характеристика взаимодействия между членами кишечного микробиоценоза у женщин исследованных групп (коэффициент Жаккара (q))

Наименование микроорганизмов	Группа с ХЭ		Группа без ХЭ	
	синергизм	антагонизм	синергизм	антагонизм
<i>Bifidobacterium</i> spp. + атипичная <i>E. coli</i>	+			+
<i>Bifidobacterium</i> spp. + <i>Enterococcus</i> spp.	+			+
Атипичная <i>E. coli</i> + <i>Klebsiella</i> spp.		+	+	
Атипичная <i>E. coli</i> + <i>Enterobacter</i> spp.		+	+	

Далее мы определяли, какие ассоциации были образованы УПМ у женщин исследованных групп. В основном ассоциации состояли из 2–3 компонентов. У 35 % женщин в группе с ХЭ в кишечнике встречались двухкомпонентные ассоциации, состоящие преимущественно из атипичных *E. coli* и *Clostridium* spp., *E. coli* и *Citrobacter* spp. или *Enterobacter* spp.

Ассоциация, состоящая из 3 ассоциантов, была выявлена только в 1 (2,7%) случае и состояла из *Klebsiella* spp., грибов рода *Candida* и атипичной *E. coli* (Таблица 7).

Таблица 7 – Ассоциации условно-патогенной микробиоты кишечного биотопа женщин исследованных групп, абс. (%)

Ассоциации	Группа с ХЭ, абс. (%) (n = 37)	Группа без ХЭ, абс (%) (n = 17)
<i>E. coli</i> слф. и <i>Citrobacter</i> spp.	1 (2,7)	0
<i>E. coli</i> слф. и <i>Clostridium</i> spp.	1 (2,7)	0
<i>E. coli</i> гем. + и <i>Clostridium</i> spp.	1 (2,7)	0
<i>E. coli</i> слф. и <i>Enterobacter</i> spp.	2 (5,4)	0
<i>Klebsiella</i> spp., грибы рода <i>Candida</i> и <i>E. coli</i> слф.	1 (2,7)	0
<i>Klebsiella</i> spp. и <i>E. coli</i> слф.	0	2 (11,8)
<i>Klebsiella</i> spp. и грибы рода <i>Candida</i>	0	2 (11,8)
<i>Enterobacter</i> spp., грибы рода <i>Candida</i> и <i>E. coli</i> слф.	0	1 (5,9)

Примечание: статистически значимых различий между группами не выявлено ($p > 0,05$); *E. coli* слф. – слабоферментативная кишечная палочка; *E. coli* гем+ – гемолитическая кишечная палочка.

В группе без ХЭ двухкомпонентные ассоциации встречались только в 2 (11,8 %) случаях и состояли из *Klebsiella* spp. и атипичной *E. coli*, *Klebsiella* spp. и грибов рода *Candida*. Ассоциации из 3 ассоциантов были выявлены только в 1 (5,9 %) случае и состояли из *Enterobacter* spp., грибов рода *Candida* и атипичной *E. coli*. В основном в этой группе УПМ не формировали ассоциации, а были выявлены в моноварианте (35,3 % случаев). Наиболее выявляемыми в виде монокультуры были грибы рода *Candida* (11,9 %), *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp., *E. coli* гемолитическая и *P. aeruginosa* (по 5,9 %). Значимых различий не было выявлено.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о наличии дисбиотических изменений в микробиоте кишечника у женщин с ХЭ, которые в первую очередь характеризовались дефицитом представителей нормофлоры, высокой частотой встречаемости ассоциаций УПМ, а также симбиотическими взаимоотношениями между индигенной и условно-патогенной микрофлорой.

При этом энтерококки как кишечного, так и вагинального биотопов этих женщин имели статус доминирующего (постоянного) вида.

3.3. Особенности носоглоточного микробиоценоза у женщин с хроническим эндометритом

Носоглотка является наиболее открытым и претерпевающим дополнительную контаминацию органом, что во многом определяет формирование микроэкологии нижерасположенных отделов пищеварительного тракта. В полости носоглотки высок риск возникновения очагов лимфогенных, тонзиллогенных, одонтогенных и других хронических микробных инфекций, каждая из которых может являться причиной патогенной контаминации и аллергизации организма. Всё это определяет значимость данного микробиоценоза для нормального функционирования всей системы колонизационной резистентности организма [78].

На первом этапе исследования нами была проведена оценка качественного и количественного составов микробиоценоза носоглоточного биотопа у женщин с ХЭ и без ХЭ (Таблица 8).

При оценке состояния носоглоточной микробиоты в группе женщин с ХЭ по отношению к аналогичным данным женщин группы без ХЭ нами были выявлены следующие статистически значимые отличия: низкий процент встречаемости индигенной микробиоты – бактерий вида *Streptococcus* гр. *oralis* ($\chi^2 = 7,353$, $p = 0,007$), *Neisserii* spp. ($\chi^2 = 25,077$, $p = 0,000$) и *Corynebacterium* spp. ($\chi^2 = 24,074$, $p = 0,000$), высокое содержание патогенного стрептококка – *S. pneumoniae* ($p = 0,027$) (Таблица 8). Представленные данные рассчитаны при помощи критерия χ^2 .

Таблица 8 – Частота выделения и популяционная плотность микроорганизмов носоглоточного биотопа у женщин исследованных групп, абс. (%)

Наименование микроорганизма	Группа с ХЭ		Группа без ХЭ	
	Коэффициент постоянства (С), % (n = 47)	Показатель популяционной плотности, lg КОЕ/г	Коэффициент постоянства (С), % (n = 27)	Показатель популяционной плотности, lg КОЕ/г
CNS	34 (72,3)	3,4	20 (74,1)	3,0
<i>S. oralis</i>	26 (55,3)	5,2	24 (88,9)*	5,8
<i>Neisseria</i> spp.	12 (25,5)	4,9	24 (88,9)*	5,0
<i>Corynebacterium</i> spp.	8 (17,0)	4,3	21 (77,8)*	4,3
<i>S. pneumoniae</i>	12 (25,5)	4,6	2 (7,4)*	6,0
<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i>	35 (74,5)	4,6	16 (59,2)	4,9
<i>S. aureus</i>	30 (63,8)	3,3	11 (40,7)	3,5
<i>Streptococcus</i> β-гемолитический	21 (44,7)	4,6	16 (59,3)	5,2
Грибы рода <i>Candida</i> spp.	7 (14,9)	3,1	1 (3,7)	2
<i>S. pyogenes</i>	5 (10,6)	4	0	0
<i>E. coli</i>	2 (4,3)	4	0	0
<i>Klebsiella</i> spp.	2 (4,3)	5	1 (3,7)	3

Примечание: * – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

Дефицит нормофлоры в носоглоточном биотопе у женщин с ХЭ, возможно, связан с наличием хронического воспалительного ответа, что приводит к снижению колонизационной резистентности и элиминации данных видов из носоглотки женщин [116, 138], а также может быть связан с наличием сопутствующих соматических заболеваний и хронического процесса в организме (хронический эндометрит и другие воспалительные заболевания репродуктивного тракта).

Процент встречаемости остальных представителей микробиоценоза не имел статистически значимых отличий ($p > 0,05$).

Далее для выявления постоянных, добавочных и случайных видов в носоглоточном микробиоценозе женщин обеих групп мы также использовали

коэффициент постоянства (C , %). Так, у женщин с ХЭ в качестве постоянных участников в носоглоточном микробиоценозе нами были определены непатогенный стрептококк (*Streptococcus* гр. *oralis*) ($C = 55,3$ %), *CNS* ($C = 72,3$ %), среди представителей УПМ – энтерококки ($C = 74,5$ %) и абсолютный патоген – *S. aureus* ($C = 63,8$ %).

Преобладание данных представителей условно-патогенной флоры и появление патогенных микроорганизмов (*S. aureus*) в микробном пейзаже ротоглотки исследованных нами женщин имеет место, по данным литературы, при развитии тонзиллита [167]. *S. pneumoniae*, вызывающий инфекционные заболевания, у женщин группы с ХЭ не только встречался в три раза чаще, но и относился к добавочным видам ($C = 25,5$ %), а *S. pyogenes* – этиологический агент воспалительных заболеваний носоглотки и наиболее опасный в плане различных осложнений [167] – был выделен только у женщин этой группы. Остальные виды УПМ входили в группу случайных видов.

У женщин группы без ХЭ такие представители УПМ, как энтерококки и *Streptococcus* β-гемолитический, входили в группу постоянных видов, патогенный *S. aureus* являлся добавочным, а остальные виды регистрировались в незначительных количествах и были отнесены к случайным видам (при $C \leq 25$ %) или вообще отсутствовали.

Таким образом, преобладание патогенной кокковой флоры у женщин с ХЭ может быть ассоциировано с наличием хронического тонзиллита, который занимает одно из первых мест как по частоте, так и по разнообразию патогенных воздействий на другие органы и системы, в том числе и на репродуктивную [167]. Присутствие в носоглотке резидентов кишечного биотопа – энтерококков, *E. coli* и *Klebsiella* spp. – у женщин с ХЭ обусловлено, вероятно, наличием аллергического состояния ВДП у женщин данной группы [112].

Далее при анализе количественного взаимодействия между членами носоглоточного микробиоценоза мы поставили перед собой задачу в первую очередь проанализировать взаимодействие представителей индигенной микрофлоры (непатогенных стрептококков, нейссерий и коринебактерий) между

собой и с представителями УПМ. Расчёты были произведены с использованием коэффициента Жаккара (Таблица 9).

Таблица 9 – Характеристика взаимодействия между членами микробиоценоза носоглотки у женщин исследованных групп (коэффициент Жаккара (q))

Наименование микроорганизмов	Группа с ХЭ		Группа без ХЭ	
	синергизм	антагонизм	синергизм	антагонизм
<i>Str. гр. oralis</i> + <i>Enterococcus</i> spp.	+		+	
<i>Str. гр. oralis</i> + <i>S. aureus</i> + <i>CNS</i>	+		+	
<i>Str. гр. oralis</i> + <i>Str. β-гемолитический</i>	+		+	
<i>Str. гр. oralis</i> + <i>Neisseria</i> spp. + <i>Corynebacterium</i> spp.		+	+	

У женщин с ХЭ входящий в группу постоянных видов *S. гр. oralis*, являющийся представителем нормофлоры, проявлял антагонистическую активность по отношению к другим представителям нормобиоты (*Neisseria* spp. и *Corynebacterium* spp.) и вступал в симбиотические отношения с УПМ (*S. aureus* и *Enterococcus* spp.).

Наличие антагонистических отношений между представителями нормофлоры приводит к их дефициту, а синергетические отношения между индигенной и условно-патогенной микрофлорой способствуют формированию патологических связей и, как следствие, приводят к дисбиотическим нарушениям в носоглоточном биотопе женщин.

В группе без ХЭ, напротив, между представителями нормофлоры – *Streptococcus* гр. *oralis* и *Neisseria* spp., *Streptococcus* гр. *oralis* и *Corynebacterium* spp. – нами были выявлены синергетические отношения, что является нормой и определило их доминирование в биотопе. Однако синергизм, выявленный между *Streptococcus* гр. *oralis* и *S. aureus*, как и в группе без ХЭ, указывает на неблагополучие в данном биотопе и на формирование патологических симбиозов.

Далее мы проанализировали, какие ассоциации, состоящие из УПМ, присутствовали в каждой из групп (Таблица 10).

Таблица 10 – Ассоциации условно-патогенной микробиоты носоглоточного биотопа женщин исследованных групп

Ассоциации	Группа с ХЭ, абс. (%) (n = 47)	Группа без ХЭ, абс. (%) (n = 27)
CNS и <i>Streptococcus</i> β-гемолитический (или <i>S. aureus</i>)	4 (8,5)	1 (3,7)
CNS, <i>E. faecium</i> и <i>S. aureus</i>	4 (8,5)	0
CNS, <i>E. faecium</i> и <i>Streptococcus</i> β-гемолитический	0	3 (11,1)
CNS, <i>E. faecium</i> , <i>Streptococcus</i> β-гемолитический и <i>S. aureus</i>	6 (12,8)	3 (11,1)

Примечание: статистически значимых различий между группами не выявлено ($p > 0,05$).

Так, в группе с ХЭ в 12,8 % случаев нами были выявлены ассоциации, состоящие из 4 ассоциантов. Реже встречались двух- и трёхкомпонентные ассоциации (в 4,3 % и 8,5 % случаев соответственно). В группе без ХЭ трёх- и четырёхкомпонентные ассоциации были выделены нами в 11,1 % случаев, двухкомпонентные – только в 3,7 %. Статистически значимых различий выявлено не было.

Таким образом, проведённый сравнительный анализ микробиоты носоглотки выявил: дефицит нормофлоры с наличием антагонистических отношений между видами у женщин с ХЭ; присутствие в составе постоянной микробиоты представителей транзитной УПМ (*S. aureus* и *Enterococcus* spp.), которые вступали в симбиотические взаимоотношения как с индигенной микрофлорой, так и друг с другом; высокую частоту выделения CNS и *S. aureus* из носоглотки у женщин обеих групп, которая свидетельствует об иммунодефицитном состоянии у данных женщин, что в свою очередь обуславливает благоприятные условия для внедрения и персистенции другой УПМ.

Следует отметить, что у женщин обеих групп в состав постоянной микрофлоры носоглотки входили энтерококки – резиденты кишечного биотопа,

играющие важную и неоднозначную роль. По данным Е. А. Воропаева (2008), эти микроорганизмы обладают сенсibiliзирующей активностью, что способствует развитию аллергических состояний ВДП [112].

Резюмируя вышесказанное, можно заключить, что нарушения качественно-количественного состава микробиоты и патологические взаимоотношения в данном биотопе женщин оказывают существенное влияние на течение воспалительных заболеваний не только в носоглотке, но и в репродуктивном тракте. Подобные нарушения в кишечном и вагинальном биотопе подтверждают взаимное влияние микробиоты всех систем и единый дисбиотический процесс в организме женщин с ХЭ.

3.4. Характеристика генетических детерминант патогенности в аутоштаммах бактерий рода *Enterococcus* spp., выделенных из различных биотопов у женщин исследованных групп

Бактерии рода *Enterococcus* представляют особый научный и практический интерес, так как, с одной стороны, они входят в состав нормальной флоры человека, обеспечивая колонизационную резистентность слизистых, а с другой стороны— энтерококки являются условно-патогенными микроорганизмами и могут выступать в роли этиологического агента экзогенных и эндогенных инфекционных процессов [77, 135, 209].

Некоторые штаммы данных микроорганизмов, приобретя ряд признаков патогенности, могут формировать биоплёнки и вызывать серьёзные инфекционные и хронические заболевания [231, 232, 236]. Ключевым критерием для энтерококка является наличие или отсутствие у штамма генов патогенности.

Важно отметить, что энтерококки, обладая высокой протеолитической активностью, способны вызывать токсическое повреждение тканей и формировать рубцовые изменения в различных органах [160].

В нашем исследовании было показано, что энтерококки преобладали (доминировали) во всех изучаемых нами биотопах у женщин с ХЭ. Поэтому

с помощью ПЦР-анализа нами был проведён поиск частоты встречаемости генов патогенности (*asa1*, *cylM*, *gelE*, *sprE*) – гистоповреждающих субстанций у аутоштаммов энтерококков.

Проведённый нами анализ показал, что во всех трёх биотопах из аутоштаммов энтерококков у женщин с ХЭ чаще других был детектирован ген сериновой протеиназы (*sprE*) ($\chi^2 = 3,910$; $p = 0,048$) (Рисунок 3). Данный ген кодирует синтез сериновой протеиназы, способствующей пенетрации (проникновению), колонизации и токсическому повреждению тканей [120, 153, 236]. Вероятно, данный ген патогенности может быть причастен к гистологическим повреждениям эндометрия у женщин с ХЭ.

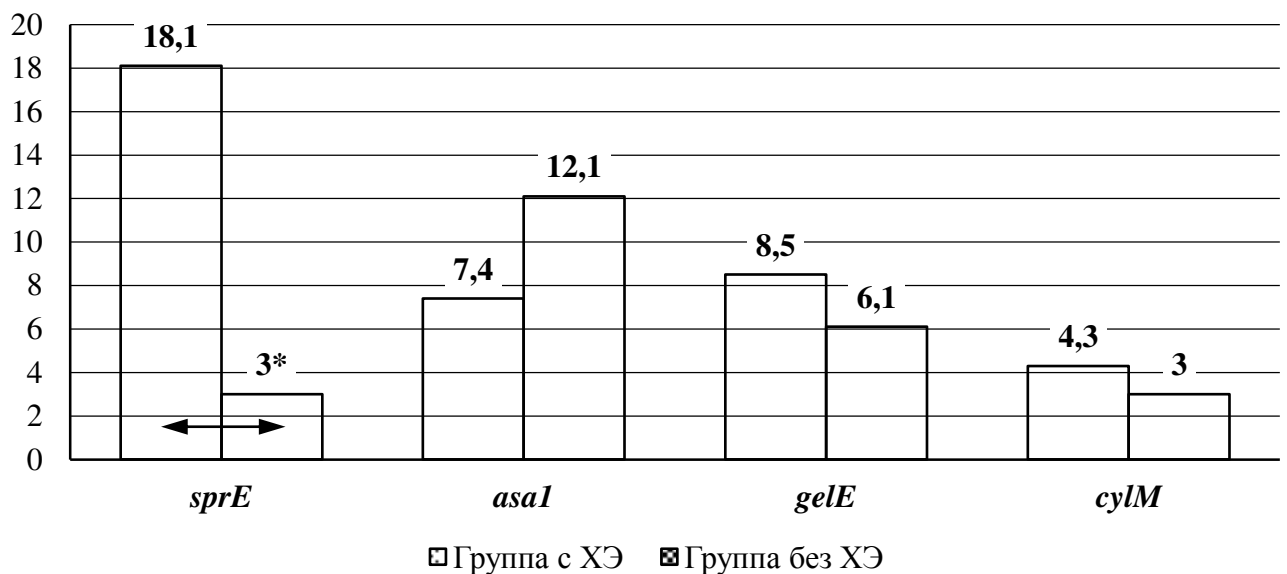


Рисунок 3 – Частота детекции генов патогенности (суммарно) в изученных биотопах у женщин исследованных групп (%): * – различия статистически значимы при $p < 0,05$

Остальные гены были детектированы с меньшей частотой и не обнаруживали статистически значимых различий по частоте с аналогичными показателями в группе без ХЭ: для гена желатиназы (*gelE*), кодирующей способность разрушать защитные факторы сыворотки крови человека и др., $p > 0,05$; для гена адгезии (*asa1*) – $p > 0,05$; для гена цитолизина (*cylM*), продукция которого ассоциируется с повышением тяжести инфекционного процесса

и способствует слущиванию эпителия и проникновению патогенов в более глубокие слои слизистой оболочки, – $p > 0,05$ [160].

Далее с помощью расчёта относительного риска (ОР) было проанализировано, какие из генов патогенности энтерококка (*asa1*, *cytM*, *gelE*, *sprE*) как факторы риска, взятые в исследование, могли быть ассоциированы с выявлением морфологических признаков хронического эндометрита у женщин исследованных групп (Таблица 11).

Таблица 11 – Ассоциации генов патогенности с морфологическими признаками хронического воспаления эндометрия

Гены патогенности	Группа с ХЭ (морф. признаки +)	Группа без ХЭ (морф. признаки –)	ОР	ДИ (нижняя граница)	ДИ (верхняя граница)
<i>sprE</i>	15	1*	1,616	1,311	1,993
<i>gelE</i>	5	3	0,993	0,569	1,731
<i>asa1</i>	6	2	1,209	0,789	1,852
<i>cytM</i>	5	1	1,348	0,916	1,985

Примечание: * – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

Относительный риск – это отношение частоты исходов среди исследуемых, на которых изучаемый фактор оказывал влияние, к частоте исходов среди исследуемых, не подвергавшихся влиянию этого фактора. ОР используется для сравнения вероятности исхода в зависимости от наличия фактора риска. Доверительный интервал (ДИ) принимался за 95 % – это диапазон значений, внутри которого (с вероятностью 95 %) лежат истинные значения (изучаемого показателя) всей группы пациентов. Оцениваются значения границ 95% ДИ. Если оба значения – нижней и верхней границы – находятся по одну сторону от 1, или, другими словами, доверительный интервал не включает 1, то делается вывод о статистической значимости выявленной связи между фактором и исходом с вероятностью ошибки $p < 0,05$. Если нижняя граница 95% ДИ меньше 1, а верхняя – больше, то делается вывод об отсутствии статистической значимости

влияния фактора на частоту исхода независимо от величины показателя ОР ($p > 0,05$) [105].

Так, у женщин с наличием у энтерококков гена *sprE* в 1,6 раза чаще диагностировались морфологические признаки ХЭ, чем у женщин без гена *sprE* (ОР > 1; 95% ДИ = 1,311–1,993). Уровень статистической значимости данной взаимосвязи соответствует $p < 0,05$, так как 95% ДИ не включает в себя единицу.

Данный показатель ОР свидетельствует о прямой связи между наличием у энтерококков гена сериновой протеиназы (*sprE*) и высокой вероятностью появления в эндометрии морфологических признаков ХЭ.

Гены *asa1* и *culM* имели ОР > 1, но не были значимыми факторами, так как нижняя граница 95% ДИ меньше 1, а верхняя – больше. Таким образом, отсутствует статистическая значимость влияния данных генов на частоту исхода, т. е. на выявление морфологических признаков, подтверждающих ХЭ ($p > 0,05$).

Ген *gelE* имел ОР < 1, что свидетельствует о снижении вероятности выявления морфологических признаков ХЭ при воздействии данного гена (обратная связь).

Таким образом, полученные результаты указывают на то, что гистологические изменения в эндометрии матки женщин с ХЭ ассоциированы с наличием у энтерококков гена *sprE* (сериновая протеиназа) как фактора риска развития ХЭ.

3.5. Сравнительный анализ изменений функциональных связей между индигенной и условно-патогенной микробиотой, генетическими детерминантами патогенности энтерококков и морфологическими признаками хронического эндометрита в различных биотопах у женщин с хроническим эндометритом

Для анализа внутри- и межсистемных отношений в группе с ХЭ и группе без ХЭ был проведён корреляционный анализ. Данные, полученные в группах, представлены на рисунках 4, 5, 6.

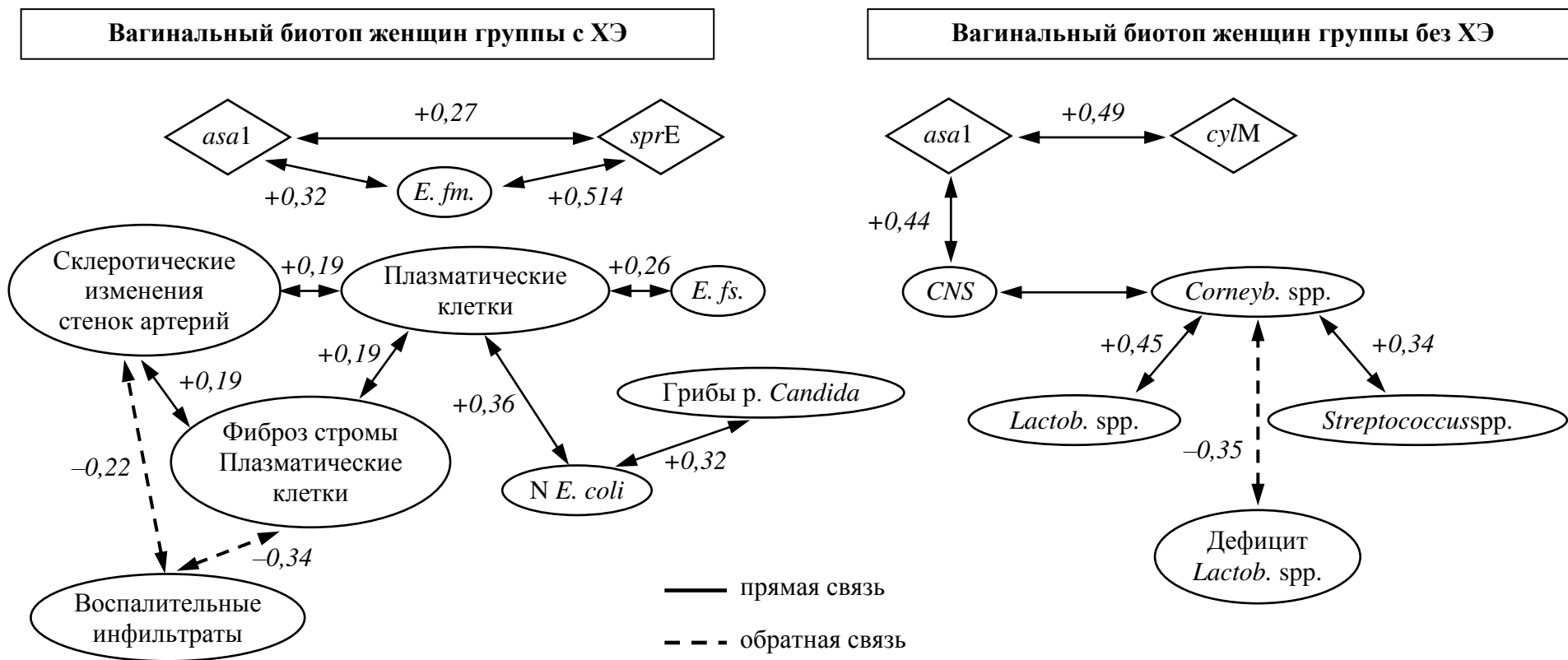
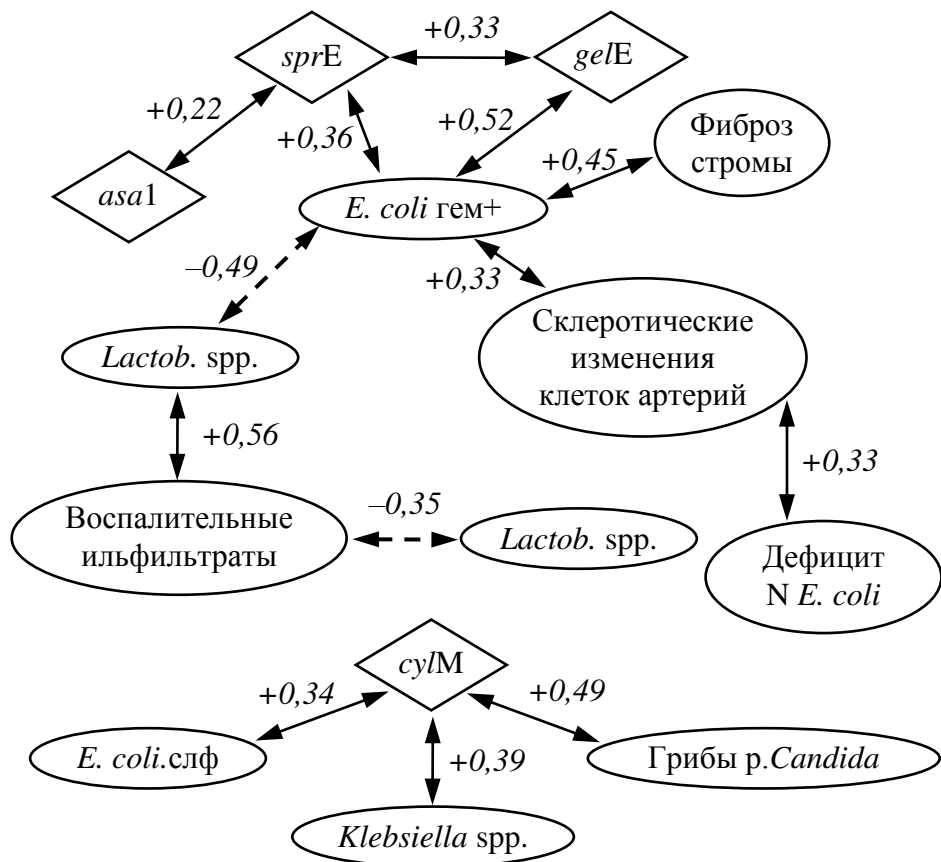


Рисунок 4 – Структура корреляционных связей между микроорганизмами, ГП энтерококков и морфологическими признаками ХЭ в вагинальном биотопе женщин

Кишечный биотоп женщин основной группы (с ХЭ)



Кишечный биотоп женщин группы сравнения (без ХЭ)

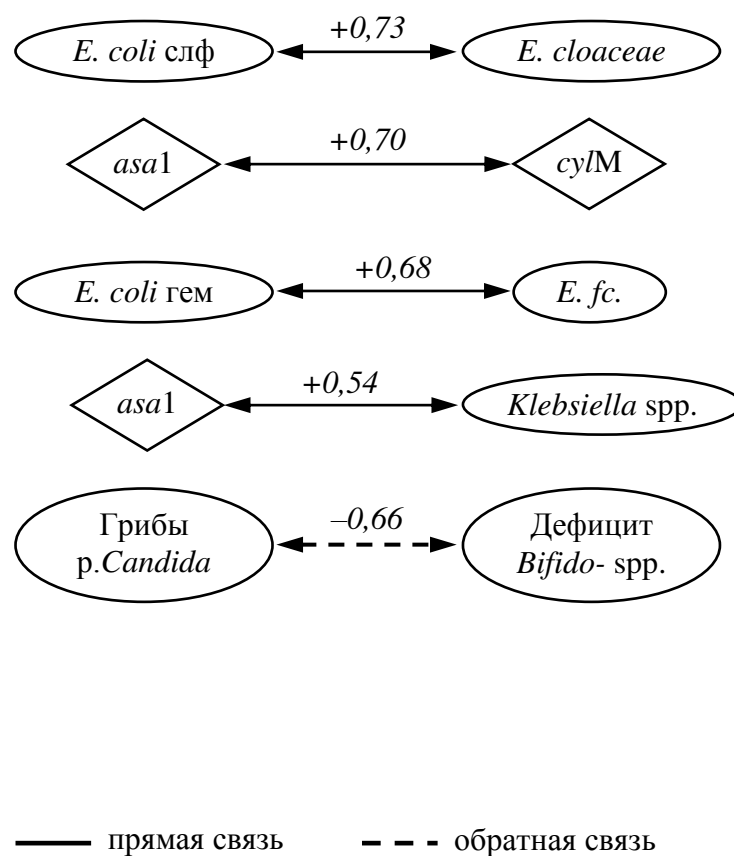


Рисунок 5 – Структура корреляционных связей между микроорганизмами, ГП энтерококков и морфологическими признаками ХЭв кишечном биотопе женщин

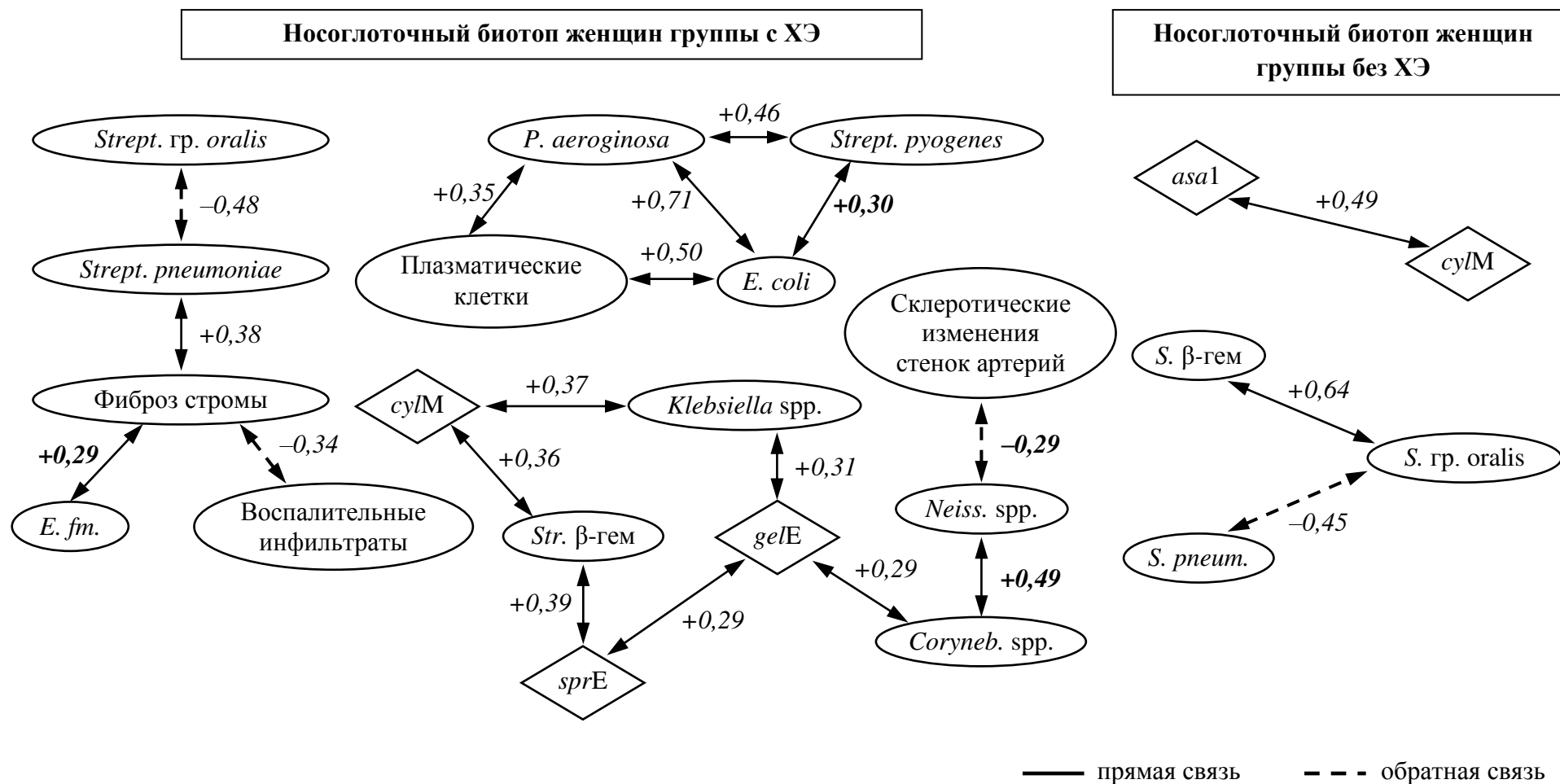


Рисунок 6 – Структура корреляционных связей между микроорганизмами, ГП энтерококков и морфологическими признаками ХЭ носоглоточного биотопа женщин

Так, в вагинальном биотопе у женщин с ХЭ (Рисунок 5) отмечено 11 корреляционных связей, из них 9 положительных и 2 отрицательные, а у женщин без ХЭ – 5 положительных и 1 отрицательная.

В данном биотопе в группе с ХЭ между исследованными генами патогенности энтерококков была отмечена положительная слабая связь только между *sprE* и *asa1* ($r = +0,27$), а в группе без ХЭ – положительная средней силы связь между *cylM* и *asa1* ($r = +0,49$). При этом у женщин с ХЭ гены *asa1* и *sprE* имели средней силы положительные связи с *E. faecium* ($r = +0,32$ и $r = +0,51$ соответственно). Данная связь подтверждает наличие исследованных генов патогенности у энтерококка, а связь между *asa1* и *sprE*, замыкающая этот круг, говорит об их взаимодействии в реализации воспалительного процесса на всех этапах инфекционно-воспалительного процесса.

В группе женщин без ХЭ только ген *asa1* имел связь средней силы ($r = +0,44$) с коагулазоотрицательным стафилококком (*CNS*).

Далее у женщин с ХЭ отдельно были определены связи только между микробиотой и с морфологическими признаками ХЭ. Так, между представителями УПМ была выявлена только одна положительная средней силы связь – между грибами и нормальной *E. coli* ($r = +0,32$), – указывающая на патосимбиоз между ними. В группе без ХЭ таких связей было больше, и во всех связях между микробиотой чаще других были выявлены коринебактерии. Положительные средней силы связи коринебактерии имели с *CNS* ($r = +0,44$), лактобактериями ($r = +0,45$) и стрептококками ($r = +0,34$), а отрицательную средней силы связь, являющуюся логичной, – с лактобактериями в дефицитном состоянии (Рисунок 4).

У женщин с ХЭ положительные слабой и средней силы связи были образованы между плазматическими клетками и *E. faecalis* ($r = +0,26$) и между плазматическими клетками и *E. coli* ($r = +0,36$). Далее плазматические клетки имели слабые положительные связи с фиброзом стромы эндометрия ($r = +0,19$) и склеротическими изменениями стенок артерий ($r = +0,19$) в эндометрии матки, что указывает на их взаимное и последовательное

формирование/возникновение (Рисунок 4). Фиброз стромы эндометрия и склеротические изменения стенок артерий в свою очередь имели отрицательные средней и слабой силы связи с воспалительными инфильтратами ($r = -0,34$ и $r = -0,22$ соответственно).

Таким образом, максимальное количество связей у женщин с ХЭ было выявлено у плазматических клеток, энтерококков и их ГП и у кишечной палочки. Наличие в эндометрии матки плазматических клеток и других морфологических признаков, подтверждающих хронический эндометрит, вероятно, можно связать с выявлением корреляций в вагинальном биотопе этих женщин с энтерококком и *E. coli*.

В группе без ХЭ в вагинальном биотопе наибольшее количество связей имели коринебактерии и ген адгезии (*asa1*), осуществляющий начальный этап процесса инфицирования организма-хозяина. Это позволяет полагать, что у пациенток этой группы в данном биотопе данные микроорганизмы являются ведущими. Литературные данные о влиянии коринебактерий в вагинальном биотопе весьма противоречивы [207]. Многие авторы считают, что в вагинальном биотопе коринебактерии являются автохтонными микроорганизмами и наряду с лактобактериями участвуют в поддержании колонизационной резистентности. С другой стороны, они находятся в тесном взаимоотношении и с условно-патогенными микроорганизмами. Результатом таких взаимодействий может явиться формирование как нормо-, так и патоценоза [38].

Далее нами были проанализированы связи в кишечном биотопе у женщин исследованных групп. Так, у женщин с ХЭ было выявлено 11 положительных и 2 отрицательных связи, в основном средней силы. В группе пациенток без ХЭ, как и в вагинальном биотопе, более чем в два раза меньше связей: 4 положительных и 1 отрицательная средней и сильной направленности.

Все исследованные гены патогенности энтерококков в группе с ХЭ имели между собой положительную связь: между *sprE* и *gelE* ($r = +0,33$) и между *sprE* и *asa1* ($r = +0,22$). Данные результаты указывают на взаимодействие данных ГП

в реализации воспалительного процесса [160]. Установленная прямая корреляция между *sprE* и *gelE* подтверждает также кворум-зависимый процесс, описанный в других исследованиях [281].

Ген, кодирующий цитолизин (*cytM*), имел обособленные положительные связи только с УПМ: со слабоферментативной *E. coli* ($r = +0,34$), с *Klebsiella* spp. ($r = +0,39$) и с грибами рода *Candida* ($r = +0,49$). Вероятно, наличие данного гена у энтерококка способствовало экспрессии данной УПМ в кишечнике этих женщин. Гены *sprE* и *gelE* также имели положительную связь средней силы с гемолитической кишечной палочкой ($r = +0,36$ и $r = +0,52$ соответственно).

В группе без ХЭ так же, как и у женщин с ХЭ, выявлена положительная, но обособленная и сильная связь между *sprE* и *gelE* ($r = +0,70$), а также связь гена *asa1c* *Klebsiella* spp. ($r = +0,54$) (Рисунок 5).

Данные результаты указывают на максимальное количество связей ГП энтерококков с УПМ у женщин с ХЭ, по сравнению с женщинами группы без ХЭ.

Далее мы определили, какие связи имели между собой представители УПМ и нормофлора кишечника, а также морфологические признаки ХЭ у женщин исследованных групп.

Так, у женщин с ХЭ отрицательная средней силы связь была определена между гемолитической *E. coli* и *Lactobacterium* spp. ($r = -0,49$), что указывает на способность гемолитической *E. coli* подавлять концентрацию лактобактерий, являющихся одними из главных компонентов кишечного микробиоценоза. Лактобактерии в свою очередь имели положительную средней силы связь с наличием воспалительных инфильтратов в эндометрии этих женщин ($r = +0,56$). Данный факт указывает, вероятно, на изменённые свойства лактобактерий как нормофлоры. При этом воспалительные инфильтраты имели отрицательную связь с *P. aeruginosa* ($r = -0,35$).

Склеротические изменения стенок артерий в эндометрии женщин с ХЭ имели положительные средней силы связи с гемолитической кишечной палочкой ($r = +0,33$) и с нормальной кишечной палочкой в дефицитном состоянии

($r = +0,33$). Гемолитическая кишечная палочка также имела положительную средней силы связь с фиброзом стромы эндометрия ($r = +0,45$). Данные корреляции являются логичными и подтверждают возможное влияние кишечной палочки на данные гистологические изменения в эндометрии этих женщин, либо гемолитическая *E. coli*, вероятно, может являться посредником в данном патологическом процессе или соучастником энтерококков в реализации гистоповреждений эндометрия.

В группе без ХЭ между представителями УПМ и нормофлорой данные связи имели среднюю и сильную направленность. Так, слабоферментативная и гемолитическая кишечная палочка имела сильную и среднюю связь с *E. cloacae* ($r = +0,73$) и энтерококком ($r = +0,68$). Подобные сильные положительные связи между УПМ кишечника говорят о постоянстве в данном биолокусе и о формировании патологического симбиоза между данными видами (Рисунок 5).

Отрицательная связь между грибами рода *Candida* и дефицитом *Bifidobacterium* spp. ($r = -0,66$) является правильной и указывает на способность индигенной микробиоты противостоять повышению концентрации грибов в кишечном биотопе, или, напротив, повышение концентрации грибов способствует дефицитному содержанию бифидобактерий.

Таким образом, наличие морфологических признаков в эндометрии матки, подтверждающих хронический эндометрит, вероятно, можно связать с выявлением корреляций в кишечнике с атипичной кишечной палочкой и нарушением колонизационной резистентности нормофлоры (нормальной *E. coli* и лактобактерий), а также с взаимовлиянием генов патогенности энтерококков и другой УПМ.

Анализ корреляций в носоглоточном биотопе женщин с ХЭ показал, что в данном биотопе было выявлено наибольшее число связей, по сравнению с другими биотопами в этой группе. Так, положительных, в основном средней силы, связей было 13, а отрицательных – 4, тогда как у женщин без ХЭ – только 2 положительных и 1 отрицательная.

Итак, в первую очередь мы проанализировали, какие связи имели ГП энтерококков в данном биотопе. Так, у женщин с ХЭ наблюдается связь по кругу (замкнутая), что является важным с точки зрения их взаимного влияния и последовательного взаимодействия. Так, ген *sprE* имел связь с геном *gelE* ($r = +0,29$), *gelE* – с *Klebsiella* spp. ($r = +0,31$), *Klebsiella* spp. – с *cyfM* ($r = +0,37$), *cyfM* с *Streptococcus* β -гемолитическим ($r = +0,36$), а он в свою очередь – с *sprE* ($r = +0,39$), замыкая круг. Вероятно, данные положительные корреляции говорят о способности этой УПМ патологически влиять на экспрессию данных генов патогенности энтерококков и формировать сложные патологические симбиозы.

Нужно также отметить что ген *gelE* имел положительную слабую связь с *Corynebacterium* spp. ($r = +0,29$).

В группе без ХЭ связь была выявлена только между генами *asa1* и *cyfM* – положительная средней силы ($r = 0,49$). Такие обособленные связи только между этими генами, возможно, говорят об отсутствии влияния на их экспрессию другой микробиоты и других генов патогенности.

Между УПМ в данной группе женщин была определена одна отрицательная связь – между *Streptococcus* гр. *oralis* и *S. pneumoniae* ($r = -0,45$), – которая свидетельствует о способности нормобиоты проявлять антагонистическую активность к патогенному агенту; и одна положительная средней силы связь ($r = +0,64$) между *Streptococcus* гр. *oralis* и *Streptococcus* β -гемолитическим, являющимся этиологическим агентом воспалительных заболеваний, что указывает на симбиотические взаимоотношения между ними, ухудшая состояние микробиоценоза данного биотопа женщин (Рисунок 6).

В группе с ХЭ также была выявлена отрицательная средней силы связь между *Streptococcus* гр. *oralis* и *S. pneumoniae* ($r = -0,48$). *S. pneumoniae* при этом имел положительную средней силы связь с фиброзом в строме эндометрия женщин группы с ХЭ ($r = +0,38$), подтверждая патогенное влияние этого вида. Обратную связь *S. pneumoniae* имел с *E. faecium* ($r = -0,29$), что говорит, наоборот, о менее отрицательном действии этого вида, в отличие от *E. faecalis*.

Наличие другого морфологического признака – плазматических клеток – коррелировало с такими представителями УПМ, как *P. aerogenes* и кишечная палочка ($r = +0,35$ и $r = +0,50$ соответственно). Между *P. aerogenes* и кишечной палочкой выявлена сильная положительная связь ($r = +0,71$), что, возможно, ещё больше усиливает их влияние на наличие плазматических клеток, являющихся основными маркерами ХЭ.

P. aerogenes в свою очередь имел положительную связь с *S. pyogenes* ($r = +0,46$), а последний – с *E. coli* ($r = +0,30$), замыкая круг. Эти связи также указывают на наличие симбиотических патологических связей между данными представителями УПМ, комплексно влияя на появление плазматических клеток в эндометрии женщин с ХЭ.

Склеротические изменения стенок артерий в эндометрии матки имели обратную слабую связь с *Neisseria spp.* ($r = -0,29$), а они – положительную средней силы связь с коринебактериями ($r = +0,49$), что, вероятно, указывает на способность индигенной микробиоты положительным образом влиять на ткани эндометрия.

Таким образом, наличие морфологических признаков в эндометрии матки, подтверждающих хронический эндометрит, вероятно, можно связать с выявлением корреляций в носоглотке с *S. pneumoniae*, *E. coli* и *P. aerogenes*.

Резюмируя полученные выше результаты, можно сказать, что у пациенток с хроническим воспалением эндометрия в исследованных областях – вагинальном, кишечном и носоглоточном микробиоценозах – наблюдается потеря межсистемных взаимосвязей, характерных для группы без ХЭ, и увеличение количества новых корреляционных связей преимущественно положительного характера за счёт вовлечения всех исследованных признаков – условно-патогенной микробиоты, генов патогенности энтерококков и морфологических признаков ХЭ. У пациенток без хронического воспаления эндометрия взаимодействие осуществлялось в 3 раза меньшим числом корреляций.

Возникновение большого числа дополнительных корреляционных связей у женщин с ХЭ связано с формированием новых патологических

взаимоотношений между нормофлорой, видами агрессивной микробиоты, генами патогенности энтерококков и морфологическими признаками ХЭ. Большое число патологических связей усложняет систему взаимоотношений внутри каждого биотопа и между собой, усугубляя процесс при ХЭ.

На основании результатов, полученных методом корреляционного анализа, нами предложены модели взаимосвязей между компонентами изученных микробиоценозов у женщин исследованных групп (Рисунки 4, 5, 6).

3.6. Определение наиболее информативных показателей микробиоценозов различных биотопов и генов патогенности энтерококков у женщин с хроническим эндометритом

Актуальной задачей нашего исследования стал поиск наиболее значимых показателей, которые позволили бы определить риск развития нарушений микробиома у женщин с ХЭ. С этой целью на завершающем этапе работы был применён дискриминантный анализ, с помощью которого были вычислены линейные классификационные функции, зависящие от нескольких наиболее информативных показателей, максимально разграничивающих данные группы. С помощью указанного метода определяли информативность признаков, включённых в линейные дискриминантные функции (ЛДФ); коэффициенты линейных классификационных функций (ЛКФ) и классификационную матрицу с оценками чувствительности диагностики групп обучающей информации по ЛКФ; коэффициенты канонических ЛДФ, канонические значения по ЛДФ.

Коэффициенты линейных дискриминантных функций представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Коэффициенты линейных дискриминантных функций

Наименование микроорганизма	Функции классификации	
	G_1:0	G_2:1
<i>Neisseria</i> spp., носоглоточный биотоп	1,7073	1,3163
<i>Coryn.</i> spp., вагинальный биотоп	-0,2469	-0,6878
CNS, вагинальный биотоп	0,8607	1,3965
<i>Lactobacterium</i> spp., вагинальный биотоп	5,0203	4,6832
<i>E. fs</i> , кишечный биотоп	0,5613	0,7995
<i>S.β</i> -гемолитический, носовой биотоп	1,0763	0,8243
Грибы рода <i>Candida</i> , вагинальный биотоп	-0,0448	-0,3274
Грибы рода <i>Candida</i> , кишечный биотоп	1,2635	0,9082
<i>E. fm</i> , носоглоточный биотоп	0,6169	0,7881
Константа	-19,0119	-15,9219

Примечание: G_1:0 – группа без ХЭ; G_2:1 – группа с ХЭ.

В итоге по канонической переменной для анализируемых групп были построены графики. С помощью ЛКФ были рассчитаны линейные классификационные формулы (для отнесения объекта к одной из групп):

$$F_1 = -19,01 + 1,71 \times x_1 - 0,25 \times x_2 + 0,86 \times x_3 + 5,02 \times x_4 + 0,56 \times x_5 + 1,08 \times x_6 - \\ - 0,05 \times x_7 + 1,26 \times x_8 + 0,62 \times x_9;$$

$$F_2 = -15,92 + 1,32 \times x_1 - 0,69 \times x_2 + 1,40 \times x_3 + 4,69 \times x_4 + 0,80 \times x_5 + 0,82 \times x_6 - \\ - 0,33 \times x_7 + 0,91 \times x_8 + 0,79 \times x_9,$$

где: F_1 – линейная классификационная формула для отнесения женщин репродуктивного возраста с репродуктивными нарушениями в группу без ХЭ; F_2 – линейная классификационная формула для отнесения женщин репродуктивного возраста с репродуктивными нарушениями в группу с ХЭ; x_1 – *Neisseria* spp. (носоглоточный биотоп); x_2 – *Corynebacterium* spp. (вагинальный биотоп); x_3 – CNS (вагинальный биотоп); x_4 – *Lactobacterium* spp. (вагинальный биотоп); x_5 – *Enterococcus faecalis* (кишечный биотоп); x_6 – *Streptococcus β*

гемолитический (носоглоточный биотоп); x_7 – грибы рода *Candida* (вагинальный биотоп); x_8 – грибы рода *Candida* (кишечный биотоп); x_9 – *Enterococcus faecalis* (кишечный биотоп).

Все переменные являлись информативными параметрами с уровнями значимости от 0,09 (наименее информативный) до 0,000510. Наиболее информативным показателем среди исследуемых являются бактерии рода *Corynebacterium* spp. ($F = 12,45$).

Отнесение пациенток с ХЭ к определённой группе производилось по максимальному значению ЛКФ после расчёта по имеющемуся набору переменных. Объект будет относиться к той группе, где максимальный F_i ($i = 1, k$); k – количество групп ($k = 2$).

Качество выработанных правил оценивалось сопоставлением результатов классификации с исходной классификацией объектов в обучающей матрице (Таблица 13).

Таблица 13 – Оценка чувствительности решающих правил

Матрица классификации			
Функция	Процент	G_1:0	G_2:1
G_1:0	54,87805	45	37
G_2:1	86,20689	20	125
Всего	74,88987	65	162

Примечание: G_1:0 – группа без ХЭ; G_2:1 – группа без ХЭ.

Из таблицы 13 видно, что при проверке предварительно проведённой «разбивки» пациентов на две группы линейными классифицирующими функциями точность группировки составила 74,9 %.

Для определения диагностической значимости отобранных показателей и построенных классификационных уравнений в оценке риска возникновения нарушений микробиома у женщин с ХЭ были определены:

- чувствительность – доля больных с положительным результатом теста среди женщин, больных ХЭ

$$a / (a + c) \times 100 \% = 86,2 \%;$$

- специфичность – доля лиц с отрицательным результатом теста среди женщин с репродуктивными нарушениями без ХЭ

$$d / (b + d) \times 100 \% = 54,8 \%;$$

- диагностическая эффективность построенных классификационных уравнений (точность теста) – доля правильных результатов теста в общем количестве полученных результатов

$$(a + b) / (a + b + c + d) \times 100 \% = 71,4 \%;$$

- прогностическая ценность положительного результата – вероятность развития ХЭ при наличии репродуктивных нарушений при положительном результате теста

$$a / (a + b) \times 100 \% = 77,2 \%;$$

- прогностическая ценность отрицательного результата – вероятность того, что при отрицательном результате теста на фоне репродуктивных нарушений не разовьётся ХЭ

$$d / (c + d) \times 100 \% = 69,2 \%.$$

Таким образом, включение микробиологических показателей в уравнения классификационных функций можно рассматривать как дополнительные диагностические критерии, которые обладают высокой чувствительностью, специфичностью и позволяют включать женщин с ХЭ в группу риска развития нарушений микробиома с точностью 71,4 %. Выявление наиболее информативных показателей микробиома различных биотопов позволяет построить математическую модель, с помощью которой возможно патогенетически обосновать способы коррекции изменений микробиома у женщин с хроническим эндометритом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Актуальной и значимой проблемой в структуре современной гинекологии и акушерства продолжает оставаться хронический эндометрит. Частота этого заболевания в последние годы увеличивается. ХЭ приводит к нарушению менструальной, секреторной, половой и репродуктивной функций организма женщины, приобретая не только медицинское, но и социальное значение [42, 90, 147, 148, 202].

По результатам современных данных, хронический эндометрит характеризуется: изменением этиологической структуры с увеличением значимости вирусной и условно-патогенной флоры; доминированием микробных ассоциаций с выраженными патогенными свойствами над монокультурами [118, 119, 268]; ростом резистентности флоры к фармакотерапии и длительным срокам терапии в связи с изменением процесса воспаления с выраженной тенденцией к затяжному течению, первичной хронизации процесса, а также с преобладанием бессимптомных и субклинических форм [7, 188, 189, 222].

Бессимптомная циркуляция инфекционных агентов в эндометрии приводит к выраженным морфологическим и функциональным изменениям в структуре ткани, что нарушает пролиферацию и нормальную циклическую трансформацию ткани [89] и является причиной бесплодия, привычного невынашивания беременности, неудачных попыток использования вспомогательных репродуктивных технологий, осложнённого течения беременности и родов [148, 151, 169, 215].

Важное место в патогенезе хронического воспаления занимает аутоиммунная агрессия в связи с тем, что микроорганизмы нормальной и условно-патогенной флоры человека имеют общие антигены с тканевыми антигенами организма [32, 288]. В результате микроорганизмы становятся нечувствительными к влиянию иммунной системы хозяина, и аутоантитела способны разрушать не только повреждённые, но и здоровые ткани органа.

Со временем условно-патогенная флора в полости матки может стать ведущим микробным фактором воспалительного процесса, поскольку иммунный ответ слизистой оболочки неполноценен [41, 68].

Роль бактерий в физиологии и патологии человека заслуживает особого внимания и диктует необходимость изучения их взаимодействия с организмом носителя. Нарушение симбиотических взаимодействий микроорганизмов с макроорганизмом приводит к изменению качественного состава и появлению штаммов с наличием ряда факторов патогенности и, как следствие, к развитию сложных патофизиологических процессов [1, 259, 265].

В настоящее время при изучении причин ХЭ в большинстве случаев рассматривается микробиоценоз отдельного биотопа, в основном репродуктивного тракта, а микробиота слизистых других биотопов и особенности их взаимодействия не освещены. В этой связи изучение роли ассоциативной микробиоты различных биотопов у женщин с ХЭ актуально и обусловлено недостаточностью сведений о состоянии этих систем и влиянии отдельных микроорганизмов этих систем и их патогенного потенциала на течение воспалительных заболеваний репродуктивной системы женщины.

Результаты проведённого исследования позволят установить ключевую роль отдельных видов микроорганизмов в формировании патобиоценоза в разных биотопах у женщин с ХЭ.

Представляет также большой интерес изучение детерминант патогенности у энтерококков, являющихся, с одной стороны, нормофлорой, а с другой – этиологическими агентами экзогенных и эндогенных инфекционных процессов [83, 185, 195].

В связи с вышеизложенным, целью работы явилось установление закономерностей нарушений микробиоценозов вагинального, кишечного и носоглоточного биотопов при формировании хронического эндометрита для патогенетического обоснования принципов их коррекции.

Для решения поставленной цели было обследовано 116 женщин с подозрением на хронический эндометрит, из них у 73 ХЭ был верифицирован, у 43 – не был подтверждён.

На первом этапе нами было проведено исследование нормобиоты и условно-патогенной микробиоты и их ассоциаций в различных (вагинальный, кишечный, носоглоточный) биотопах у женщин групп с ХЭ и без ХЭ. Выбор данных биотопов обусловлен активным взаимовлиянием и взаимодействием между их микробиотой и формированием с другими слизистыми единой системы и важной многофункциональной части организма человека [219, 221].

В результате исследования у пациенток с ХЭ во всех исследованных биотопах нами были выявлены дефицит или отсутствие нормофлоры (индигенной микробиоты) и повышение на этом фоне частоты и популяционной плотности условно-патогенной микробиоты, что подтверждается также и другими исследованиями. Так, в вагинальном биотопе женщин с ХЭ статистически значимо чаще детектировались такие представители УПМ, как энтерококки и коагулазоотрицательные стафилококки (*CNS*) на фоне дефицита лактобактерий в пределах нормы или при полном их отсутствии. Частота выделения многокомпонентных ассоциаций также была выше в группе женщин с ХЭ.

В кишечном биотопе также отмечались изменения. Дисбиотические состояния (1-й или 2-й степени) были определены чаще у женщин с ХЭ, а микрoэкологическая норма (эубиоз) кишечника была выявлена статистически значимо чаще в группе женщин без ХЭ. У женщин с ХЭ также статистически значимо чаще были детектированы энтерококки, по сравнению с женщинами без ХЭ.

В носоглотке женщин с ХЭ нарушения также проявились в дефиците индигенной микробиоты (бактерии вида *Streptococcus* гр. *oralis*, *Neisserii* spp. и *Corynebacterium* spp.) и в высоком содержании патогенного стрептококка (*S. pneumoniae*).

Доминирующее положение энтерококков, стафилококков и другой УПМ в нашем исследовании свидетельствует о снижении иммуностимулирующей активности у лактобактерий и другой нормобиоты в изученных биотопах женщин

с ХЭ. По данным литературы, лактобактерии и другая нормобиота, в норме заселяющие вагинальный и другие биотопы, обладают иммуностимулирующей активностью, благодаря наличию в их клеточной стенке мурамилдипептида [217, 219, 221]. Данный структурный компонент способен влиять на систему локального иммунитета путём стимуляции его гуморального и клеточного звеньев [119, 120], что повышает количество активированных макрофагов и иммуноглобулинов, которые препятствуют процессам адгезии и транслокации условно-патогенных микроорганизмов [217, 221]. Возможно, снижение данной активности нормобиоты и явилось одной из причин патогенеза нарушений в исследованных микробиоценозах.

По данным других исследований [176], в качестве этиологических факторов ХЭ преобладают именно эти УПМ (энтерококки, стафилококки, кишечная палочка и стрептококки), выявленные нами у женщин с ХЭ. Малосимптомное течение ХЭ может быть также связано со способностью УПМ к трансэндоцитозу, при котором они захватывают мембраны и проникают внутрь эукариотической клетки, не разрушая её и тем самым персистируя в организме [13, 15]. Считается также, что длительная и бессимптомная персистенция инфекционных агентов, характерная чаще всего для УПМ, в эндометрии приводит к выраженным изменениям в структуре ткани, а также к нарушению пролиферации и нормальной циклической трансформации ткани [89].

Указанные УПМ являются потенциальными патогенами в возникновении воспалительных заболеваний женской репродуктивной системы, благодаря наличию в их клеточной стенке липополисахарида [178, 179, 181], способствующего ухудшению состояния больного, вовлекая другие системы в основное заболевание [189]. ЛПС (или эндотоксин) может взаимодействовать с различными клетками макроорганизма и в зависимости от дозы вызывать их повреждение или стимулировать синтез физиологически активных веществ [178, 179, 181, 189].

В результате подобных нарушений на слизистой вагинального и других биотопов может формироваться хорошо структурированная патологическая

полимикробная плёнка (биоплёнка), которая может блокировать воспалительный ответ женского организма, снижать активность иммуноцитов, позволяя бактериям достигать высоких концентраций, и увеличивать риск присутствия УПМ и в эндометрии этих женщин [95, 176, 126, 127]. Микробные биоплёнки могут вызывать патологические процессы в тканях организма, сопровождаясь воспалительными реакциями организма и хроническими воспалительными процессами [186].

На современном этапе в генезе воспалительных заболеваний внутренних половых органов абсолютно преобладают ассоциации условно-патогенных микроорганизмов, а выяснение взаимоотношений микробов-ассоциантов имеет ключевое значение в понимании причинно-следственных связей между миром микробов и патологическим состоянием человека [41]. Поэтому следующим этапом нашего исследования был анализ с помощью коэффициента Жаккара частоты встречаемости ассоциаций УПМ и характера взаимоотношений между ассоциантами. Данный этап исследования выявил преобладание многокомпонентных ассоциаций у женщин с ХЭ в вагинальном биотопе, в сравнении с женщинами без ХЭ.

Анализ межмикробных взаимоотношений показал наибольшее число патологических симбиозов (синергизм) между представителями нормофлоры и УПМ у женщин с ХЭ, подтверждая снижение колонизационной резистентности и антагонистической активности у индигенной микробиоты к УПМ, что и вызвало доминирующее положение УПМ в исследованных биотопах женщин с ХЭ.

Таким образом, качественно-количественные изменения в изученных нами биотопах показали дефицит индигенной и преобладание агрессивной УПМ, а также симбиотические патологические связи между ними, что указывает на дисбиотические процессы в каждом из биотопов, образующие единый патологический симбиоз в организме женщин с ХЭ. Данные нарушения могут являться одной из основных причин развития осложнений, снижения защитных функций организма женщины и, вероятно, являются одним из факторов возникновения и хронизации воспалительного процесса в эндометрии женщин.

Количественно-качественный анализ спектра микробиоты исследованных биотопов у женщин с ХЭ показал высокий процент встречаемости бактерий рода *Enterococcus* spp., что может быть риском для появления штаммов с наличием факторов патогенности, участвующих в формировании биоплёнки и вызывающих серьёзные инфекционные заболевания [14, 17, 185].

В настоящее время установлено, что участки генома энтерококков с генами патогенности могут являться мобильными элементами («острова» патогенности) и способны передаваться от одного штамма другому с помощью плазмид. Также была обнаружена способность энтерококков изменять вирулентность организма путём исключения конкретных ОП, что позволяло энтерококкам перемещаться в различные биотопы человека, вызывая развитие патологического процесса [273]. Возможно, данные способности энтерококков и определили их доминирующее положение у женщин с ХЭ в исследованных биотопах. В этой связи следующим этапом нашего исследования стало тестирование аутоштаммов энтерококков в группе женщин с ХЭ и в группе без ХЭ на наличие в их геноме генов патогенности.

В результате исследования в целом во всех трёх биотопах из аутоштаммов энтерококков у женщин с ХЭ чаще других ГП, по сравнению с женщинами группы без ХЭ, был детектирован ген сериновой протеиназы (*sprE*), вызывающий токсическое повреждение тканей (18,1 %), что, вероятно, может являться одним из факторов гистоповреждения ткани эндометрия матки этих женщин.

Далее с помощью расчёта относительного риска было проанализировано, какие гены патогенности энтерококка как факторы риска могут быть ассоциированы с выявлением морфологических признаков хронического эндометрита у женщин исследованных групп. Так, у женщин с наличием гена *sprE* у энтерококков в 1,6 раза чаще диагностировались морфологические признаки ХЭ, чем у женщин без гена *sprE* (ОР = 1,616; 95% ДИ = 1,311–1,993). Уровень значимости данной взаимосвязи соответствует $p < 0,05$, так как 95% ДИ не включает в себя единицу. Данный показатель ОР свидетельствует о прямой связи между наличием у энтерококков гена сериновой протеиназы (*sprE*) и наличием в эндометрии морфологических признаков ХЭ.

Таким образом, полученные результаты указывают на то, что гистологические изменения в эндометрии матки женщин с ХЭ ассоциированы с наличием у энтерококков гена *sprE* (сериновая протеиназа) как фактора риска развития ХЭ.

Далее, с помощью методов корреляционного анализа нами было показано, что у пациенток с хроническим воспалением эндометрия в исследованных системах – вагинальном, кишечном и носоглоточном микробиоценозах – наблюдается значительное число корреляций. У пациенток без ХЭ взаимодействие внутри микробиоценозов осуществлялось в 3 раза меньшим числом корреляций.

Возникновение большого числа дополнительных корреляционных связей у женщин с ХЭ связано с влиянием неблагоприятных факторов, формированием новых патологических взаимоотношений в результате участия всех исследованных генов патогенности энтерококков и широкого спектра УПМ. Большое число патологических связей усложняет систему взаимоотношений внутри каждого биотопа и между собой в целом, усугубляя состояние женщин с ХЭ.

Заключительным этапом нашей работы стало определение наиболее значимых (информативных) показателей изменения микробиома при хроническом эндометрите на основе комплексной оценки состояния различных микробиоценозов как важной составляющей иммунорезистентности организма к различным неблагоприятным факторам. Использование многофакторных методов статистического анализа данных позволило не только выявить наиболее значимые признаки развивающегося патологического процесса, но и отнести пациентку в конкретную клиническую группу [95]. Одним из наиболее широко используемых в статистике многомерных методов является дискриминантный анализ. Данный вид анализа позволяет на основе различных характеристик (признаков, параметров) объекта классифицировать его, то есть некоторым оптимальным способом отнести к одной из нескольких групп (классов) [122].

Так, по результатам многофакторного дискриминантного анализа в качестве наиболее значимых показателей в вагинальном биотопе были выявлены бактерии

рода *Corynebacterium* spp., *CNS*, *Lactobacterium* spp. и грибы рода *Candida*; в кишечном биотопе – бактерии вида *Enterococcus faecalis* и грибы рода *Candida*; в носоглоточном биотопе – *Neisseria* spp., *Streptococcus* β -гемолитический и *Enterococcus faecium*.

Так, *Lactobacterium* spp. относятся к индигенной микробиоте (нормофлоре), и их дефицит или отсутствие, как правило, способствует преобладанию условно-патогенной микробиоты; *CNS* (стафилококки) и грибы рода *Candida* являются этиологическими факторами хронических воспалительных заболеваний репродуктивной системы [33, 112]. Литературные данные о влиянии *Corynebacterium* spp. в вагинальном биотопе весьма противоречивы. Многие авторы считают, что в вагинальном биотопе коринебактерии являются автохтонными микроорганизмами и наряду с лактобактериями участвуют в поддержании колонизационной резистентности [288]. С другой стороны, они находятся в тесном взаимоотношении и с условно-патогенными микроорганизмами. Результатом этих взаимодействий может явиться формирование как нормо-, так и патоценоза. Данные изменения экосистемы влагалища могут формировать хорошо структурированную полимикробную плёнку (биоплёнку), которая может блокировать воспалительный ответ женского организма, снижать активность иммуноцитов, позволяя бактериям достигать высоких концентраций и увеличивать риск присутствия условно-патогенной микрофлоры и в эндометрии этих женщин [126, 127, 176, 211]. Патологические биоплёнки обычно способствуют развитию хронических воспалительных процессов.

Высокий процент выделения энтерококков в любом из биотопов у женщин с ХЭ может способствовать появлению штаммов с наличием ряда факторов патогенности, способствующих биоплёнокообразованию и вызывающих хронизацию инфекционных процессов [126, 211]. Существующий ранее феномен оппозитного (усиление/подавление) влияния микроорганизмов на биологические свойства других микросимбионтов в условиях микросимбиоценоза получил подтверждение и в отношении

энтерококков и может быть важным для понимания патогенетических особенностей формирования эндогенных инфекций и дисбиозов в различных биотопах организма человека [64, 208, 209]. Так, проведённые исследования по межмикробным взаимодействиям энтерококков с *C. albicans* показали, что *E. faecalis* способен повышать персистентные свойства факторов патогенности у *C. albicans* и наоборот [64, 144, 208]. Представители носоглоточного биотопа *Neisseria* spp. являются нормобиотой, а *Streptococcus* β -гемолитический – УПМ и этиологическим агентом воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей [123, 131, 179]. Так, выявленный у пациенток с ХЭ ген патогенности энтерококков *sprE* (сериновая протеиназа) способствует проникновению, колонизации и токсическому повреждению тканей, что, вероятно, может являться одним из факторов гистоповреждений ткани эндометрия матки пациенток данной группы.

Таким образом, полученные нами результаты согласуются с исследованиями ряда авторов относительно наличия тесных взаимосвязей параметров различных биотопов и подразумевают необходимость комплексного подхода в изучении микробиома у женщин с хроническим эндометритом. Включение микробиологических показателей в уравнения классификационных функций можно рассматривать как дополнительные диагностические критерии, которые обладают высокой чувствительностью, специфичностью и позволяют включать женщин с репродуктивными нарушениями в группу риска развития нарушений микробиома при хроническом эндометрите с точностью 71,4 %. Выявление наиболее информативных показателей микробиома различных биотопов позволило построить математическую модель, с помощью которой возможно патогенетически обосновать способы коррекции изменений микробиома у женщин с хроническим эндометритом и репродуктивными нарушениями.

Резюмируя полученные результаты, а также литературные данные, нами предложена следующая концептуальная схема развития нарушений микробиома у женщин при ХЭ (Рисунок 7).

Под влиянием различных неблагоприятных факторов, в том числе реакций окислительного стресса, нарушений в системе нейроэндокринной регуляции, наличия сопутствующих соматических заболеваний и т. д., развиваются системные нарушения механизмов гомеостаза, способствующие дизадаптивной перестройке микробиоты, что выражается количественно-качественными изменениями в исследуемых микробиоценозах. Как следствие, происходит срыв компенсаторно-приспособительных механизмов, в результате чего снижается резистентность организма женщины и транслокация УПМ между слизистыми биотопов. Всё это нарушает структуру эндометрия и создаёт условия для воспалительного хронического процесса. Так формируется замкнутый порочный круг. Для его устранения необходима коррекция микробиоты одновременно в различных биотопах у женщин с ХЭ, что будет способствовать нормализации качественного состава микробиоценозов и взаимоотношений между их компонентами, а это в свою очередь повысит резистентность организма к внешним факторам и увеличит вероятность преобладания саногенетических механизмов над патогенетическими.



Рисунок 7 – Концептуальная схема нарушений микробиома у женщин с ХЭ: * – по литературным данным

ВЫВОДЫ

1. У женщин с хроническим эндометритом микробиота вагинального биотопа характеризуется дефицитом лактобактерий (52,5 %; $p = 0,037$), низкой концентрацией лактобактерий в пределах нормы (44,3 %; $p = 0,033$), высокой частотой выделения энтерококков (59 %; $p = 0,014$), коагулазонегативных стафилококков (57,4 %; $p = 0,005$) и многокомпонентных ассоциаций (67,2 %; $p = 0,001$); микробиота кишечного биотопа характеризуется высокой частотой энтерококков (62,2 %; $p = 0,012$) и дисбиозом 1-й и 2-й степени (89,2 %; $p = 0,009$); микробиота носоглоточного биотопа характеризуется дефицитом индигенной флоры – *Streptococcus* гр. *oralis* (55,3 %; $p = 0,007$), *Neisseria* spp. (25,5 %; $p = 0,000$) и *Corynebacterium* spp. (17 %; $p = 0,000$); высокой частотой *S. pneumoniae* (25,5 %; $p = 0,027$).

2. У женщин с хроническим эндометритом представители нормобиоты во всех исследованных биотопах состоят в симбиотических отношениях с УПМ (коэффициент сходства Жаккара (q) ≥ 30 %), что свидетельствует о снижении колонизационной резистентности нормобиоты и её неспособности подавлять патогенную биоту.

3. У женщин с хроническим эндометритом суммарная частота встречаемости гена патогенности энтерококков – сериновой протеиназы (*sprE*) в исследованных биотопах (вагинальном, кишечном и носоглоточном) выше (18,1 %; $p = 0,048$), чем у женщин без хронического эндометрита (3 %).

4. Морфологические признаки хронического эндометрита (воспалительные инфильтраты, фиброз стромы эндометрия, склеротические изменения стенок артерий и плазматические клетки) в 1,6 раза чаще диагностировались среди женщин с наличием гена *sprE* у энтерококков, чем у женщин без гена *sprE* (OR > 1; 95% ДИ = 1,311–1,993; $p < 0,05$).

5. У женщин с хроническим эндометритом во всех исследованных биотопах – вагинальном, кишечном и носоглоточном – наблюдается потеря межсистемных взаимосвязей, характерных для группы без хронического эндометрита, и увеличение количества новых зависимостей за счёт вовлечения условно-патогенной микробиоты, генов патогенности энтерококков и морфологических признаков ХЭ, что может свидетельствовать о формировании новых патологических взаимоотношений.

6. У женщин с хроническим эндометритом в прогностическую модель риска развития нарушений микробиома включены: для вагинального биотопа – бактерии рода *Corynebacterium* spp., *CNS*, *Lactobacterium* spp. и грибы рода *Candida*; для кишечного биотопа – бактерии вида *Enterococcus faecalis* и грибы рода *Candida*; для носоглоточного биотопа – *Neisseria* spp., *Streptococcus* β -гемолитический и *Enterococcus faecium*.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

CNS	– коагулазоотрицательные или коагулазонегативные стафилококки
АБП	– антибактериальные препараты
ВДП	– верхние дыхательные пути
ВЗОМТ	– воспалительные заболевания органов малого таза
ГП	– гены патогенности
ДИ	– доверительный интервал
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ЖКТ	– желудочно-кишечный тракт
КОЕ/г	– колониеобразующая единица на 1 г клинического материала
ЛДФ	– линейная дискриминантная функция
ЛКФ	– линейная классификационная функция
ЛПС	– липополисахарид
ОП	– «острова» патогенности
ОР	– относительный риск
п. н.	– пара нуклеотидов
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
УПМ	– условно-патогенные микроорганизмы
ХТ	– хронический тонзиллит
ХЭ	– хронический эндометрит

ЛИТЕРАТУРА

1. Агабабова, А. А. Значение бактериальной транслокации и её роль в формировании симбиотических отношений с макроорганизмом / А. А. Агабабова, Л. А. Авакян // Национальная академия наук Армении. – 2008. – Т. 108, № 3. – С. 262–269.
2. Акушерство. Национальное руководство / Под ред. Э. К. Айламазяна, В. И. Кулакова, В. Е. Радзинского [и др.]. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 1200 с.
3. Александрова, Н. А. Антагонистические взаимоотношения энтерококков с кандидами на уровне вагинального биотопа и в экспериментах *in vitro* / Н. А. Александрова, М. И. Заславская, М. В. Вахромова // Медицинский альманах. – 2016. – № 5 (45). – С. 91–94.
4. Али-Риза, А. Э. Экспрессия прогестероновых и эстрогеновых рецепторов эндометрия при бесплодии вследствие хронического эндометрита / А. Э. Али-Риза, А. Р. Котиков // The XII Symposium of the Russia–Japan Medical Exchange (Красноярск, 20–21 сентября 2005 г.). – Красноярск, 2005. – С. 26–27.
5. Анализ активности иммуотропных и протеолитических ферментов на различных экспериментальных моделях индуцированного иммунодефицита / Л. В. Ковальчук, М. В. Хорева, Л. В. Ганковская [и др.] // Иммунология. – 2000. – № 4. – С. 42–45.
6. Анкирская, А. С. Бактериальный вагиноз / А. С. Анкирская // Акушерство и гинекология. – 1995. – № 6. – С. 13–16.
7. Баранов, В. Н. Хронические воспалительные заболевания матки и их отдаленные последствия: особенности патогенеза, клинико-морфологическая характеристика, лечение и медицинская реабилитация : автореф. дис. ... докт. мед. наук : 14.00.01 / Баранов Владимир Николаевич. – Челябинск, 2002. – 23 с.

8. Белокриницкая, Т. Е. Состояние защитных систем и их коррекция при эндометритах после родов и кесарева сечения / Т. Е. Белокриницкая, Ю. А. Витковский. – Чита : Поиск, 1999. – 104 с.
9. Белопольский, Ю. А. Справочник по инфекционным болезням / Ю. А. Белопольский. – М. : Эксмо, 2009. – 640 с.
10. Билимова, С. И. Характеристика факторов персистенции энтерококков / С. И. Билимова // Журнал микробиологии. – 2000. – № 4. – С. 104–105.
11. Биоценоз и функциональная активность эпителия влагалища при местном лечении аэробного вагинита полижинаксом и тержинаном / Е. Ф. Кира, Н. В. Артымук, А. Гайтукиева, С. З. Муслимова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2010. – Т. 59 (5). – С. 127–135.
12. Бифидофлора человека, её нормализующие и защитные функции / Г. И. Гончарова, Л. П. Семенова, А. М. Лянная [и др.] // Антибиотики и медицинская биотехнология. – 1987. – Т. XXXII, № 3. – С. 179–183.
13. Бондаренко, В. М. Микрофлора человека: норма и патология / В. М. Бондаренко // Наука в России. – 2007. – № 1. – 28 с.
14. Бондаренко, В. М. «Острова» патогенности бактерий / В. М. Бондаренко // Журнал микробиологии. – 2001. – № 4. – С. 67–74.
15. Бондаренко, В. М. Распознавание комменсальной микрофлоры распознающими рецепторами в физиологии и патологии человека / В. М. Бондаренко, В. Г. Лиходед // Журнал микробиологии. – 2012. – № 3. – С. 82–89.
16. Бондаренко, В. М. Симбиотические энтерококки и проблемы энтерококковой оппортунистической инфекции / В. М. Бондаренко, А. Н. Суворов // Журнал микробиологии. – 2008. – № 3. – С. 14–27.
17. Бочков, В. В. Хронический неспецифический эндометрит: эпидемиология этиология, патогенез, факторы риска, диагностика / В. В. Бочков, А. Н. Плеханов, Ц. Б. Цыденова // Вестник Бурятского государственного университета. – 2015. – Вып. 12. – С. 30–38.

18. Бугеро, Н. В. Некоторые биологические свойства энтерококков и *Blastocystis hominis* в алгоритме ассоциативного симбиотического взаимодействия до и после сокультивирования / Н. В. Бугеро, Н. И. Потатуркина-Нестерова // *Фундаментальные исследования*. – 2012. – № 9. – С. 13–16.
19. Булатова, Е. М. Кишечная микрофлора – один из факторов формирования здоровья человека / Е. М. Булатова, Н. М. Богданова // *Гастроэнтерология*. – 2013. – № 1. – С. 30–34.
20. Бухарин, О. В. Механизмы выживания энтерококков в организме хозяина / О. В. Бухарин, С. И. Билимова, К. Л. Чертков // *Журнал микробиологии*. – 2002. – № 3. – С. 100–106.
21. Бухарин, О. В. Роль ассоциативных микросимбионтов в функционировании ассоциативного симбиоза / О. В. Бухарин, Е. А. Кремлева, А. В. Сгибнев // *Журнал микробиологии*. – 2012. – № 6. – С. 89–95.
22. Бухарин, О. В. Симбиотические взаимоотношения человека и микроорганизмов / О. В. Бухарин, Н. Б. Перунова // *Журнал физиологии человека*. – 2012. – Т. 38, № 1. – С. 108–115.
23. Веселов, А. Я. Современные представления о нормальной микрофлоре пищеварительного тракта взрослого человека и изменения ее в норме и при некоторых заболеваниях органов пищеварения (обзор литературы) / А. Я. Веселов // *Микробиология*. – 1988. – № 4. – С. 3–10.
24. Влияние инфекций на репродуктивную систему женщин / В. И. Краснопольский, О. Ф. Серова, В. А. Туманова [и др.] // *Российский вестник акушера-гинеколога*. – 2004. – Т. 4, № 5. – С. 26–29.
25. Влияние микрофлоры матери на состав микробиоценоза кишечника ребенка в период грудного вскармливания / И. В. Николаева, В. М. Бондаренко, С. В. Фиалкина [и др.] // *Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2008. – № 5. – С. 87–92.
26. Влияние сочетанных эфферентно-лимфогенных методик на течение хронического неспецифического эндометрита / Е. А. Устинова,

Т. В. Овсянникова, М. В. Чекалина [и др.] // Успехи современного естествознания. – 2008. – № 2. – С. 114–115.

27. Влияние сухого экстракта ортилии однобокой на повреждение матки в эксперименте / Е. А. Ботоева, И. П. Убеева, С. М. Николаева [и др.] // Вестник Бурятского государственного университета. – 2009. – № 12. – С. 12–15.

28. Влияние хронических воспалительных процессов органов репродуктивной системы на рецепторы стероидных гормонов в эндометрии у женщин с привычным невынашиванием беременности / А. Э. Али-Риза, А. Р. Котиков, А. К. Кириченко [и др.] // Сибирский медицинский экспресс. – 2005. – № 2. – С. 12–17.

29. Воробьев, А. А. Бактерии нормальной микрофлоры: биологические свойства и защитные функции / А. А. Воробьев, Е. А. Лыкова // Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунологии. – 1999. – № 6. – С. 102-105.

30. Воробьева, Л. И. Микробиологический синтез витаминов / Л. И. Воробьева. – М., 1982. – 168 с.

31. Воробьева, Л. И. Пропионовокислые бактерии / Л. И. Воробьева. – М., 1999. – 300 с.

32. Воспаление: руководство для врачей / Под ред. В. В. Серова, В. С. Паукова. – М., 1995. – 640 с.

33. Воспалительные заболевания в гинекологии: практическое руководство / Под ред. Т. Ю. Пестрикова, И. В. Юрасов, Е. А. Юрасова. – М.: Литтерра, 2009. – 296 с.

34. Гаджиева, Ф. Р. Морфофункциональные особенности слизистой оболочки матки у женщин с синдромом потери беременности ранних сроков инфекционно-воспалительного генеза / Ф. Р. Гаджиева // Проблемы репродукции. – 2010. – № 5. – С. 85–87.

35. Гайдашев, И. П. Анализ и обработка данных. Специальный справочник / И. П. Гайдашев. – СПб.: Питер, 2001. – 750 с.

36. Галеев, Ю. М. Методы исследования распространения бактериальных клеток / Ю. М. Галеев, М. В. Попов, О. В. Салато // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – № 3. – С. 18–23.

37. Гармашева, И. Л. Биологическая активность и безопасность энтерококков / И. Л. Гармашева, Н. К. Коваленко // Микробиологический журнал. – 2011. – № 73 (4). – С. 77–84.

38. Гладышева, И. В. Характеристика коринебактерий в ассоциативном симбиозе репродуктивного тракта женщин : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 03.02.03 / Гладышева Ирина Вячеславовна. – Оренбург, 2015. – 20 с.

39. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М., 1999. – 459 с.

40. Глебова, Н. С. Изменения микробиоценоза кишечника под влиянием дестабилизирующего действия бластоцистной инвазии / Н. С. Глебова // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2007. – № 5 (69). – С. 155–160.

41. Глухова, Е. В. Микробиологическая характеристика биотопов репродуктивного тракта при эндометрите / Е. В. Глухова, И. Н. Шаховская // Тольяттинский медицинский консилиум. – 2008. – № 1 (2). – С. 38–44.

42. Городецкая, О. С. Общая магнитотерапия в комплексном лечении хронического эндометрита : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.01 / Городецкая Ольга Сергеевна. – Иваново, 2013. – 25 с.

43. Громада, Н. А. Хронический тонзиллит и его влияние на течение других заболеваний / Н. А. Громада // Вестник КРСУ. – 2003. – Т. 3, № 7. – С. 121–124.

44. Данусевич, И. Н. Факторы риска развития хронического эндометрита у женщин с репродуктивными нарушениями / И. Н. Данусевич // Acta biomedica scientifica. – 2013. – № 4 (92). – С. 111–114.

45. Демидова, Е. М. Особенности стероидрецепторного аппарата эндометрия при привычном невынашивании беременности с высоким риском инфекционных осложнений / Е. М. Демидова, М. Л. Алексеева, Е. А. Новиков // Акушерство и гинекология. – 1991. – № 9. – С. 10–12.

46. Дергачев, В. С. Иммуно-эндокринные взаимоотношения в патогенезе хронического тонзиллита и сопряженных заболеваний : автореф. дис. ... докт. мед. наук / Дергачев Владимир Степанович. – Новосибирск, 2000. – 23 с.
47. Дерябин, Д. Г. Spectrum of microflora isolated from various areas of the female reproductive tract / Д. Г. Дерябин, А. А. Минаков, С. Д. Борисов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2001. – № 4. – С. 84–86.
48. Диагностика и лечение в гинекологии. Проблемный подход ; пер. с англ. / М. Рис, С. Хоуп, М. К. Охлер [и др.] ; под ред. В. Н. Прилепской. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 320 с.
49. Дисбактериозы желудочно-кишечного тракта / В. М. Бондаренко, В. В. Боев, Е. А. Лыкова [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 1998. – № 1. – С. 66–72.
50. Добренькая, Г. С. Иммунобиохимические особенности течения воспалительных заболеваний придатков матки / Г. С. Добренькая // Журнал Российского общества акушеров-гинекологов. – 2009. – № 4. – С. 35–40.
51. Долгушин, И. И. Нейтрофилы и продукты их секреции оказывают регулирующее влияние на факторы колонизационной резистентности слизистых оболочек / И. И. Долгушин // Российский аллергологический журнал. – 2007. – № 3 (Прил. 1). – С. 263–264.
52. Долгушин, И. И. Роль нейтрофилов в регуляции микробиоценоза репродуктивного тракта женщин / И. И. Долгушин, Ю. С. Андреева // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2005. – № 5. – С. 84–87.
53. Долгушина, В. Ф. Factors of the local immune defence of the reproductive tract in pregnant women with vaginosis / В. Ф. Долгушина, Л. А. Смольникова, И. И. Долгушин // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2001. – № 4. – С. 89–93.
54. Долгушина, В. Ф. Вирусные инфекции у беременных / В. Ф. Долгушина, А. Д. Макацария. – М., 2004. – 164 с.
55. Долгушина, В. Ф. Микробиоценоз влагалища у женщин с хроническим цервицитом, ассоциированным герпетической инфекцией / В. Ф. Долгушина,

О. Л. Колесников, Н. М. Эрлихман // Вестник новых медицинских технологий. – 2008. – Т. 15, № 3. – С. 165–166.

56. Доскоч, И. А. Микроэкология влагалища у женщин после родов / И. А. Доскоч, А. Я. Сенчук // Охрана материнства и детства. – 2012. – № 2 (20). – С. 45–47.

57. Дубинин, А. В. Трофические и регуляторные связи кишечной микрофлоры и макроорганизма / А. В. Дубинин, В. Н. Бабин, П. М. Раевский // Клиническая медицина. – 1991. – № 7. – С. 24–28.

58. Дубницкая, Л. В. Хронический эндометрит: возможности диагностики и лечения / Л. В. Дубницкая, Т. А. Назаренко // Consilium Medicum. – 2007. – Т. 9, № 6. – С. 25–28.

59. Ершов, Г. В. Этиологическая структура и резистентность возбудителей воспалительных заболеваний органов малого таза у женщин / Г. В. Ершов, Д. Н. Бочкарёв, И. В. Смоленов // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2004. – Т. 6, № 2. – С. 193–199.

60. Зайцев, В. М. Прикладная медицинская статистика : учебное пособие / В. М. Зайцев, В. Г. Лифляндский, В. И. Маринкин. – СПб. : ИФК «Фолиант», 2006. – 432 с.

61. Захарова, Е. А. Микроэкологическая характеристика кишечного микробиоценоза часто болеющих детей / Е. А. Захарова, И. С. Азизов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2012. – № 2. – С. 63–68.

62. Зубов, Л. А. Современные проблемы антибиотикорезистентности в педиатрической клинике / Л. А. Зубов, Ю. М. Богданов // Антибиотики и химиотерапия. – 1998. – Т. 43, № 4. – С. 43–49.

63. Извин, А. И. Микробный пейзаж слизистой верхних дыхательных путей в норме и патологии / А. И. Извин, Л. В. Катаева // Вестник отоларингологии. – 2009. – № 2. – С. 64–68.

64. Изменение вирулентных свойств урогенитальных энтерококков в условиях межмикробных взаимоотношений / Н. И. Потатуркина-Нестерова,

И. С. Немова, М. Н. Артамонова [и др.] // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2014.– № 2. – С. 106–107.

65. Инфекции, передаваемые половым путем / Под ред. В. П. Адаскевича. – Н. Новгород : Изд-во НГМА, 2001. – 416 с.

66. Инфекционная патология нижнего отдела половых путей женщины и бесплодие (обзор литературы) / Е. Б. Рудакова, Н. В. Кучинская, О. Ю. Панова, С. И. Семенченко // Гинекология. – 2004. – Т. 6, № 3. – С. 132–136.

67. Ищенко, Л. С. Клинико-морфологические аспекты и пути оптимизации терапии хронического эндометрита : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Ищенко Людмила Станиславовна. – Челябинск, 2007. – 22 с.

68. Кажина, М. В. Изменение микробиоценоза у больных хроническими воспалительными заболеваниями органов малого таза после антибиотикотерапии / М. В. Кажина, А. И. Жмакин, Л. П. Титов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2005. – № 3. – С. 75–78.

69. Калинина, С. В. Оценка микробиоценозов и иммунного статуса кормящих женщин : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 03.02.03 / Калинина Светлана Валерьевна. – Владивосток, 2011. – 25 с.

70. Каманин, Е. И. Острый бактериальный синусит / Е. И. Каманин, Р. С. Козлов, А. В. Веселов // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2008. – Т. 10, № 1. – С. 34–45.

71. Кира, Е. Ф. Комбинированная терапия инфекционных заболеваний женских половых органов / Е. Ф. Кира // Гинекология. – 2010. – № 1. – С. 12–15.

72. Кира, Е. Ф. Современные подходы к лечению воспалительных заболеваний органов малого таза женщин легкой и средней степени тяжести в амбулаторной гинекологической практике / Е. Ф. Кира, А. Маркарян // Вестник практического врача. – 2013. – № 1. – С. 29.

73. Кисина, В. И. Микробиоценоз влагалища в норме и патологии / В. И. Кисина, К. И. Забиров // Урогенитальные инфекции у женщин: клиника, диагностика, лечение. – М., 2005. – С. 10–45.

74. Клинико-лабораторная характеристика и анализ микрофлоры кишечника и урогенитального тракта женщин с внутриматочной патологией / Л. З. Гриценко, О. Д. Константинова, А. А. Симонова [и др.] // Уральский медицинский журнал. – 2010. – № 3 (68). – С. 95–102.

75. Клиническая характеристика и микрoэкологический статус кишечника и репродуктивного тракта женщин с внутриматочной патологией до и после гистероскопии / В. А. Гриценко, А. А. Симонов, О. Д. Константинова [и др.] // Уральский медицинский журнал. – 2010. – № 3. – С. 95–102.

76. Коленчукова, О. А. Микрофлора слизистой оболочки носа у больных гайморитом / О. А. Коленчукова, С. В. Акчешаш, Н. М. Чижмотря // Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунобиологии. – 2008. – № 3. – С. 77–79.

77. Колоджиева, В. В. Эпидемиологические особенности гнойно-септических инфекций, вызванных энтерококками и стрептококками группы В у пациентов гинекологического стационара и женской консультации : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.30 / Колоджиева Виктория Васильевна. – СПб., 2006.– 23 с.

78. Коломина, Л. Н. Роль условно-патогенной микрофлоры в формировании хронической патологии носоглотки / Л. Н. Коломина, В. В. Колонин. – М. : Научный журнал «Chronos», 2017. – С. 19.

79. Комплексное лечение хронического эндометрита: клинико-морфологическое обоснование использования физиотерапии / В. Н. Серов, Е. А. Коган, Е. С. Силантьева [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2006. – № 3. – С. 46–50.

80. Коротяев, А. И. Медицинская микробиология / А. И. Коротяев, С. А. Бабичев. – СПб. : Специальная литература, 1998. – 580 с.

81. Коротяев, А. И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология / А. И. Коротяев, С. А. Бабичев. – СПб., 1998. – 592 с.

82. Котиков, А. Р. Патологическая анатомия и иммуногистохимический анализ эндометрия женщин с бесплодием неясного генеза и привычным невынашиванием беременности при хроническом эндометрите : автореф.

дис. ... канд. мед. наук : 14.00.15 / Котиков Алихан Русланович. – Новосибирск, 2007. – 18 с.

83. Красная, Ю. В. Значение бактерий рода *Enterococcus* в жизнедеятельности человека / Ю. В. Красная, А. С. Нестерова, Н. И. Потатуркина-Нестерова // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 6. – С. 1169.

84. Краснопольский, В. И. Бактериальный вагиноз : информационно-методическое письмо / В. И. Краснопольский, Л. С. Логутова, О. Ф. Серова. – М., 2005. – 20 с.

85. Краснопольский, В. И. Гнойная гинекология / В. И. Краснопольский, С. Н. Буянова, Н. А. Щукина. – М. : МЕДпресс, 2001. – 282 с.

86. Крюков, А. И. Клиника, диагностика и лечение тонзиллярной патологии : методические рекомендации / А. И. Крюков. – М., 2011. – 32 с.

87. Куваева, И. Б. Антагонистическая активность микробных популяций защитной флоры и её связь с характеристикой микробиоценоза и факторами питания / И. Б. Куваева, Г. Г. Кузнецова // Вопросы питания. – 1993. – № 3. – С. 46–50.

88. Кузнецова, А. В. Иммуноморфология хронического эндометрита : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.01 / Кузнецова Алла Викторовна. – М., 2001. – 23 с.

89. Кузнецова, А. В. Хронический эндометрит / А. В. Кузнецова // Архив патологии. – 2000. – Т. 62, № 3. – С. 48–52.

90. Кулаков, В. И. Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению / В. И. Кулаков. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 616 с.

91. Кулаков, В. И. Практическая гинекология. Клинические лекции ; 3-е изд., доп. / В. И. Кулаков, В. Н. Прилепская. – М. : МЕДпресс-информ, 2006. – 736 с.

92. Лабинская, А. С. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований / А. С. Лабинская. – М. : Медицина, 2005. – 600 с.

93. Ланкина, М. В. Микрофлора зева человека как показатель определения резистентности организма / М. В. Ланкина // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2002. – № 3. – С. 97–99.
94. Леванов, А. В. Феномен бактериальной транслокации условно-патогенных микроорганизмов из желудочно-кишечного тракта / А. В. Леванов // Антибиотики и химиотерапия. – 2001. – Т. 46, № 5. – С. 28–30.
95. Лечение вульвовагинитов и вагинозов: клиничко-лабораторная эффективность / В. Н. Прилепская, Е. А. Межевитинова, П. Р. Абакарова [и др.] // Гинекология. – 2013. – № 15 (4). – С. 4–9.
96. Лечение хронического эндометрита в прегравидарной подготовке женщин с невынашиванием беременности: пособие для врачей / В. И. Краснопольский, О. Ф. Серова, Л. И. Титченко [и др.]. – М., 2007. – 25 с.
97. Лещенко, О. Я. Распространенность заболеваний, существенно влияющих на репродуктивный потенциал населения Иркутской области / О. Я. Лещенко // Acta biomedica scientifica. – 2010. – № 6 (76), Ч. 2. – С. 121–125.
98. Лыкова, Е. А. Причины и значение микрoэкологичеcких нарушений пищеварительной системы / Е. А. Лыкова // Антибиотики и химиотерапия. – 1994. – Т. 39, № 7. – С. 57–60.
99. Манухин, И. Б. Комплексное лечение хронических эндометритов у женщин с привычным невынашиванием беременности / И. Б. Манухин, Т. П. Захарова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2001. – № 5. – С. 54–55.
100. Маянский, А. Н. Микробиология для врачей / А. Н. Маянский. – Н. Новгород : Изд-во НГМА, 1999. – 393 с.
101. Медицинская микробиология / Под ред. В. И. Покровского, О. К. Поздеева. – М. : ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1999. – 1200 с.
102. Междисциплинарный подход в лечении патологии слизистых оболочек у женщин // Газета «Новости медицины и фармации». – 2013. – № 1 (2). – С. 442–443.
103. Меззе, Х. Опыт применения бактериофага для лечения хронических эндометритов / Х. Меззе, М. М. Падруль, А. А. Олина // Проблемы перинатологии

и репродуктивное здоровье : Материалы 1-й Всероссийской научно-практической конференции. – Пермь, 2002. – С. 248–250.

104. Методики клинических лабораторных исследований : справочное пособие / Под ред. В. В. Меньшикова. – М. : Лабора, 2009. – Т. 3. – 880 с.

105. Методы статистической обработки медицинских данных : методические рекомендации для ординаторов, аспирантов медицинских учебных заведений, научных работников / А. Г. Кочетов, О. В. Лянг, В. П. Масенко [и др.]. – М. : РКНПК, 2012. – 42 с.

106. Микробиологические и иммунологические характеристики дисбиотических нарушений биотопов слизистых оболочек респираторного и урогенитального трактов / А. Е. Вершинин, Е. А. Воропаева, С. С. Афанасьев [и др.] // Вестник РАМН. – 2006. – № 1. – С. 3–5.

107. Микробиом человека и современные методы его оздоровления (обзор литературы) / Д. С. Янковский, В. П. Ширококов, А. П. Волосовец [и др.] // Журнал НАМН України. – 2013. – Т. 19, № 4. – С. 411–420.

108. Микробиоценоз влагалища у женщин с преждевременным излитием околоплодных вод при доношенном сроке / О. В. Сорокина, З. М. Мартикайнен, В. М. Болотских [и др.] // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. – 2012. – Т. 19, № 1. – С. 99–105.

109. Микробиоценоз ротоглотки и кишечника у детей, посещающих дошкольные учреждения / Л. В. Феклисова, Е. Р. Мескина, Е. А. Воропаева [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2007. – № 4. – С. 14–18.

110. Микробиоценоз слизистых оболочек ротоглотки у детей, больных ангиной / Л. В. Феклисова, С. П. Казакова, Л. А. Галкина [и др.] // Детские инфекции. – 2006. – № 2. – С. 27–31.

111. Микробный пейзаж полости рта у здоровых подростков и больных хроническим гастродуоденитом / О. А. Гаврилова, Ю. В. Червинец, В. М. Бондаренко [и др.] // Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунобиологии. – 2008. – № 6. – С. 59–63.

112. Микрофлора биотопа влагалища, ротоглотки и кишечника у женщин с угрозой прерывания беременности на ранних сроках / Е. А. Воропаев, В. А. Алешкин, С. С. Афанасьев [и др.] // Вестник РАМН. – 2008. – № 2. – С. 6–12.

113. Микрофлора нёбных миндалин при хроническом тонзиллите / И. П. Енин, В. А. Батулин, Е. В. Щетинин [и др.] // Вестник оториноларингологии. – 2013. – № 4. – С. 21–22.

114. Микрофлора организма больных при системных заболеваниях соединительной ткани / В. А. Романов, Н. П. Шилкина, М. Ю. Гульнева, Д. В. Иванов // Вестник РАМН. – 2008. – № 4. – С. 10–14.

115. Микрофлора резецированных клапанов пациентов с инфекционным эндокардитом / Н. И. Габриэлян, Е. М. Горская, Л. И. Арефьева [и др.] // Анналы хирургии. – 2012. – № 3. – С. 22–25.

116. Микрофлора ротоглотки при острых респираторных заболеваниях у детей / А. Ф. Неретина, Е. К. Сычева, Л. В. Ульянова, Г. С. Большева // Детские инфекции. – 2007. – № 1. – С. 22–24.

117. Микроэкологические сочетания вагинального и кишечного биотопов у женщин с воспалительными заболеваниями нижнего этажа полового тракта и девочек-подростков с дисфункцией яичников / С. М. Попкова, Е. Б. Ракова, Е. Е. Храмова, И. Н. Данусевич // Бюл. СО РАМН. – 2013. – № 33 (4). – С. 77–83.

118. Микроэкология влагалища и частота беременности после экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона / С. М. Белобородов, А. С. Анкирская, Б. В. Леонов [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2001. – № 3. – С. 29–33.

119. Микроэкология влагалища при дисбиозе / К. Р. Бондаренко, Г. Ф. Хасанова, Д. Р. Аглямова [и др.] // Мать и дитя: Материалы 9-го Всероссийского научного форума. – М., 2007. – С. 336–337.

120. Мироненко, Л. Г. Изучение желатиназной активности на генетическом и фенотипическом уровне у *Enterococcus*, выделенных из разных экотопов / Л. Г. Мироненко, Е. Г. Перетятко // Вісник проблем біології і медицини. – 2013. – Вып. 4, Т. 1 (104). – С. 239–242.

121. Миронова, А. В. Информативные показатели для диагностики и прогнозирования ФПН у женщин с урогенитальными инфекциями / А. В. Миронова, О. А. Коршукова // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 4. – С. 62–66.

122. Михалевич, И. М. Дискриминантный анализ в медико-биологических исследованиях (с применением пакета прикладных программ Statistica 6.1) : пособие для врачей / И. М. Михалевич, Т. Н. Юрьева. – Иркутск, 2015. – 44 с.

123. Морозова, С. В. Хронический тонзиллит: клиника, диагностика, лечение / С. В. Морозова // iDOCTOR. – 2013. – № 11 (12). – С. 42–45.

124. Мотавкина, Н. С. Биоценоз условно-патогенных бактерий и возбудителей урогенитальных инфекций передающихся половым путем, в генезе гуморальных иммунодефицитов / Н. С. Мотавкина, Е. Н. Бушуева // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2006. – № 3. – С. 40–42.

125. Мотовилова, Т. М. Альтернативный подход к лечению больных с хроническим неспецифическим эндометритом / Т. М. Мотовилова, Т. С. Качалина, Т. А. Аникина // РМЖ. Мать и дитя. – 2013. – № 14. – С. 751–756.

126. Мясоедова, С. С. Этиология и патогенез воспалительных заболеваний репродуктивного тракта женщин / С. С. Мясоедова, Л. А. Леванова, Н. М. Подонина // Медицина в Кузбассе. – 2011. – № 1. – С. 17–19.

127. Наумов, И. А. Воспалительные заболевания женских половых органов: организация медицинской помощи пациенткам в 1944–1994 годы (на примере Гродненской области) : монография / И. А. Наумов, Е. М. Тищенко. – Гродно : ГрГМУ, 2012. – 248 с.

128. Наумов, И. А. Воспалительные заболевания женских половых органов. Современные перинатальные технологии в укреплении репродуктивного здоровья пациенток : монография / И. А. Наумов. – 2011. – С. 18–21.

129. Неймарк, А. И. Хронический эндометрит как причина рецидивирующего цистита, осложненного синдромом тазовой боли, у женщин репродуктивного возраста / А. И. Неймарк, Н. В. Шелковникова // Акушерство и гинекология. – 2011. – № 4. – С. 100–103.

130. Нестерова, И. М. Иммунокорректирующая терапия инфекционно-воспалительных заболеваний женской половой сферы: практическое пособие для врачей / И. М. Нестерова, А. А. Тотолян. – СПб., 2007. – 56 с.

131. Нормальная микрофлора слизистой глотки / Л. В. Колотилова, Т. М. Акишина, О. П. Заргарян [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. – 1989. – Т. 34, № 10. – С. 751–755.

132. Олескин, А. В. Нейрохимия, симбиотическая микрофлора и питание (биополитический подход). Пробиотики, пребиотики и питание / А. В. Олескин // Гастроэнтерология. – СПб., 2009. – № 1. – С. 20–23.

133. Оппортунистические инфекции: возбудители и этиологическая диагностика. Руководство по медицинской микробиологии / Под ред. А. С. Лабинской, Н. Н. Костюковой. – М.: Изд-во БИНОМ, 2013. – Кн. III, Т. 1. – 752 с.

134. Определитель бактерий Берджи / Под ред. Г. А. Заварзина. – М.: Мир, 1997. – 1232 с.

135. Орлина, М. А. Изменения патогенного потенциала энтерококков при взаимодействии с микоплазмами в условиях ассоциативного симбиоза репродуктивного тракта женщин / М. А. Орлина, Н. И. Потатуркина-Нестерова, И. С. Немова // Естественные и технические науки. – 2011. – № 6 (56). – С. 105–107.

136. Орлова, В. С. Состояние и регуляция нормального микробиоценоза влагалища / В. С. Орлова, Ю. И. Набережнев // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. – 2011. – Т. 22 (117). – С. 15–21.

137. Осацкая, О. А. Состояние микробиоценоза пищеварительного тракта при бактериальном вагинозе / О. А. Осацкая, Н. В. Яговкина, С. А. Дворянский // Научные ведомости Белгородского государственного университета. – 2012. – № 18 (10). – С. 53–61.

138. Особенности микрофлоры дыхательных путей при различных респираторных заболеваниях / Г. Б. Ермолина, Е. В. Беляева, Г. К. Дегтева [и др.] // Нижегородский медицинский журнал. – 2004. – № 1. – С. 17–21.

139. Особенности перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у женщин с хроническим эндометритом и репродуктивными нарушениями / Л. И. Колесникова, И. Н. Данусевич, Н. А. Курашова [и др.] // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – № 9 (5). – С. 829–832.

140. Пальчун, В. Т. Оториноларингология: национальное руководство / В. Т. Пальчун. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 960 с.

141. Парфенов, А. И. Кишечный дисбактериоз / А. И. Парфенов // *Лечащий врач*. – 2001. – № 5 (6). – С. 20–25.

142. Парфенов, А. И. Микробная флора кишечника и дисбактериоз / А. И. Парфенов // *Русский медицинский журнал*. – 1998. – Т. 6, № 18. – С. 1170–1173.

143. Патологическая физиология / А. Д. Адо, М. А. Адо, В. И. Пыцкой [и др.]. – М. : Триада-Х, 2000. – 574 с.

144. Пашина, О. А. Генетическая характеристика вирулентного потенциала энтерококков, выделенных из разных биотопов тела человека, и модификация факторов персистенции *Candida albicans* под их влиянием / О. А. Пашина // *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН (электронный журнал)*. – 2015. – № 4. – С. 1–10.

145. Пестрикова, Т. Ю. Воспалительные заболевания в гинекологии : практическое руководство / Т. Ю. Пестрикова, И. В. Юрасов, Е. А. Юрасова. – М. : Литтерра, 2009. – 296 с.

146. Петров, Ю. А. Информативность гистероскопии в диагностике хронического эндометрита при ранних репродуктивных потерях / Ю. А. Петров // *Фундаментальные исследования*. – 2012. – № 1. – С. 85–88.

147. Плясунова, М. П. Хронический эндометрит как одна из актуальных проблем в современной гинекологии / М. П. Плясунова, С. В. Хлыбова // *Вятский медицинский вестник*. – 2013. – № 1. – С. 44–53.

148. Побединская, О. С. Хронический эндометрит в генезе невынашивания беременности : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.01 / Побединская Олеся Сергеевна. – М., 2011. – 26 с.

149. Подзолкова, Н. М. Обоснование выбора метода прерывания нежелательной беременности у пациенток группы высокого риска послеабортных воспалительных осложнений / Н. М. Подзолкова, Т. И. Никитина // Проблемы репродукции. – 2006. – № 2. – 163 с.

150. Покровский, В. И. Человек и микроорганизмы. Здоровье и болезнь / В. И. Покровский // Вестник РАМН. – 2000. – № 11. – С. 3–6.

151. Попова, Н. В. Результаты активного выявления генитального туберкулеза при женском бесплодии / Н. В. Попова, О. Я. Лещенко, Л. В. Сутурина // Acta biomedica scientifica. – 2012. – № 3 (85), Ч. 1.– С. 104–106.

152. Попова, Т. В. Клинико-иммунологические аспекты хронического эндометрита : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01, 14.00.36 / Попова Татьяна Валерьевна. – М., 1990. – 24 с.

153. Принципы выбора антибиотика для лечения гнойно-септических заболеваний в оперативной гинекологии / С. Н. Буянова, Н. А. Щукина, В. В. Омеляновский [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2001. – № 3. – С. 6–9.

154. Различия по набору генов патогенности производственных и выделенных от больных штаммов энтерококков / В. М. Бондаренко, А. Н. Суворов, А. Е. Вершинин [и др.] // Биопрепараты. Профилактика. Диагностика. Лечение. – 2008. – № 4 (32). – С. 3–6.

155. Разумова, С. Н. Микробиоценоз полости рта у пациентов различных возрастных групп / С. Н. Разумова, А. Ф. Мороз, С. Н. Шатохина // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2008. – № 3. – С. 74–76.

156. Рахматулина, М. Р. Современные представления о микробиоценозе вагинального биотопа и его нарушениях у женщин репродуктивного возраста / М. Р. Рахматулина, А. Ю. Шаталова // Вестник дерматовенерологии. – 2009. – № 3. – С. 38–42.

157. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных / О. Ю. Реброва // Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – 2003. – 305 с.

158. Резистентность грамотрицательных возбудителей инфекций мочевыводящих путей к антибактериальным препаратам у амбулаторных пациенток в России / Л. С. Страчунский, С. В. Сехин, Э. Р. Абрарова [и др.] // Терапевтический архив. – 2000. – № 6. – С. 30–35.

159. Роговская, С. И. Оптимизация лечения хронических цервицитов с помощью изопринозина / С. И. Роговская, В. Н. Прилепская // Акушерство и гинекология. – 2006. – Т. 8, № 1. – С. 47.

160. Роль факторов патогенности *Enterococcus faecalis* в развитии пиелонефрита у детей / Е. А. Зайцева, Е. В. Крукович, Е. А. Мельникова [и др.] // ТМЖ. – 2017. – № 2. – С. 58–61.

161. Роль факторов персистенции и вирулентности при микрoэкологических изменениях в организме человека / Б. Я. Усвятцов, Л. М. Хуснутдинова, Л. И. Паршута [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2006. – № 4. – С. 58–61.

162. Рудакова, Е. Б. Инфекционная патология нижнего отдела половых путей женщины и бесплодие / Е. Б. Рудакова, С. И. Семченко // Гинекология. – 2004. – Т. 6, № 3. – С. 132–135.

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

164. Савочкина, А. Ю. Иммунологические показатели в диагностике хронического цервицита и при сочетании его с эндометритом : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.36 / А. Ю. Савочкина. – Челябинск, 2006. – 18 с.

165. Савченко, Т. Н. Микробиологические аспекты и факторы противомикробной защиты в генезе невынашивания беременности в 1 триместре : автореф. дис. ... докт. мед. наук : 14.00.01 / Савченко Татьяна Николаевна. – М., 2008. – 46 с.

166. Салтанова, Ж. Е. Хронический тонзиллит и его бактериальные возбудители / Ж. Е. Салтанова // Кремлевская медицина. Клинический вестник. – 2013. – № 2. – С. 206–221.

167. Серов, В. Н. Тайны биоценоза: дисбиоз влагалища и вагинальные инфекции / В. Н. Серов // *Vita vita*. – 2003. – № 6. – С. 10–11.

168. Сидельникова, В. М. Невынашивание беременности / В. М. Сидельникова, Г. Т. Сухих. – М. : МИА, 2011. – С. 300.

169. Сидельникова, В. М. Привычное невынашивание и персистирующая вирусная инфекция (подготовка к беременности и ведение беременных) / В. М. Сидельникова // *Российский медицинский журнал*. – 1999. – № 4. – С. 3–8.

170. Сидоренко, С. В. Инфекционный процесс как «диалог» между хозяином и паразитом / С. В. Сидоренко // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. – 2001. – № 3 (4). – С. 301–315.

171. Сидорова, И. С. Микрофлора половых путей у женщин репродуктивного возраста / И. С. Сидорова. – М. : Практическая медицина, 2007. – 80 с.

172. Сидорова, И. С. Патогенез и патогенетически обоснованная терапия хронического эндометрита / И. С. Сидорова, И. О. Макаров, А. Л. Унанян // *Акушерство, гинекология и репродукция*. – 2010. – № 3. – С. 21–24.

173. Симбиоз и его роль в инфекции / О. В. Бухарин, Е. С. Лобакова, Н. Б. Перунова [и др.]. – Екатеринбург : УрО РАН, 2011. – 300 с.

174. Синчихина, С. П. Современные аспекты бактериального вагиноза / С. П. Синчихина, О. Г. Черникина, О. Б. Мамиев // *Акушерство и гинекология*. – 2013. – № 8. – С. 19–24.

175. Соболева, Ю. В. Таксономическое разнообразие микробных биоценозов носа и миндалин здоровых лиц и больных хроническим тонзиллитом / Ю. В. Соболева, С. Б. Фадеев // *Бюллетень Оренбургского научного центра УРО РАН*. – 2013. – № 1. – 9 с.

176. Современные возможности этиологической диагностики хронического эндометрита / Н. А. Гомболевская, В. В. Муравьева, Л. А. Марченко [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2012. – № 8/1. – С. 40–45.

177. Состояние иммунной системы у женщин с бесплодием различного генеза / Д. Ф. Курбанова, Л. Э. Гусейнова, У. К. Асланова [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2012. – Т. 11, № 4. – С. 37–40.

178. Состояние эндометрия при низкочастотной импульсной электротерапии у больных хроническим эндометритом / Е. С. Силантьева, Г. Н. Пономаренко, Е. А. Коган [и др.] // Физиотерапия, бальнеология, реабилитация. – 2007. – № 2. – С. 38–41.

179. Сравнительная характеристика микрофлоры полости матки и небных миндалин у пациенток с персистирующим эндометритом / Т. М. Мотовилова, Г. О. Гречканев, Т. С. Качалина [и др.] // Медицинский альманах. – 2015. – № 4 (39). – С. 105–107.

180. Стрижаков, А. Н. Потеря беременности / А. Н. Стрижаков, И. В. Игнатко. – М. : Медицинское информационное агентство, 2007. – 224 с.

181. Суворов, А. Н. Пробиотики или патогены? Критерии выбора и оценка клинического штамма / А. Н. Суворов, К. Б. Грабовская, Е. И. Воробьева, Г. Г. Алехина // Гастроэнтерология. – 2002. – № 4. – С. 36–38.

182. Сухих, Г. Т. Хронический эндометрит : руководство / Г. Т. Сухих, А. В. Шуршалина. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 64 с.

183. Сытник, С. И. Заселение тонкой и толстой кишок детей раннего возраста стафилококками в условиях стационара / С. И. Сытник // Кишечные инфекции. – Киев, 1989. – Вып. 2. – С. 97–101.

184. Сычева, М. В. Дифференциация клинически значимых штаммов энтерококков от представителей нормальной микрофлоры животных с использованием математических моделей / М. В. Сычева // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2016. – № 1 (57). – С. 56–58.

185. Тапильская, Н. И. Хронический эндометрит – субклиническое воспалительное заболевание органов малого таза / Н. И. Тапильская, С. А. Карпеев, И. В. Кузнецова // Гинекология. – 2014. – Т. 16, № 1. – С. 104–109.

186. Тец, В. В. Микробные биопленки и проблемы антибиотикотерапии / В. В. Тец, Г. В. Тец // Школа по микробиологии. Пульмонология и аллергология. – 2013. – № 4. – С. 60–64.

187. Тихомиров, А. Л. Современное лечение воспалительных заболеваний органов малого таза у женщин с использованием офлоксацина / А. Л. Тихомиров // Гинекология. – 2000. – № 6. – С. 196–201.

188. Торубаров, С. Ф. Медико-социальная характеристика и прогнозирование репродуктивного здоровья молодых женщин на современном этапе / С. Ф. Торубаров // Социальные аспекты здоровья населения. – 2013. – № 5 (33). – С. 7.

189. Третьяков, Е. В. Современный взгляд на кишечную транслокацию бактерий и как основную причину гнойно-септических осложнений при деструктивном панкреатите / Е. В. Третьяков, М. В. Варганов, Е. Е. Нифонтова // Успехи современного естествознания. – 2013. – № 9. – С. 78–80.

190. Туровский, А. Б. Хронический тонзиллит – современные представления / А. Б. Туровский, И. Г. Колбанова // Оториноларингология. – 2009. – № 5 (49). – С. 16–21.

191. Уварова, Е. В. Влагалище как микрэкосистема в норме и при воспалительных процессах гениталий различной этиологии / Е. В. Уварова, Ф. Ш. Султанова // Гинекология. – 2002. – Т. 4, № 4. – С. 189–195

192. Урогенитальные инфекции, обусловленные условно-патогенной биотой, у женщин репродуктивного возраста (клинико-лабораторная диагностика): учебное пособие для врачей / Е. В. Липова, М. Н. Болдырева, Д. Ю. Трофимов [и др.]. – М., 2010. – 30 с.

193. Усвяцов, Б. Я. Характеристика микробного биоценоза слизистой оболочки носа у здоровых людей и стафилококковых бактерионосителей / Б. Я. Усвяцов, Л. И. Паршута, О. В. Бухарин // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2000. – № 5. – С. 65–69.

194. Факторы хронизации воспалительного процесса у больных хроническим пиелонефритом / С. Д. Искандерова, Т. А. Кулдашев,

С. А. Балтабаев [и др.] // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2012. – № 5. – С. 253–256.

195. Характеристика вирулентного потенциала клинических изолятов энтерококков / О. В. Бухарин, И. В. Вальшева, О. Л. Карташова [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2013. – № 3. – С. 13–18.

196. Характеристика желатиназной активности энтерококков на фенотипическом и генетическом уровне / И. В. Вальшева, Л. П. Потехина, Д. В. Пошвина [и др.] // Материалы 2-й научно-практической школы-семинара молодых ученых. – Тольятти, 2012. – С. 197–202.

197. Характеристика микроорганизмов, колонизирующих кишечник человека / Б. А. Ефимов, Н. И. Володин, Л. И. Кафарская, В. М. Коршунов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2002. – № 5. – С. 98–104.

198. Хелашвили, И. Г. Хронический эндометрит: клинко-морфлогическая характеристика и особенности рецептивности эндометрия : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.01 / Хелашвили Ирина Гильмеяровна. – Челябинск, 2014. – 24 с.

199. Хмельницкий, О. К. Патоморфологическая диагностика гинекологических заболеваний : руководство / О. К. Хмельницкий. – СПб. : СОТИС, 1994. – 479 с.

200. Хронический тонзиллит. Клиника и иммунологические аспекты / М. С. Плужников, Г. В. Лавренова, М. Я. Левин [и др.]. – СПб. : Диалог, 2010. – 224 с.

201. Хронический цервицит и хронический эндометрит: общие аспекты патогенеза и патогенетической терапии / А.Л. Унанян, И. С. Сидорова, С. Э. Аракелова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2013. – № 4. – С. 88–95.

202. Хронический эндометрит в практике акушера-гинеколога / Л. И. Мальцева, Г. Р. Смолина, Р. И. Шарипова [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2015. – № 5. – С. 102–105.

203. Хуснутдинова, Л. М. Количественный и качественный состав биотопа тела человека / Л. М. Хуснутдинова, Г. Ж. Мамбетова // Успехи современного естествознания. – 2007. – № 7. – С. 66–72.

204. Царькова, М. А. Применение иммуномодуляторов в комплексной терапии воспалительных заболеваний органов малого таза / М. А. Царькова // *Consilium medicum*. – М. : Медиа Медика. – 2011. – Т. 13, № 6. – С. 49–54.

205. Чайка, А. В. Характеристика микробного пейзажа влагалища у девочек препубертатного возраста в норме и при вагинальном дисбиозе / А. В. Чайка, А. В. Рутинская // *Таврический медико-биологический вестник*. – 2012. – Т. 15, № 2 (58). – С. 204–207.

206. Черезова, Ю. М. Нарушение биоценоза влагалища у беременных женщин / Ю. М. Черезова // *Фундаментальные исследования*. – 2012. – Т. 2. – С. 156–158.

207. Черкасов, С. В. Бактериальные механизмы колонизационной резистентности репродуктивного тракта женщин / С. В. Черкасов // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2006. – № 4. – С. 100–105.

208. Черкасов, С. В. Симбиотические взаимодействия вагинальных коринебактерий и лактобацилл в реализации окислительных механизмов антагонизма / С. В. Черкасов, И. В. Гладышева, О. В. Бухарин // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2012. – № 6. – С. 13–16.

209. Чертков, К. Л. Характеристика биологических свойств энтерококков, выделенных из различных экотопов : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 14.00.01 / Чертков Константин Леонидович. – М., 2001. – 19 с.

210. Чижмотря, Н. М. Особенности иммунитета у лиц с хроническими воспалительными заболеваниями носа и околоносовых пазух, проживающих в экологически неблагоприятных районах / Н. М. Чижмотря, О. А. Коленчукова, О. В. Парилова // *Медицинская иммунология*. – 2007. – Т. 9, № 2 (3). – С. 315–316.

211. 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. – № 4. – С. 65–75.

212. Шендеров, Б. А. Роль анаэробных неспорообразующих бактерий в поддержании здоровья человека / Б. А. Шендеров // Вестник РАМН. – 1996. – № 2. – С. 8–11.

213. Ширококов, В.П. Микробная экологическая система человека: современная концепция / В. П. Ширококов, Д. С. Янковский, Г. С. Демент // Зб. праць науково-практичної конференції «Мікробна екологія людини. Сучасні стратегії використання пробіотиків». – Киев, 2011. – С. 2–15.

214. Шуршалина, А. В. Хронический эндометрит у женщин с патологией репродуктивной функции : автореф. дис. ... д-ра мед.наук : 14.00.01 / Шуршалина Анна Владимировна. – М., 2007. – 38 с.

215. Энтерококковое носительство и антибиотикорезистентность в отделении выхаживания недоношенных новорожденных / А. В. Дехнич, О. И. Кречикова, Л. И. Туркова, Л. С. Страчунский // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2001. – № 1. – С. 28–38.

216. Юрасов, И. В. Клинические проявления и дифференциальная диагностика воспалительных заболеваний органов малого таза / И. В. Юрасов, Т. Ю. Пестрикова, Е. А. Юрасова // Дальневосточный медицинский журнал. – 2013. – № 4. – С. 92–95.

217. Янковский, Д. С. Место дисбиоза в патологии человека / Д. С. Янковский, Р. А. Моисеенко, Г. С. Дымент // Современная педиатрия. – 2010. – № 1 (29) – С. 154–167.

218. Янковский, Д. С. Микрофлора и здоровье человека / Д. С. Янковский, Г. С. Дымент. – Киев : ТОВ «Червона Рута-Турс», 2008. – 552 с.

219. Янковский, Д. С. Состав и функции микробиоценозов различных биотопов человека // Пробиотики в современной медицине. Здоровье женщины. – 2003. – № 4 (16). – С. 145–158.

220. A novel conjugative plasmid from *Enterococcus faecalis* E99 enhances resistance to ultraviolet radiation / P. S. Coburn, A. S. Baghdayan, N. Craig [et al.] // Plasmid. – 2010. – Vol. 64, N 1. – P. 18–25.

221. Akira, S. Pathogen recognition and innate immunity / S. Akira, S. Uematsu, O. Takeuchi // Cell. – 2006. – N 124. – P. 783–801.

222. Animal model of focal tonsillar infection: human tonsillar lymphocytes induce skin lesion in SCID mice / Y. Hayashi, M. Kunimoto, K. Kuki, N. Yamanaka // Acta Otolaryngol. – 1996. – Vol. 523. – P. 193–196.

223. Antimutagenicity of propionic acid bacteria / L. I. Vorobjova, T. A. Cherdinceva, S. K. Abilev, N. V. Vorobjeva // Mutat. Res. – 1991. – Vol. 251. – P. 233–239.

224. Aocetal, S. Effect of intestinal microflora of the absorption of soluble calcium in milk / S. Aocetal, H. Matsuyama // J. Germfree Life Gnotobiol. – 1994. – Vol. 24, N 1. – P. 1123–1128.

225. Association of asymptomatic bacterial vaginosis with endometrial microbial colonization and plasma cell endometritis in nonpregnant women / W. W. Andrews, J. C. Hauth, S. P. Cliver [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2006. – Vol. 195. – P. 1611–1616.

226. Bengmark, S. Gut microbiota, immune development and function / S. Bengmark // Pharmacol. Res. – 2013. – Vol. 69, N 1. – P. 87–113.

227. Bessmertnaia, V. S. Endometrial morphological and immunohistochemical features in females with primary and secondary infertility / V. S. Bessmertnaia // Arch. Patol. – 2008. – Vol. 70, N 4. – P. 31–34.

228. Billström, H. The virulence and antimicrobial resistance in clinical *Enterococcus faecium* / H. Billström // Int. J. Antimicrob. Agents. – 2008. – Vol. 32 (5). – P. 374–377.

229. Buckley, C. H. Biopsy pathology of the endometrium / C. H. Buckley, H. Fox. – 2002. – 120 p.

230. Chen, H. Bacteriocins and their food applications / H. Chen // Comp. Rev. Food Sci., Food Safety. – 2013. – Vol. 2, N 3. – P. 82–100.

231. Coburn, P. S. The *Enterococcus faecalis* cytolysin: a novel toxin active against eukaryotic and prokaryotic cells / P. S. Coburn, M. S. Gilmore // Cell. Microbiol. – 2003. – № 5 (10). – P. 661–669.

232. De novo synthesis of estrogen in pregnant uterus is critical for stromal decidualization and angiogenesis / D. Amrita, M. S. Raju, K. Athilakshmi [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2009. – Vol. 106, N 30. – P. 12542–12547.

233. Development of a multiplex PCR for the detection of *asa1*, *gelE*, *cylA*, *esp*, and *hyl* genes in enterococci and survey for virulence determinants among European hospital isolates of *Enterococcus faecium* / V. Vankerckhoven, T. van Autgaerden, C. Vael [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2004. – N 42 (10). – P. 4473–4479.

234. Diversity of the *fsr-gelE* Region of the *Enterococcus faecalis* Genome but conservation in strains with partial deletions of the *fsr* operon / R. J. Galloway-Peca, A. Bourgogne, X. Qin [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. – 2011. – Vol. 77, N 2. – P. 442–451.

235. Edmond, M. B. Multidrug-resistant enterococci and the threat of vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* / M. B. Edmond, R. P. Wenzel // Prevention and Control of Nosocomial Infections. – 2007. – P. 339–441.

236. Elevated vaginal pH and neutrophils are associated strongly with early spontaneous preterm birth / H. N. Simhan, S. N. Caritis, M. A. Krohn [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2003. – Vol. 189. – P. 1150–1154.

237. Endometrial microbial colonization and plasma cell endometritis after spontaneous or indicated preterm versus term delivery / W. W. Andrews, R. L. Goldenberg, J. C. Hauth [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2005. – Vol. 193. – P. 739–745.

238. Endometritis: the clinical-pathologic syndrome / L. O. Eckert, S. E. Hawes, P. K. Wolner-Hanssen [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2002. – Vol. 186. – P. 690–695.

239. Fetal immunological and haematological changes in intrauterine infection / S. K. Tyring, B. Thilaganathan, S. G. Carroll [et al.] // Br. J. Obstet. Gynecol. – 1994. – Vol. 101. – P. 418–421.

240. *Fusobacterium nucleatum*, origines cliniques et identification / B. Chanzy, G. Miscopein, A. Bouchet [et al.] // Med. Mal. Infect. – 1990. – Vol. 20. – P. 97–99.

241. Genital mycoplasmas in preterm infants: prevalence and clinical significance / S. Izraeli, Z. Samra, L. Sirota [et al.] // Eur. J. Pediatr. – 1991. – Vol. 150. – P. 804–807.

242. Georgijevic, A. Bacterial vaginosis. Epidemiology and risk factors / A. Georgijevic, S. Cjukic-Ivancevic, M. Bujko // Srp. Arh. Ceiok. Lek. – 2000. – Vol. 128, N 1–2. – P. 29–33.

243. Germain, A. M. Preterm labor: placental pathology and clinical correlation / A. M. Germain, J. Carvajal, M. Sanchez // Obstet. Gynecol. – 1999. – Vol. 94, N 2. – P. 284–293.

244. Giridhara, P. M. Comparative study for the presence of enterococcal virulence factors gelatinase, hemolysin and biofilm among clinical and commensal isolates of *Enterococcus faecalis* / P. M. Giridhara B. L. Umapathy, K. L. Ravikumar // J. Lab. Physicians. – 2010. – № 2 (2). – P. 100–104.

245. Glasser, S. R. The endometrium / S. R. Glasser, J. D. Aplin. – 2002. – 675 p.

246. Haggerty, C. L. Epidemiology, pathogenesis and treatment of pelvic inflammatory disease / C. L. Haggerty, R. B. Ness // Expert Rev. Anti Infect. Ther. – 2006. – Vol. 4. – P. 235–247.

247. Hentges, D. J. Human intestinal microflora in health and disease. – New York : Academic Press, 1983. – 568 p.

248. Hynes, W. L. Hyaluronidases of gram-positive bacteria / W. L. Hynes, S. L. Walton // FEMS Microbiol. Lett. – 2000. – Vol. 183. – C. 201–207.

249. Immunohistochemical characterization of leukocytic subpopulations in chronic endometritis / O. Tawfik, S. Venuti, S. Brown [et al.] // Infect. Dis. Obstet. Gynecol. – 1996. – N 4. – P. 282–287.

250. In vitro conjugative transfer of VanA vancomycin resistance between enterococci and listeriae of different species / F. Biavasco, E. Giovanetti, A. Miele [et al.] // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 1996. – Vol. 15, N 1. – P. 50–59.

251. In vitro susceptibility studies of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* / D. F. Sahm, J. Kissinger, M. S. Gilmore [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 1989. – Vol. 33. – P. 1588–1591.

252. Isolation and biochemical characterization of enterocins produced by enterococci from different sources / M. R. F. Moreno, R. Callewaeri, B. Devreese [et al.] // J. Appl. Microbiol. – 2003. – Vol. 94. – P. 214–220.

253. Kannar, V. Evaluation of the endometrium for chronic endometritis using syndecan-1 in abnormal uterine bleeding / V. Kannar, H. K. M. Lingaiah, V. Sunita // J. Lab. Phys. – 2012. – Vol. 4, N 2. – P. 69–73.

254. Klein, G. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract / G. Klein // Int. J. Food Microbiol. – 2005. – Vol. 88. – P. 123–131.

255. Madianos, P. N. Adverse pregnancy outcomes (APOs) and periodontal disease: pathogenic mechanisms / P. N. Madianos, Y. A. Bobetsis, S. J. Offenbacher // Periodontol. – 2013. – Vol. 84 (4). – P. 170–180.

256. Manson, J. M. Mechanism of chromosomal transfer of *Enterococcus faecalis* pathogenicity island, capsule, antimicrobial resistance, and other traits / J. M. Manson, L. E. Hancock, M. S. Gilmore // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2010. – Vol. 107 (27). – P. 12269–12274.

257. Mertens, H. J. M. M. Androgen, estrogen and progesterone receptor expression in the human uterus during menstrual cycle / H. J. M. M. Mertens, M. J. Heineman, P. H. Theunissen // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2001. – Vol. 98. – P. 58–65.

258. Microbiota and the gut-liver axis: bacterial translocation, inflammation and infection in cirrhosis / V. Giannelli, V. Di Gregorio, V. Iebba [et al.] // World J. Gastroenterol. – 2014. – Vol. 20 (45). – P. 16795–16810.

259. Mohamed, J. A. Biofilm formation by enterococci / J. A. Mohamed, D. B. Huang // J. Med. Microbiol. – 2007. – Vol. 56. – C. 1581.

260. Moses, M. A. The regulation of neovascularization of matrix metalloproteinases and their inhibitors / M. A. Moses // *Stem Cells*. – 1997. – Vol. 15. – P. 180–189.

261. Mundy, L. M. Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance / L. M. Mundy, D. F. Sahm, M. Gilmore // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2000. – Vol. 13, N 4. – P. 513–522.

262. Murray, B. E. The life and times of the *Enterococcus* / B. E. Murray // *Clin. Microbiol.* – 1990. – Vol. 3. – C. 46–65.

263. Nataboff, K. M. Imaging the endometrium disease and normal variants / K. M. Nataboff, J. S. Pellirito, E. Ben-Levi // *Radiographic*. – 2001. – Vol. 21. – P. 1409–1424.

264. Noble, W. G. Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus* / W. G. Noble, Z. Virani, R. G. A. Cree // *FEMS Microbiol. Lett.* – 1992. – Vol. 72, N 2. – P. 195–198.

265. Plasmid-associated hemolysin and aggregation substance production contribute to virulence in experimental enterococcal endocarditis / J. W. Chow, L. A. Thal, M. B. Perri [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 1993. – Vol. 37. – P. 2474–2477.

266. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy / E. Cicinelli, M. Matteo, R. Tinelli [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2015. – Vol. 30, N 2. – P. 323–330.

267. Productive infection of human endometrial stromal cells by human cytomegalovirus / T. F. Kowalik, A. D. Yurochko, C. A. Rinehart [et al.] // *Virology*. – 1994. – Vol. 202, N 1. – P. 247–257.

268. Prophylactic and therapeutic efficacy of antibodies to a capsular polysaccharide shared among vancomycin sensitive and resistant enterococci / J. Huebner, A. Quaas, W. A. Krueger [et al.] // *Infect. Immun.* – 2000. – Vol. 68. – P. 4631–4636.

269. Risk factors for vancomycin-resistant enterococci colonization in critically ill patients / D. W. Batistao, P. P. Gontijo-Filho, N. Conceicao [et al.] // *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. – 2012. – Vol. 107 (1). – P. 57–63.

270. Role of intestinal microbiota in the development and severity of chemotherapy-induced mucositis / J. V. Michel, H. J. M. Harmsen, S. J. M. Eveline de Bont [et al.] // PLoS Pathogens. – 2010. – Vol. 6, N 5. – P. 1–7.

271. Sauro, J. Estimating completion rates from small samples using binomial confidence intervals: comparisons and recommendations / J. Sauro, J. R. Lewis // Proceedings of the Human Factors and Ergonomics Society Annual Meeting. – 2005. – Vol. 49 (24). – P. 2100–2103.

272. Shankar, N. Modulation of virulence within a pathogenicity island in Vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* / N. Shankar, A. S. Baghdayan, M. S. Gilmore // Nature. – 2002. – Vol. 417. – P. 746–750.

273. Sharkey, A. M. The endometrium as a cause of implantation failure / A. M. Sharkey, S. K. Smith // Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynecol. – 2003. – Vol. 17, N 2. – P. 289–307.

274. Sharpe, M. E. Serological types of *Streptococcus faecalis* and its varieties and their cell wall type antigen / M. E. Sharpe // J. Gen. Microbiol. – 1964. – Vol. 36. – P. 151–160.

275. Sommer, F. The gut microbiota – masters of host development and physiology / F. Sommer, F. Bäckhed // Nat. Rev. Microbiol. – 2013. – Vol. 11, N 4. – P. 227–238.

276. Strzelecki, Y. Gelatinase-associated phenotypes and genotypes among clinical isolates of *Enterococcus faecalis* in Poland / Y. Strzelecki, W. Hryniewicz, E. Sadowy // Polish J. Microbiol. – 2011. – Vol. 60, N 4. – P. 287–292.

277. Sweet, R. L. Pelvic inflammatory disease / R. L. Sweet, H. S. Weisenfeld. – London : Taylor & Francis, 2006. – 173 p.

278. Sweet, R. L. Treatment strategies for pelvic inflammatory disease / R. L. Sweet // Exp. Opin. Pharmacother. – 2009. – Vol. 10 (5). – C. 823–837.

279. Taylor, M. Enterocolitis caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* / M. Taylor, F. Ajavi, M. Almond // Lancet. – 1993. – Vol. 342. – P. 804.

280. Teixeira, N. The incongruent gelatinase genotype and phenotype in *Enterococcus faecalis* are due to shutting off the ability to respond to the gelatinase

biosynthesis-activating pheromone (GBAP) quorum-sensing signal / N. Teixeira, S. Santos, P. Hancock // *Microbiology*. – 2012. – N 158. – P. 519–528.

281. Tendulkar, P. M. Pathogenic enterococci: new developments in the 21st century / P. M. Tendulkar, A. S. Baghdayan, N. Shankar // *Cell Mole Life Sci*. – 2003. – Vol. 60. – P. 2622–2636.

282. Ternak, G. Antibiotics in the environment: the possible inadvertent effect on human morbidity and mortality / G. Ternak // *Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them: Science, Technology and Education*. – 2013. – Vol. 3. – C. 1455–1460.

283. The gut microbiota regulates bone mass in mice / K. Sjögren, C. Engdahl, P. Hennig [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* – 2012. – Vol. 27, N 6. – P. 1357–1367.

284. The human microbiota in health and disease / B. Wang, M. Yao, L. Lv [et al.] // *Engineering*. – 2017. – Vol. 3 (1). – P. 71–82.

285. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing / L. Dethlefsen, S. Huse, M. L. Sogin, D. A. Relman // *PloS Biol.* – 2008. – N 6. – 280 c.

286. Trombospodin-1 an inhibitor of angiogenesis is regulated by progesterone in human endometrium / P. Bornstein, M. Iruela-Arispe, P. Poster, E. H. Sage // *J. Clin. Invest.* – 1996. – Vol. 97. – P. 403–412.

287. Tying, S. K. Fetal immunological and haematological changes in intrauterine infection / S. K. Tying, B. Thilaganathan, S. G. Carroll // *Br. J. Obstet. Gynecol.* – 1994. – Vol. 101. – P. 418–421.

288. Ubeda, C. Antibiotics, microbiota and immune defense / C. Ubeda, E. G. Pamer // *Trends Immunol.* – 2012. – N 33. – P. 459–466.

289. Vaginal microbiome of reproductive-age women / J. Ravel, P. Gajer, Z. Abdo [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2011. – Vol. 108 (Suppl. 1). – P. 4680–4687.

290. Vaginal microbiota of healthy pregnant Mexican women is constituted by four *Lactobacillus* species and several vaginosis-associated bacteria [Электронный ресурс] / C. Hernandez-Rodriguez, R. Romero-Gonzalez, M. Albani-Campanario

[et al.] // *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*. – Режим доступа : <http://dx.doi.org/10.1155/2011/851485> (дата обращения : 10.09.2014).

291. Wiedemann, I. The mode of action of the antibiotic lacticin 3147 – a complex mechanism involving specific interaction of two peptides and the cell wall precursor lipid II / I. Wiedemann, T. Bottiger, R. Bonelli // *Mol. Microbiol.* – 2006. – N 61 (2). – P. 285–297.