

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ И ПЕРИНАТОЛОГИИ ИМЕНИ  
АКАДЕМИКА В.В.КУЛАКОВА» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

**Кебурия Лела Капитоновна**

**ВЛИЯНИЕ МИКРОБИОТЫ МАТКИ НА ИСХОДЫ  
ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ**

3.1.4 - акушерство и гинекология

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук, доцент

**Смольникова В.Ю.**

доктор медицинских наук

**Припутневич Т.В.**

**Москва, 2021**

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. Микробиота эндометрия и различных биотопов у женщин репродуктивного возраста (обзор литературы).....	12
1.1 Микробиота кишечника.....	13
1.2 Микробиота ротовой полости.....	16
1.3 Микробиота влагалища.....	17
1.4 Особенности микробиоценоза полости матки.....	21
1.5 Способы восстановления дисбиоза полости матки.....	31
ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования.....	40
2.1 Материалы исследования.....	40
2.2 Методы исследования.....	41
2.2.1 Общеклинические методы исследования.....	42
2.2.2 Клинико – анамнестический анализ.....	43
2.2.3 Ультразвуковое исследование малого таза.....	44
2.2.4 Специальные методы исследования.....	44
2.3 Этапы проведения программы ЭКО.....	46
2.4 Статистическая обработка результатов исследования.....	48
ГЛАВА 3. Клиническая характеристика групп обследованных пациенток....	49
3.1 Возраст пациенток, включенных в исследование.....	49
3.2 Характер менструальной функции.....	49
3.3 Данные акушерско-гинекологического анамнеза пациенток, включенных в исследование.....	50
3.3.1 Перенесенные оперативные вмешательства на органах малого таза у женщин, включенных в исследование.....	52
3.3.2 Сопутствующая гинекологическая патология.....	54
3.3.3 Сравнительный анализ количества попыток ЭКО у женщин, включенных в исследование.....	54

3.3.4 Оценка функционального состояния гипоталамо–гипофизарно– яичниковой системы.....	55
3.3.5 Сравнительный анализ ведущих причин бесплодия у женщин, включенных в исследование.....	56
3.3.6 Характеристика циклов ЭКО у женщин, включенных в исследование.....	57
ГЛАВА 4. Результаты исследования.....	60
4.1 Результаты культурального исследования микробиоты цервикального канала.....	60
4.1.1 Микробиота цервикального канала у пациенток с I попыткой ЭКО и ПЭ в цикле овариальной стимуляции (I группа).....	60
4.1.2 Микробиота цервикального канала у женщин с повторными неудачами имплантации и ПЭ в цикле овариальной стимуляции (II группа).....	65
4.1.3 Микробиота цервикального канала у женщин с повторными неудачами имплантации и ПЭ в криоцикле (III группа).....	69
4.1.4 Сравнение микробиоты цервикального канала среди групп женщин, включенных в исследование.....	74
4.2 Результаты культурального исследования микробиоты полости матки у женщин, включенных в исследование.....	78
4.2.1 Микробиота полости матки у женщин с I попыткой ЭКО и ПЭ в цикле овариальной стимуляции (I группа).....	78
4.2.2 Микробиота полости матки у женщин с повторными неудачами имплантации и ПЭ в цикле овариальной стимуляции (II группа).....	81
4.2.3 Микробиота полости матки у женщин с повторными неудачами имплантации в анамнезе и ПЭ в криоцикле (III группа).....	84
4.2.4 Сравнение состава микробиоты полости матки у женщин, включенных в исследование.....	87
4.3 Результаты метагемного исследования полости матки.....	91
4.4 Сравнительный анализ состава микробиоты полости матки и цервикального канала у женщин, включенных в исследование.....	98

4.5 Сравнительный анализ состава микробиоты полости матки в циклах овариальной стимуляции и в криоциклах, у женщин включенных в исследование.....	100
4.6 Репродуктивные исходы у женщин, включенных в исследование.....	102
4.6.1 Анализ результатов репродуктивных исходов в зависимости от клинико-анамнестических данных у женщин, включенных в исследование .....	104
4.6.2 Анализ репродуктивных исходов в зависимости от проводимой терапии у женщин, включенных в исследование .....	107
ОБСУЖДЕНИЕ.....	113
ВЫВОДЫ.....	127
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	129
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	130
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	132
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	145

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность проблемы

В настоящее время проблема бесплодия является одной из самых актуальных и приоритетных в медицине развитых стран, учитывая неблагоприятные демографические показатели народонаселения. По статистике Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) с проблемой зачатия сталкиваются не менее 15% супружеских пар репродуктивного возраста [93].

По данным отчета Российской ассоциации репродукции человека (РАРЧ) за 2017 год в программах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ) частота наступления беременности из расчёта на перенос эмбриона в полость матки составила 38,4% и не имеет выраженной тенденции к росту [39].

Одной из причин неэффективности ЭКО являются неудачи имплантации, которые могут возникнуть при:

- нарушении рецептивности эндометрия, которое обусловлено различными гинекологическими заболеваниями (эндометриоз, полипы эндометрия, последствия перенесённых воспалительных заболеваний, нарушения гормональной регуляции) [11,55,49,1,2];

- наличии хромосомных аномалий у эмбриона [50,10];

- утолщении *zona pellucida*, затрудняющей высвобождение эмбриона и его прикрепление к эндометрию, что чаще встречается у женщин старшего репродуктивного возраста [51,41].

Предметом исследований последних лет является изучение микробиоты матки и её влияния на успешность имплантации. Микробиота – это совокупность микроорганизмов, представленных в отдельном биотопе человека, находящихся в симбиозе с организмом хозяина. Несмотря на то, что эти симбиотические отношения сложились эволюционно, наше понимание физиологической и

патофизиологической роли микробиоты в организме человека остаётся недостаточным [98, 84].

Важность физиологической роли микробиоты различных биотопов продемонстрирована на здоровых волонтерах в исследовании «Human Microbiome Project» (HMP), проведенном сотрудниками Национального Института Здоровья США в 2007 году с использованием высокочувствительных молекулярно-генетических методов. Были изучены образцы биоматериала, полученные из полости рта, носа, с поверхности кожи, фекальные пробы. У женщин исследовали отделяемое влагалища и аспират из полости матки. Для определения видового состава микробиоты использовали метод секвенирования субъединицы 16S рибосомальной РНК (рРНК), уникальной для каждой бактерии и содержащей определенное число гипервариабельных участков, служащих идентификаторами генов. Данные HMP и последующих исследований показали, что в организме человека такие биотопы, как полость матки и плацента, ранее считавшиеся стерильными, колонизированы своей уникальной микрофлорой [98, 81].

Данные о составе микробиоты эндометрия получены в исследованиях на гистерэктомизированной матке (Mitchell C.M. et al., 2015, Miles S.M. et al., 2017) [95,76], хроническом эндометрите (Haggerty C.L. et al., 2016 ) [90], бесплодии (Moreno I. et al., 2016) [83], при повторных неудачах имплантации (Verstraelen H. et al., 2016) [72], доброкачественных и злокачественных процессах в полости матки (Walter-Antonio M.R. et al., 2016) [102]. Для исследования были использованы различные методы получения биологического материала (операционный материал, соскоб из полости матки кюреткой, пайпель-биопсия эндометрия, дистальная часть эмбриокатетера) и методы диагностики - классический культуральный, молекулярно-биологический (полимеразная цепная реакция (ПЦР), секвенирование 16S рРНК).

До настоящего времени остаётся неясным, оказывают ли выявленные в эндометрии условно-патогенные микроорганизмы (УПМ) негативное влияние на имплантацию, какой состав микробиоты полости матки считается нормой, а какой

- патологией, оказывая неблагоприятное воздействие на имплантацию, и где грань между нормой и патологией в количественном и качественном отношении.

Данные о нормальной микробиоте полости матки не столь распространены, в связи с чем необходима разработка новых исследовательских направлений, таких, как культуромика и полногеномное секвенирование с последующей оценкой роли бактериальных взаимодействий и их влияния на нормальные и патологические процессы в области репродуктивного тракта. В связи с этим актуальность данного исследования как с научной, так и с практической точки зрения не вызывает сомнений.

**Цель** – изучить влияние микробиоты матки на успешность имплантации, течение ранних сроков беременности, частоту живорождения у женщин в программах ВРТ.

**Задачи исследования:**

1. Оценить данные анамнеза, параметры клинического и гормонального статуса у обследуемых пациенток с первой попыткой ЭКО и с повторными неудачами имплантации в анамнезе.

2. Оценить параметры фолликуло-, оогенеза и раннего эмбриогенеза при проведении программ ВРТ.

3. Оценить состояние микробиоты полости матки и цервикального канала у обследуемых женщин в момент переноса эмбриона.

4. Провести сравнительный анализ микробиоты матки в циклах стимуляции суперовуляции и в криоциклах.

5. Оценить влияние микробиоты матки и цервикального канала на репродуктивные исходы: успешность имплантации, наступление и течение ранних сроков беременности, частоту живорождения у женщин с первой попыткой ЭКО, а также неудачами имплантации в анамнезе.

6. На основании полученных данных разработать алгоритм ведения пациенток в программах ВРТ с учетом полученных результатов.

## **Научная новизна исследования**

Впервые с использованием комплексного подхода методами культуромикрии и метагеномного анализа изучена микробиота полости матки и цервикального канала у женщин с I попыткой ЭКО и с повторными неудачами имплантации в анамнезе. В ходе исследования обнаружено, что полость матки колонизирована микроорганизмами. Обнаружено 44 вида микроорганизмов: 14 видов лактобацилл и 4 вида бифидобактерий, 26 видов условно-патогенных микроорганизмов. Выявлено, что стерильная полость матки не является предиктором успешной имплантации.

Сравнительный анализ культурального исследования и метагеномного секвенирования микробиоты полости матки продемонстрировали высокую степень совпадения полученных данных.

При сравнении видового разнообразия и частоты выделения отдельных видов микроорганизмов в момент переноса эмбриона выявлено, что у большинства женщин (87,9%) микробиота цервикального канала и полости матки отличалась по качественному составу.

## **Практическая значимость**

Доказана взаимосвязь между количеством внутриматочных манипуляций в анамнезе и частотой наступления беременности у женщин в программах ВРТ. У женщин с повторными неудачами имплантации в анамнезе при наличии двух и более внутриматочных вмешательств частота наступления беременности снижается в 1,9 раз по сравнению с женщинами с отсутствием внутриматочных манипуляций.

Показана высокая информативность метода культуромикрии при исследовании микробиоты полости матки и цервикального канала. Однако метод является трудоёмким и дорогостоящим. Ввиду малого количества материала, полученного из полости матки в момент переноса, проведение качественного и количественного анализа состава микробиоты полости матки молекулярно-биологическими методами (ПЦР, 16sRNA секвенирование) является затруднительным и

нецелесообразным для применения в клинической практике. Применение методов культуромики и секвенирования видоспецифического участка гена 16sRNA целесообразно в научных исследованиях, но не в рутинной практике.

Разработан алгоритм ведения пациенток с повторными неудачами имплантации в зависимости от микробной колонизации полости матки и количественной микробной обсемененности цервикального канала. Лечение пациенткам целесообразно проводить при обнаружении УПМ в умеренных и высоких концентрациях в цервикальном канале ( $10^4$  –  $10^6$  и более КОЕ/мл). При выявлении УПМ в умеренных количествах (до  $10^5$  КОЕ/мл) использование антибактериальных препаратов нецелесообразно. Альтернативными препаратами для профилактики и/или лечения могут быть средства с бактериофагами для местного (интравагинального) применения при наличии видоспецифических бактериофагов в составе препарата, идентичным обнаруженным УПМ в составе микробиоты цервикального канала или полости матки.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. У женщин с неудачными попытками ЭКО в анамнезе среди клинико-анамнестических показателей одним из наиболее значимых предикторов исхода программ ВРТ является количество предшествующих внутриматочных манипуляций: наличие двух и более внутриматочных вмешательств у женщин с повторными неудачами имплантации снижает шанс наступления беременности в 3,4 раза.

2. Сравнительные данные о составе микробиоты полости матки и цервикального канала подтверждают концепцию о нестерильности матки и существовании «самостоятельной» микробиоты, отличающейся от микробиоты нижних отделов репродуктивного тракта. Качественный состав и частота выделения различных видов микроорганизмов, обнаруженных в полости матки и в цервикальном канале в общей когорте женщин, были идентичны только у 12,1% женщин, а у 87,9% - отличались.

3. Обнаружение УПМ в полости матки и в цервикальном канале в низких и умеренных титрах (до  $10^5$  КОЕ/мл) не является предиктором исхода программ ВРТ. Выделение УПМ, ассоциированных с бактериальным вагинозом (*G. vaginalis*), из полости матки и цервикального канала в высоком титре ( $10^6$  КОЕ/мл и более) во всех случаях сопровождалось либо ненаступлением беременности, либо ее прерыванием на ранних сроках, что можно расценивать как фактор риска неблагоприятных исходов ВРТ.

4. В связи с формированием высокой антибиотикорезистентности микроорганизмов при обнаружении УПМ в умеренных концентрациях (до  $10^5$  КОЕ/мл) в репродуктивном тракте женщин применение рутинной антибактериальной терапии нецелесообразно. Учитывая высокую частоту родов (88,8%) из расчета на количество наступивших беременностей, у женщин, получавших терапию бактериофагами, можно рассматривать их применение в качестве альтернативного способа коррекции дисбиотических нарушений.

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Разработанные методы обследования и лечения внедрены и используются в практической работе в отделении вспомогательных репродуктивных технологий в лечении бесплодия имени профессора Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (руководитель отделения – д.м.н., профессор Калинина Е.А).

### **Апробация работы**

Материалы диссертационной работы доложены на I Национальном конгрессе с международным участием ЛАБРИН 2019, Россия, Москва; XX Юбилейном Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и дитя» 2019, Россия, Москва; XIV Международном конгрессе по репродуктивной медицине, 2020, Россия, Москва; II Национальном конгрессе с международным участием ЛАБРИН 2020, Россия, Москва; XXX ежегодной международной конференции РАРЧ

«Репродуктивные технологии сегодня и завтра», 2020, III национальном конгрессе с международным участием ЛАБРИН 2021.

### **Публикации**

По результатам исследования опубликовано 6 научных работ, из них 3 – в журналах, включенных в перечень изданий, рекомендованных ВАК РФ и Scopus, 1 – в международном журнале.

### **Личное участие автора**

Автором самостоятельно проводился набор материала по теме диссертации, обследование и лечение пациенток, анализ медицинской документации, систематизация и компьютерная обработка полученных результатов исследований.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 156 страницах машинописного текста и содержит введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, включающие клиническую характеристику групп обследованных пациенток, данные микробиологических исследований, обсуждение полученных результатов, выводы и практические рекомендации. Библиографический указатель включает 56 отечественных и 65 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 13 таблицами и 22 рисунками.

## **ГЛАВА 1. МИКРОБИОТА ЭНДОМЕТРИЯ И РАЗЛИЧНЫХ БИОТОПОВ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА (обзор литературы)**

Микробиом – это совокупность микроорганизмов и их генов, которые формируют «второй геном» у людей, обеспечивают экологическое взаимодействие между собой и с окружающей средой, расширяют генетические и функциональные способности генома человека. Термин «микробиом» предложен в 2001 году Джошуа Ледербергом, который утверждал, что микроорганизмы, населяющие организм человека, должны рассматриваться как часть человеческого генома, оказывающие существенное влияние на жизнедеятельность организма [24]. Таким образом, термин «микробиом» стремительно занял свое место среди научных определений.

В 2007 году Национальный институт здоровья США (National Institutes of Health, USA) запустил 5-летний проект «Микробиом человека» (Human Microbiome Project). Данный проект был создан для решения ряда вопросов таких, как:

- идентификация и характеристика совокупности микроорганизмов человека, обнаруживаемых в различных анатомических областях;
- изучение межвидовых взаимодействий в микробиоме человека, а также связи между изменениями микробиома и развитием заболеваний;
- организация хранилища данных;
- оценка роли человека в изменении микробиоты.

В 2012 году опубликовано полное описание состава и разнообразия микробиомов пяти локализаций человеческого организма: кишечник, кожа, носовая полость, полость рта и влагалище (Human Microbiome Project Consortium, 2012г.). По результатам генетического анализа собранного материала установлено, что в организме человека обитает более 10 тысяч видов различных микробов. Именно микроорганизмы обеспечивают огромную часть генетической и белковой информации, принося в тело человека около 8 миллионов уникальных

кодирующих генов. Таким образом, бактериальных генов в организме в 360 раз больше, чем «человеческих». Этот микромир обладает бесконечно большим потенциалом наличия межиндивидуальных генетических вариаций, который до настоящего времени недооценен и полностью не исследован [3,42].

Столь глубокое исследование микробиома во многом связано с появлением методов высокопроизводительного секвенирования. Благодаря этим методам исследования стала возможной комплексная и точная оценка всего микробного сообщества, что позволило выйти на новый уровень понимания взаимосвязи здоровья человека и состояния его микробиома. Особую роль методы секвенирования занимают при исследовании так называемых «труднокультивируемых» микроорганизмов, а также, когда проведение культурального метода затруднено ввиду малого количества получаемого биологического материала. Секвенирование микробного генома с применением методик нового поколения коренным образом меняет наше представление о микробном разнообразии, хотя также имеет ограничения, связанные с малым количеством геномного материала, получаемого из полости матки. При этом молекулярные технологии оказали огромное влияние на расшифровку отдельных микробных геномов.

Таким образом, микробиология и медицина выходят на новый уровень понимания того, что происходит в организме человека под влиянием тех или иных микроорганизмов [19,24].

### **1.1 Микробиота кишечника**

Микробиота кишечника человека является одним из наиболее исследуемых микробных сообществ. Это может быть связано с его сложным составом и различным взаимодействием с организмом хозяина. Формирование микробиоты желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) является многоэтапным процессом. Становление микробиоты кишечника начинается ещё с периода внутриутробного развития. На его формирование существенно влияет микробиота матери [92]. Следующий этап развития микробиоты начинается с момента рождения ребенка.

На него оказывают влияние ряд факторов: гестационный возраст, способ родоразрешения, грудное вскармливание, качество вводимого прикорма, прием антибиотиков [62]. К двум годам у ребёнка складывается окончательный вариант микробиоты, который схож со взрослым [111]. В состав микробиома кишечника взрослых людей могут входить представители более 600 различных родов микробов [101].

Известно, что более 90% резистентных кишечных бактерий у здоровых лиц представлены двумя типами — *Bacteroidetes* и *Firmicutes*, при этом подавляющее большинство человеческой популяции имеет схожие пропорции каждого из этих типов. Наиболее часто встречающимися и многочисленными представителями типа *Firmicutes* являются *Faecalibacterium prausnitzii* и бактерии родов *Blautia*, *Dorea*, *Roseburia* и *Coprococcus*. К основным представителям типа *Bacteroidetes* относятся бактерии родов *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Prevotella*, *Odoribacter*, *Barnesiella* и *Alistipes*. Единичные проценты в кишечной микробиоте взрослых людей составляют бактерии типов *Actinobacteria* и *Proteobacteria*, еще меньшую часть — *Fusobacteria*, *Verrucomicrobia*, а также микроорганизмы типа *Euryarchaeota* [101].

Однако, несмотря на активное использование в литературе термина «дисбиоз» как звена патогенеза различных заболеваний, понятие «нормального» состава микробиоты кишечника человека до сих пор однозначно не определено.

Микробиом кишечника человека производит множество различных веществ, способных проникать в кровоток и оказывать действие на отдалённые органы и системы. Микробиом рассматривается как мощный эндокринный орган. Бактерии кишечной микробиоты секретируют различные нейроактивные вещества, такие как серотонин, гамма-аминомасляная кислота, ацетилхолин, гистамин, дофамин, норадреналин [108].

Особое место занимают короткоцепочечные жирные кислоты, которые являются конечными продуктами катаболизма углеводов, осуществляемого микроорганизмами в анаэробных условиях кишечника. Основными представителями являются уксусная, пропионовая, масляная кислоты [108,34,36].

Короткоцепочечные жирные кислоты не только оказывают влияние на иммунную систему, но и участвуют в регуляции углеводного и липидного метаболизма в клетках печени. Воздействие на организм через короткоцепочечные жирные кислоты является одной из важнейших функций кишечного микробиома.

Важной ролью кишечной микробиоты является формирование колонизационной резистентности, которая предотвращает заселение кишечника патогенными микроорганизмами. Определенное значение в этом имеют производимые микроорганизмами специфические антимикробные белки и пептиды – бактериоцины. Микроорганизмы ЖКТ, участвуя в метаболизме хозяина и модулируя функции его иммунной системы, играют ключевую роль в развитии различных заболеваний.

Существуют данные, подтверждающие взаимосвязь между дисбиозом кишечника и невынашиванием беременности [21].

Дисбиоз кишечника характеризуется сдвигом видового и количественного соотношения микроорганизмов, которое приводит к подавлению нормальной микрофлоры ЖКТ и размножению условно – патогенных микроорганизмов, что вызывает ряд патологических реакций. Развивающаяся при дисбиозе кишечника системная эндотоксемия провоцирует появление множества биологических эффектов. Эндотоксин, липотейховые кислоты и пептидогликаны, попадая в системный кровоток, являются мощными индукторами воспаления. Они активируют иммунные клетки, что приводит к выбросу провоспалительных медиаторов (хемокины, интерфероны, интерлейкины, лейкотриены, простагландины, вазоактивные амины). Повышенное количество провоспалительных цитокинов способствует усилению выработки простагландинов в амнионе и децидуальной оболочке, что приводит к сокращению гладкой мускулатуры матки и прерыванию беременности. Таким образом, можно сделать вывод, что дисбиоз кишечника является важнейшим фактором риска невынашивания беременности, а восстановление нормального состава кишечной микрофлоры может способствовать пролонгированию беременности [21].

## 1.2 Микробиота ротовой полости

Ротовая полость имеет свою характерную микробиоту, насчитывающую более 700 видов микроорганизмов. Состояние микробиоты полости рта связано с обширным спектром заболеваний человека. Среди них не только заболевания ротовой полости (кариес, заболевания пародонта), но и заболевания сердечно-сосудистой системы, сахарный диабет и другие. Влияние микробиоты полости рта является комплексным. Решающую роль играет не конкретно какой-то микроорганизм, а их сочетание. Очевидно, эта системная связь может быть опосредована бактериальным липополисахаридом, который приводит к эндотоксемии и в последующем – к провоспалительному состоянию.

Одной из наиболее устойчивых сред является микробиота пародонтального кармана, которая достаточно изолирована от внешней среды и практически не подвергается воздействию гигиенических процедур. Существует взаимосвязь между составом микробиоты пародонтального кармана и развитием кариеса, пародонтита [105].

Главным этиологическим фактором заболеваний пародонта являются патогенные микроорганизмы зубного налёта. По данным литературы, основным пародонтопатогеном является бактерия *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), которая выделяется при всех формах пародонтитов и является одним из этиологических факторов его развития [52].

В недавних исследованиях изучалось влияние *P. gingivalis* на наступление беременности. Целью исследования было изучение микробиологических и серологических маркёров пародонтальных патогенов и их связи с зачатием. В исследование было включено 256 женщин, за которыми наблюдали в течение 12 месяцев. Согласно результатам исследования, *P. gingivalis* чаще выделялись в слюне у женщин с отсутствием беременности (8,3%), по сравнению с теми, у кого беременность наступила (2,1%). Также у женщин с отсутствием беременности был выше средний уровень антител к *P. gingivalis*: иммуноглобулина А, иммуноглобулина G [112]. Таким образом, обнаружение *P. gingivalis* в слюне и повышенных концентраций слюнных антител против этих микроорганизмов

негативно влияют на наступление беременности. Связь между *P. gingivalis* в слюне и проблемами бесплодия до конца не изучена. Однако, предположительно, в ней участвуют некоторые специфические бактериальные составляющие, независимо от степени клинической инфекции и воспаления.

### 1.3 Микробиота влагалища

Исследование биоценоза влагалища и факторов, влияющих на его состояние, уже много лет находится в центре внимания не только микробиологов, но и ряда других специалистов. Функционирование и эффективное взаимодействие всех его звеньев обеспечивается благодаря деятельности иммунной, эндокринной систем, зависит от факторов внутренней и внешней среды. Неблагополучие в одном из этих звеньев вызывает нарушение микросреды влагалища, которое в последующем может привести к развитию воспалительных процессов генитального тракта. Однако, несмотря на многолетнюю историю изучения, механизмы заселения этого биотопа УПМ и их влияние на репродуктивное здоровье женщин остаются предметом дискуссий [12,13].

Вагинальный биотоп состоит из резидентной (постоянной), факультативной (добавочной) и транзитной (аллохтонной) микробиоты. Постоянная микрофлора начинает формироваться сразу после рождения ребёнка при прохождении через родовые пути матери. К 8-9 годам у девочек с началом постепенной активации репродуктивной системы, увеличением секреции половых гормонов, пролиферацией вагинального эпителия и накоплением в нем гликогена происходит заселение влагалища основной резидентной микрофлорой – лактобациллами. Концентрация лактобацилл в норме во влагалище может достигать  $10^9$  КОЕ/мл вагинального секрета. Род лактобацилл насчитывает более 120 видов, но во влагалище в основном обитают 4 вида: *Lactobacillus crispatus* (*L. crispatus*), *Lactobacillus jensenii* (*L. jensenii*), *Lactobacillus gasseri* (*L. gasseri*) и *Lactobacillus iners* (*L. iners*). Доминируют во влагалищном микробиоценозе каждой женщины только один или два из них [14,15,37,38].

У здоровых женщин во влагалищном биотопе могут встречаться бифидобактерии, но в меньшем количестве, чем лактобациллы – до  $10^7$  КОЕ/мл. Однако, во время беременности их численность возрастает [96,32].

Пропионовокислые бактерии, которые также являются представителями нормофлоры влагалища, представляют собой грамположительные полиморфные палочки. Их важной особенностью являются антиоксидативные, антиканцерогенные, иммуностимулирующие свойства. Более того, они обладают витаминообразующей способностью, в частности, в отношении витамина B12 [96,4,17,40].

Наличие молочной кислоты является отличительной чертой нормальной микробиоты влагалища. Создавая кислую среду, лактобациллы тем самым создают неблагоприятные условия для роста патогенных бактерий. Кроме того, защита урогенитальной системы достигается благодаря синтезу перекиси водорода, которая уменьшает рост облигатных анаэробов, в частности, бактерий родов *Clostridium*, *Mobiluncus*, *Bacteroides*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, а также факультативно-анаэробных и аэробных микроорганизмов *Gardnerella vaginalis* (*G. vaginalis*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Escherichia coli* (*E. coli*), *Candida albicans* (*C. albicans*) и др. [8].

Мощнейшим защитным свойством обладает лизоцим, который синтезируется вагинальной микрофлорой. Биоплёнка на слизистой влагалища, которая состоит из вагинальной слизи, колоний микроорганизмов и её метаболитов, является мощным защитным фактором, который предотвращает чрезмерное развитие УПМ и проникновение их клеток за пределы вагинального биотопа [96,8,47,46,70].

К представителям нормальной микробиоты генитального тракта у женщин также относят такие грамотрицательные строго анаэробные палочковидные бактерии, как *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., *Porphyromonas* spp. и *Prevotella* spp. Из факультативно-анаэробных микроорганизмов в репродуктивном тракте женщин часто выделяют каталазопозитивные, коагулазоотрицательные или коагулазонегативные стафилококки, стрептококки, энтерококки и непатогенные

коринебактерии. *E. coli*, по разным данным, выделяют у 5–30% женщин. Для нормоценоза характерно присутствие генитальных микоплазм – *Mycoplasma hominis* (*M. hominis*) и *Ureaplasma urealyticum* (*U. urealyticum*), которые выявляются у 2–15% сексуально активных женщин, в то время как *Mycoplasma fermentans* (*M. fermentans*) определяется реже. В вагинальном биотопе здоровых женщин могут также выявляться дрожжевые грибы рода *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis* и *C. glabrata*), а также *G. vaginalis*, встречающаяся, по данным различных авторов, в 6–60% случаев. При этом анаэробная флора превалирует над аэробной [103,35].

Состав микрофлоры влагалища женщины репродуктивного возраста зависит от различных факторов (фазы менструального цикла, наличия беременности, гормональных изменений, гинекологических операций в анамнезе, сексуальной активности, приёма антимикробных препаратов и др.), а такие заболевания как бактериальный вагиноз (БВ) и аэробный вагинит (АВ), вносят существенный вклад в развитие инфекционных осложнений у женщин.

БВ – одно из самых распространённых нарушений состава микробиоты влагалища, является актуальной проблемой в акушерско-гинекологической практике, так как ассоциирован с воспалительными заболеваниями органов малого таза, цервицитом, амнионитом, хориоамнионитом, преждевременными родами. Кроме того, при наличии БВ возрастает риск заболевания другими инфекциями, передаваемыми половым путем (ИППП) и вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ). БВ характеризуется замещением лактобациллярной микрофлоры влагалища спектром других микроорганизмов, главным образом, анаэробных: *G. vaginalis*, *Atopobium vaginae* (*A. vaginae*), *Prevotella* spp., *Mobiluncus* spp., *Megasphaera* spp., *Leptotrichia* spp., *Sneathia* spp. и др. [18, 87,25,27].

Существует убедительная доказательная база, что БВ ассоциирован с ранним и поздним самопроизвольным выкидышем, преждевременными родами, преждевременным разрывом плодных оболочек, хориоамнионитом, послеродовым эндометритом [6, 68, 115, 89].

Несмотря на достаточно высокий уровень развития современной клинической микробиологии, этиология и патогенез БВ остаются предметом

дискуссий. Считается, что снижение количества  $H_2O_2$  (перекись водорода), продуцируемой лактобациллами, приводит к увеличению рН вагинальной среды, вследствие чего влагалище массово колонизируется синантропной анаэробной микрофлорой. Однако до сих пор остаётся неизвестным, что в этом механизме является иницирующим фактором. Патологические механизмы, определяющие неблагоприятное влияние бактериального вагиноза на течение и исход беременности, до сих пор полностью не ясны.

Микроорганизмы, населяющие нижние отделы генитального тракта, при БВ могут восходящим путём проникать в полость матки и достигать децидуальной оболочки. Это может запускать целый ряд процессов, вовлечённых в индукцию преждевременных родов, включая увеличение продукции лейкоцитов, цитокинов, синтез простагландинов в амнионе, хорионе и миометрии, сокращения матки, расширение шейки матки, что, в свою очередь, способствует дальнейшему проникновению микроорганизмов в полость матки [88,26,29].

Аэробный вагинит (АВ) характеризуется как инфекционно-воспалительное заболевание влагалища, вызываемое условно-патогенными аэробными бактериями, в основном, кишечной группы – кишечной палочкой, а также стрептококками, стафилококками, энтерококками [61,119,28].

Существуют различия между БВ и АВ. Для БВ характерны отсутствие воспаления и присутствие большого количества анаэробной микрофлоры, в то же время АВ в его типичном проявлении характеризуется повышенным воспалительным ответом и/или выраженными признаками атрофии эпителия влагалища и наличием умеренного количества комменсальной кишечной микрофлоры [5,17,30,93].

Чаще всего при АВ выявляются *Streptococcus* spp. (до 59% случаев), *S. aureus* (до 42%), коагулазаотрицательные стафилококки (до 37%), *E. coli* (до 23%).

Таким образом, микробиота влагалища – сложная и саморегулирующаяся система. Микробный фактор является пусковым механизмом инфекционно-воспалительных заболеваний репродуктивного тракта у женщин, что может являться причиной патологических процессов.

#### 1.4 Особенности микробиоценоза полости матки

В настоящее время концепция «стерильной матки», а также парадигма, что плод развивается в стерильной среде, широко обсуждается [58]. Поэтому роль микроорганизмов в поддержании гомеостаза в полости матки заслуживает особого внимания. Данные последних обзоров литературы сфокусированы на корреляции между комменсальной колонизацией матки, проблемами бесплодия и репродуктивными исходами [84,98,79,7,87,113,107,100,27].

Известно, что бактерии оказывают влияние на иммунную систему [80]. Таким образом, если микроорганизмы влияют на иммунную систему ещё до беременности, то это может в значительной степени сказываться на рецептивном потенциале эндометрия. Успех имплантации эмбриона во многом зависит от состояния эндометрия в момент «окна имплантации» – короткого периода, во время которого происходят анатомические и молекулярные изменения, необходимые для nidации эмбриона. Ухудшение восприимчивости эндометрия во время менструального цикла ведёт к нарушению имплантации и бесплодию [67,118,77,98,80,104,106].

Хронический воспалительный процесс в полости матки характеризуется множеством морфологических изменений в эндометрии. Среди данного рода изменений выделяют нарушения механизмов клеточной пролиферации, апоптоз, ангиогенез, фиброз, нарушающих циклическую трансформацию и рецептивность эндометрия, что приводит к бесплодию, неудачам имплантации, невынашиванию беременности [75,23,31,76,86,97,116,121].

В исследовании Коваленко Я.А. и соавт. изучалась распространённость хронического эндометрита (ХЭ) среди пациенток с повторными неэффективными попытками ЭКО. Авторы оценивали влияние своевременной диагностики и комплексного лечения ХЭ на успешность имплантации. Обследованы 55 женщин в возрасте до 40 лет с двумя и более неэффективными попытками ЭКО в анамнезе. Биоптаты эндометрия получали методом аспирационной пайпель – биопсии или штрих – соскобом слизистой оболочки тела матки во время проведения гистероскопии. При постановке диагноза ХЭ учитывали наличие в эндометрии

очаговых или диффузных периваскулярных и перигландулярных лимфомакрофагальных инфильтратов, плазматических клеток, фиброза стромы, склеротических изменений стенок спиральных артерий [56].

Биопсия эндометрия в 35,2% случаев была произведена во время диагностической гистероскопии, в 64,8% случаев – методом пайпель-биопсии. При рутинной окраске срезов гематоксилином и эозином полный комплекс диагностических и морфологических критериев ХЭ обнаружен у 28 пациенток (51,8%). В 22 случаях (40,7%) морфологическая картина заболевания была неполной. У 9 (16,7%) обследованных пациенток ХЭ сочетался с наличием гиперпластического (железистого или железисто-фиброзного) полипа эндометрия. Количество пациенток с подтверждённым иммуногистохимическим методом исследования эндометритом составило 96,4%. Из них у 16,9% ХЭ сочетался с наличием гиперпластического полипа эндометрия, что послужило поводом для проведения гистероскопии и удаления полипа. Лечение ХЭ, в зависимости от обнаруженного методом ПЦР-диагностики этиологического фактора, проводилось комбинациями лекарственных средств: антимикотических, противопротозойных, фторхинолонов, антибактериальных препаратов широкого спектра действия. После лечения всем пациенткам проведена программа ЭКО и ПЭ. При этом частота наступления клинической беременности составила 41,2% [56].

Исследования последних лет свидетельствуют о многофакторности патогенеза неразвивающейся беременности. Одним из ведущих причинных факторов данной патологии рассматривается персистирующая урогенитальная инфекция, обуславливающая развитие инфекционно-воспалительного процесса в полости матки, нарушение гомеостаза в эндометрии и микроокружении эмбриона [45].

Нами проведён анализ литературных данных о видовом составе микроорганизмов, полученных из полости матки (таблица 1). При этом для исследования были использованы различные методы получения биологического материала (операционный материал, соскоб из полости матки кюреткой, аспират

из полости матки, полученный при пайпель-биопсии эндометрия, дистальная часть эмбриокатетера, извлечённого из полости матки после переноса эмбриона).

Микробиота репродуктивного тракта преимущественно исследуется двумя методами: культуральным и молекулярно-генетическим. Большая часть ранних работ, описывавших микробиоту репродуктивного тракта, основана на культуральных методах диагностики. В своей работе Чертовских М.Н. и Кулинич С.И. [54] ещё в 2013 году оценивали состояние микробиоты полости матки у 287 пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием после неудачных попыток ЭКО. Всем женщинам с 5 по 8 дни менструального цикла проводилась гистероскопия со взятием биоптата эндометрия на гистологическое и культуральное исследования, а также выполнялась расширенная кольпоскопия. Патология эндометрия, не выявленная перед программой ЭКО по данным УЗИ и пайпель – биопсии, обнаружена у 87,9% (n=252) женщин, при этом в структуре выявленной патологии преобладал ХЭ с частотой встречаемости 78,7%. У 82,9% пациенток (n=238) превалировала микрофлора, представленная полимикробными ассоциациями УПМ. У 68,2% (n=196) женщин при кольпоскопии выявлены признаки хронического воспаления шейки матки [54].

Относительно недавно появился новый подход к изучению микробиоты репродуктивного тракта, в частности, полости матки с помощью молекулярно-генетических методов исследования. Наиболее современный способ анализа видового разнообразия бактерий основан на секвенировании видоспецифического участка гена 16S рРНК.

Mitchell С.М. с соавторами одни из первых исследовали образцы из полости гистерэктомизированной матки 58 женщин с помощью метода секвенирования 16S рРНК. Материал для исследования получали из верхней части эндоцервикса и тела матки после её вскрытия в стерильных условиях. Отделяемое влагалища отбирали до операции. Микробная обсеменённость полости матки выявлена у 95% (n=55) пациенток, из них у 52 женщин обнаружен только 1 вид микроорганизма. Наиболее распространёнными видами были: *L. iners* (у 45% женщин выявлялись из полости матки и у 61% женщин – из отделяемого влагалища), *Prevotella* spp. (у 33% – из

полости матки, у 76% – из отделяемого влагалища), *L. crispatus* (у 33% – из полости матки, у 56% – из отделяемого влагалища). *G. vaginalis*, *A. vaginae* и *L. jensenii* обнаружены во влагалище более чем у 40% женщин, но значительно реже в полости матки (*G. vaginalis* у 19% женщин, *A. vaginae* – у 10% женщин и *L. jensenii* – у 20%). Колонизация микроорганизмами полости матки оказалась значительно ниже, чем во влагалище. Маркёры воспаления в эндометрии существенно не различались у женщин, у которых не обнаружено микроорганизмов в полости матки по сравнению с теми, у которых были обнаружены только лактобациллы, или присутствовали микробы, ассоциированные с БВ [76].

В исследовании Fang R-L. и соавт. изучалась взаимосвязь между развитием полипов эндометрия и микробной обсеменённостью полости матки. В исследование были включены 30 фертильных женщин: 10 – без и 20 – с полипами эндометрия. Проводилось исследование с помощью секвенирования 16S рРНК маточных мазков, полученных трансцервикально. У женщин с полипами эндометрия обнаружены *Proteobacteria* spp. (73%), *Firmicutes* spp. (14%) и *Actinobacteria* spp. (5%) на уровне типа. У здоровых женщин обнаружены *Enterobacter* spp. (33%), *Pseudomonas* spp. (24%) и *Lactobacillus* spp. на уровне генов [65].

В исследовании Walter-Antonio M.R. и соавт. проведено изучение микробиоты репродуктивного тракта у 31 женщины, которым проводилась гистерэктомия в связи с раком эндометрия (n=17), гиперплазией эндометрия (n=4), доброкачественным процессом в полости матки (n=10). Проводилось исследование с помощью секвенирования 16S рРНК материала из полости матки, маточных труб, яичников, удаленных во время оперативного вмешательства в дополнение к предоперационным вагинальным и цервикальным мазкам. Результаты показали, что *Shigella* spp. и *Barnesiella* spp. доминировали в полости матки, а также с высокой частотой *Staphylococcus* spp., *Blautia* spp., *Parabacteroides* spp. встречались у женщин с доброкачественными процессами в полости матки (n=10). *Bacteroides* spp., *Faecalibacterium* spp. обнаружены у женщин с раком эндометрия (n=17). Кроме того, одновременное присутствие *A. vaginae* и *Porphyromonas* spp. в

гинекологическом тракте в сочетании с высоким рН влагалища (> 4,5) было статистически связано с наличием рака эндометрия [102].

В исследовании Miles S.M. [95] и соавт. проводили исследование микробиоты гистерэктомизированных маток 10 женщин с помощью секвенирования видоспецифического участка гена 16S рРНК. Обнаружены следующие микроорганизмы: *Lactobacillus* spp., *Acinetobacter* spp., *Blautia* spp., *Corynebacterium* spp., *Staphylococcus* spp. Авторы отмечают, что не удалось получить данные секвенирования эндометрия у женщин с атрофичным эндометрием [95].

Chen C. и соавт. проводили исследование микробиоты полости матки у женщин с отсутствием воспалительных заболеваний полости матки (n=110). Отделяемое полости матки было получено интраоперационно во время лапароскопии, лапаротомии и в результате обнаружены следующие микроорганизмы: *Lactobacillus* spp. (30.6%), *Pseudomonas* spp. (9.1%), *Acinetobacter* spp. (9.1%), *Vagococcus* spp. (7.3%), *Sphingobium* spp. (5%) [113].

В последнее время появляется всё больше научных работ по изучению микробиоты полости матки во время переноса эмбриона в программах ЭКО с помощью различных методов секвенирования. В исследовании, проведенном Franasiak J.M. с соавт., были включены 33 пациентки. После переноса эмбриона в полость матки дистальную часть эмбриокатетера помещали в стерильную пробирку для исследования методом ПЦР. Анализ микробиоты полости матки проводили с использованием метода секвенирования участка гена 16S рРНК. Всего изучено 35 образцов биоматериала: 33 образца, полученных от пациенток и 2 контрольных, содержащих *E. coli*. У 18 из 33 женщин беременность наступила и у 15 пациенток – нет. Суммарно в исследуемых образцах зарегистрировано присутствие 278 различных генов микроорганизмов. Микробиота полости матки во время переноса эмбриона в обеих группах характеризовалась преобладанием лактобацилл [81].

В исследовании Moreno I. с соавт. оценивали с помощью секвенирования участка гена 16S рРНК влияние микробиоты матки на репродуктивные исходы

(частота имплантации, наступления и прогрессирования беременности, частота живорождения) у 35 бесплодных женщин в программе ЭКО. Исходя из исследования микробиоты полости матки, включающего 191 таксон микроорганизмов, выделено две группы женщин: I группа – с доминированием лактобацилл (>90%) и II – с наличием в микробиоте более 10% других видов бактерий и без доминирования лактобацилл (<90%). Во II группе отмечено снижение частоты имплантации по сравнению с I группой (23,1% / 60,7%), наступления беременности (33,3% / 70,6%) и живорождения (6,7% / 58,8%) [83].

В исследовании, проведенном Verstraelen Н. и соавт., изучали состав микробиоты эндометрия с помощью глубокого секвенирования V1-2 участков гена 16S рНК у 19 пациенток с повторными неудачами имплантации (ПНИ), повторными выкидышами или с обоими исходами. Авторы для получения материала с целью исключения контаминации с микрофлорой влагалища использовали цитощётку Тао Brush, которая представляет собой щётку, окружённую прозрачным кожухом, защищающим взятую пробу от контаминации отделяемым эндоцервикса и влагалища. В результате проведённого исследования во всех образцах были представлены 15 флотипов микроорганизмов. У 90% пациенток выявлен схожий состав микробиоты полости матки, в котором преобладали *Bacteriodes xylanisolvens*, *B. thetaiotaomicron* и *B. fragilis*. На другом флотипическом уровне у 6 женщин отмечено преобладание *L. crispatus* или *L. iners* при наличии *Bacteriodes*. Два эндометриальных сообщества имели сильные различия. При отсутствии *Bacteriodes* в одном случае доминировали *L. crispatus*, в другом – *Prevotella* spp., *A. vaginae* и *Mobiluncus curtisii*. Результаты данного исследования согласуются с предыдущими, свидетельствующими о дисбиотических сдвигах в микробиоте эндометрия при отсутствии преобладания лактобацилл, и такие нарушения являются наиболее частыми в субфертильной популяции [72].

Микробиом эндометрия у бесплодных пациенток оценивали Тао Х. с соавт., которые изучали содержимое дистальной части катетера, использованного при переносе эмбриона, с помощью метагеномного анализа. В исследование включены

образцы микробиоты полости матки, полученные у 70 пациенток, которым проводилось ЭКО. Лактобациллы обнаружены в биоптате (в образцах из полости матки) у всех женщин. Из 70 образцов были отобраны 33, в которых содержалось более 90% лактобацилл и 50 образцов, в которых обнаружено 70% лактобацилл. Помимо лактобацилл выявлены различные УПМ: *Corynebacterium* spp. – у 40 женщин, *Bifidobacterium* spp. – у 15, *Staphylococcus* spp. – у 38 и *Streptococcus* spp. – у 38 женщин. Таким образом, в дальнейшем характеристика микробиома эндометрия в момент переноса эмбриона может иметь ценность для определения терапевтического подхода с использованием пробиотиков или антимикробных препаратов у женщин для улучшения исходов программ ВРТ [71].

В исследовании Kotaro K. с соавт. проведён анализ парных образцов из полости матки и влагалищного отделяемого 28 пациенток с неудачами имплантации в анамнезе и 18 женщин с первой попыткой ЭКО. Всем женщинам производился перенос эмбрионов хорошего качества. У 17 пациенток с ПНИ материал был получен на 6-8 день после пика лютеинизирующего гормона (ЛГ) в естественном цикле, у 4-х – в день введения триггера овуляции, у 7 пациенток – на 5-й день после начала поддержки лютеиновой фазы индуцированного цикла. У 8 женщин с первой попыткой ЭКО материал был взят на 6-8 день после пика ЛГ естественного цикла, у 4 – в день введения триггера овуляции, у 6 пациенток – на 5-ый день после начала поддержки лютеиновой фазы индуцированного цикла. Исследование проведено с использованием молекулярно-генетических методов исследования с помощью секвенирования участка гена 16S рРНК. Профиль микроорганизмов в течение менструального цикла от пререцептивной фазы (ЛГ+2) к рецептивной (ЛГ+7) у большинства пациенток был стабильным. Преобладание лактобацилл в полости матки (>90%) встречалось чаще у женщин с ПНИ – 64,3% (18/28), чем в контрольной группе – 38,9% (7/18). Похожие результаты получены из образцов влагалища, где у женщин с ПНИ доминировали лактобациллы – 67,9% (19/28), в отличие от пациенток с первой попыткой ЭКО – 44,4% (8/18). Частота высеваемости *G. vaginalis* составила 39,3% (11/28) у женщин с ПНИ, и 27,7% (5/18) – в контрольной группе.

У пациенток с ПНИ в 25% (7/28) обнаружены *Burkholderia* spp. в биоматериале, полученном из полости матки, при этом у женщин с первой попыткой ЭКО (0/18) они высеяны не были. Существенной разницы в образцах из влагалища у обследуемых пациенток не выявлено [73]. *Burkholderia* spp. относятся к роду протеобактерий, которые вызывают серьезные легочные инфекционные осложнения у пациентов с муковисцидозом. Данные литературы об обнаружении микроорганизмов *Burkholderia* spp. в репродуктивном тракте скудны. Есть данные, которые указывают на возможность данных микроорганизмов вызывать тубоовариальные процессы [57]. Влияние этих микробов на рецептивность эндометрия требует дальнейшего изучения [73].

В исследовании Куono К. и соавт. проанализированы данные 92 пациенток, у которых проводили изучение микробиоты полости матки. Образцы из полости матки были собраны в различные фазы менструального цикла с помощью специального IUI-катетера (Kitazato Corporation, Japan), затем исследованы с помощью секвенирования участка гена 16S рРНК. Перенос эмбриона производился только после анализа полученных результатов.

У 47 женщин (51,1%) в полости матки доминировали лактобациллы более 90%, у 45 женщин (48,9%) микробиота полости матки была представлена различными УПМ без доминирования лактобацилл – менее 90%. Девяти пациенткам из группы без доминирования лактобацилл проводилось лечение антимикробными препаратами в сочетании с пробиотиками/пребиотиками, с учетом микробной обсемененности матки. После лечения состав их микрофлоры улучшился и в полости матки доминировали лактобациллы, после чего этим женщинам произвели криоперенос.

Частота наступления беременности оказалась выше у женщин с доминированием лактобацилл и составила 58,9% по сравнению с группой без доминирования лактобацилл – 47,2%. Однако существенной разницы отмечено не было. Частота прерывания беременностей в I триместре составила 24,4% у женщин первой группы и 17,6% - у женщин без доминирования лактобацилл. Кроме того, у 5 из 9 пациенток, у которых в полости матки преобладали лактобациллы после

проведённого лечения, наступила беременность. Частота наступления беременности составила 55,6% (5/9), частота выкидышей – 40% (2/5).

Для криопереноса без назначения лечения были отобраны 19 пациенток из группы без доминирования лактобацилл (II группа). Учитывая процентное соотношение и типы обнаруженных микроорганизмов, а также желание пациенток, им был произведён криоперенос. У 12 из 19 женщин (63,2%) в группе без доминирования лактобацилл и без предварительного лечения наступила беременность. Частота выкидышей составила 16,7% (2/12). Благоприятный исход у этих женщин можно объяснить тем, что у 5 из них доминировали лактобациллы (более 80%) и у 2-х пациенток доминировали бифидобактерии (более 90%). Когда эти 7 женщин были исключены из группы без доминирования лактобацилл (II группа), показатель частоты наступления беременности в группе без доминирования лактобацилл и без лечения составила 41,7% (5/12), а самопроизвольных выкидышей – 40% (2/5).

Таким образом, авторы переклассифицировали группы пациенток (n=92) в соответствии с новыми рекомендациями: группа пациенток с доминированием лактобацилл (содержание лактобацилл более 80%) и группа пациенток без доминирования лактобацилл (содержание лактобацилл менее 80% и присутствие УПМ более 20%) и затем проанализировали частоту наступления беременности. Частота наступления беременности была выше в группе женщин с доминированием лактобацилл (более 80%) и составила 61,3% против 40% в группе пациенток без доминирования лактобацилл (менее 80%).

Результаты данного исследования не обязательно доказывают явное преимущество эндометрия с доминированием лактобацилл с точки зрения исходов беременности, но восстановление микробиоты эндометрия с целью преобладания в нём лактобацилл оказывается благоприятным для имплантации. Назначение антибактериальных препаратов в сочетании с пробиотиками/пребиотиками были эффективны для восстановления микрофлоры у женщин с дисбиозом. Выбор антибактериальных препаратов имеет решающее значение. Необходимы

дальнейшие исследования для разработки схем лечения дисбиотического эндометрия [59].

В другом исследовании тех же авторов в 2019 году проанализированы результаты 99 пациенток, которым производился криоперенос. После забора образцов из полости матки во время пробного переноса с помощью IUI – катетера (Kitazato Corporation, Japan), был произведён эмбриотрансфер. Исследование микрофлоры полости матки производилось с помощью секвенирования участка гена 16S рРНК. Всем пациенткам производился перенос эмбрионов хорошего качества.

Согласно предыдущим исследованиям этих же авторов (2018г.) эндометрий, в котором присутствовали более 80% лактобацилл и бифидобактерий, расценивался авторами как эубиотический. Дисбиоз эндометрия диагностировали при обнаружении в нем менее 80% лактобацилл и бифидобактерий и присутствии более 20% УПМ. Согласно данным критериям, 68 пациенткам (68,74%) был поставлен эубиоз в текущем исследовании, 31 пациентке – дисбиоз (31,3%). Частота имплантации была 52,9%/54,8%, а частота выкидышей 11,1%/5,9% между пациентками с эубиозом и дисбиозом соответственно, 17 пациенток забеременели при наличии дисбиотического эндометрия. Содержание лактобацилл у них было в среднем – 15,1% (0–76,4%). Большинство УПМ представлены *Atopobium* spp. (7.3–97,4%), *Gardnerella* spp. (10.5–98,9%) и *Streptococcus* spp. (2.7–95,5%). У 14 пациенток с дисбиотическим эндометрием беременность не наступила. Содержание лактобацилл в среднем составило 14,75% (0 - 78,6%). Наиболее часто встречались: *Gardnerella* spp. (11.0–98,8%), *Atopobium* spp. (3.8–97.3%) и *Streptococcus* spp. (65.4–81,5%), которые были сопоставимы с бактериальной обсемененностью у беременных женщин с дисбиотическим эндометрием.

Однако механизмы влияния тех или иных микроорганизмов на успех имплантации до сих пор не ясны. Можно предположить, что отсутствие доминирования лактобацилл в полости матки может вызывать воспалительный ответ в эндометрии, а медиаторы воспаления регулируют адгезию бластоцисты к

эмбриону. Необходимы дальнейшие исследования для изучения механизма влияния различных УПМ на имплантацию [85].

Вышеизложенные данные подтверждают роль микробиоты полости матки в развитии хронического воспалительного процесса в эндометрии. Выявление микробного агента в эндометрии не всегда приводит к развитию воспаления. Грань между нормальной микрофлорой эндометрия и патологической в качественном и количественном соотношении требует дальнейшего изучения [117,64,66].

### **1.5 Способы восстановления дисбиоза полости матки**

На сегодня крайне актуальными являются диагностика и лечение дисбиоза эндометрия для улучшения результатов лечения бесплодия. Однако нет единого протокола ни для оценки микробного состава эндометрия, ни для лечения дисбиоза полости матки. Новаторские исследования, основанные на молекулярно-генетических методах, помогли разработать тест-системы для оценки микробиоты полости матки: тест-система ЕММА (iGenomix) и тест оценки микробиома эндометрия Varinos (Endometrial Microbiome Test by Varinos Inc). Тест ЕММА классифицирует образцы эндометрия как с доминированием лактобацилл, так и без доминирования лактобацилл. После того, как образец оказывается без доминирования лактобацилл, может быть назначено лечение для восстановления эубиоза эндометрия с применением антибиотиков, пробиотиков, пребиотиков. По той же системе классифицирует образцы тест-система Varinos [88,120].

Антибиотики широко применяются в акушерско-гинекологической практике. В одном из исследований лечение антибиотиками широкого спектра действия в сочетании с пробиотиками/пребиотиками было применено у группы женщин без доминирования лактобацилл в эндометрии. У 53% пациенток (n=17) удалось после лечения достичь доминирования лактобацилл, при этом продемонстрирована более высокая частота имплантации по сравнению с группой без доминирования лактобацилл [59]. Эти результаты стали обнадеживающими и этот подход получает всё большее распространение.

При лечении хронического эндометрита широко используется антибактериальная терапия. Несколько исследований показали, что применение антибиотиков у женщин с хроническим эндометритом, улучшает репродуктивные исходы. В исследовании Cicinell E. и соавт. продемонстрировано, что у женщин, которым проводилось лечение хронического эндометрита антибактериальными препаратами, частота наступления беременности была выше (76,3%) по сравнению с контрольной группой (20%) [74].

Kitaya K. И соавт. в своём исследовании сообщили, что назначение антибактериальной терапии пациенткам с ХЭ и ПНИ имело положительный эффект. Благоприятное воздействие антибиотиков наблюдалось у 99,1% женщин (116/117) [91].

Несмотря на широкое использование антибиотиков в лечении гинекологических заболеваний, их бесконтрольное применение привело к тому, что резистентность к антимикробным препаратам у различных микроорганизмов стала глобальной проблемой. Применяя антибактериальные препараты, зачастую не учитывают биологические особенности микромира. Кроме того, прогрессирующая резистентность бактерий к антибиотикам – не единственный повод для поиска новых способов лечения инфекционных заболеваний. Парадигма, что при лечении инфекционных болезней главным постулатом является уничтожение патогенов, очевидно, устарела. Её сменила новая концепция, основанная на современных представлениях о микробиоме человека, согласно которой человек не может существовать без бактерий. Стало очевидным, что при лечении инфекционных заболеваний тактика, направленная на усиление собственных механизмов антибактериальной устойчивости организма, имеет большие преимущества. Антибиотики, которые убивают всю микрофлору хозяина, следует использовать тогда, когда они крайне необходимы. В силу этого большой интерес вызывает особая группа средств – бактериофаги [45].

Бактериофаги – это вирусы, способные поражать бактерии. Фаги состоят из генетического материала (ДНК или РНК) и покрывающего его капсида. Такое строение не позволяет им размножаться вне живых клеток ввиду отсутствия

механизмов репликации собственного генома, производства необходимых белков и энергии. Поэтому бактериофаги – это облигатные паразиты, поражающие лишь определённые бактерии, рецепторы которых они специфически способны распознать. Преимуществами фаготерапии являются: её высокая специфичность, бактерицидное действие, отсутствие подавления нормальной микрофлоры хозяина, отсутствие тератогенных и токсических эффектов, безопасность применения во время беременности. Кроме того, немаловажным является стимуляция факторов специфического и неспецифического иммунитета. Фаги влияют на фагоцитоз, активность нейтрофилов, повышают уровень Т-лимфоцитов, что предупреждает хронизацию процесса и его рецидивирование. Таким образом, препараты бактериофагов имеют большие перспективы в качестве альтернативы химиотерапевтической антибактериальной терапии [22].

В исследовании отечественных авторов с целью повышения эффективности лечения вульвовагинальных инфекций и воспалительных заболеваний органов малого таза (ВЗОМТ) применяли поливалентный пиобактериофаг. В исследование включили 136 женщин: с воспалительными заболеваниями органов малого таза 73 пациентки, 32 из которых получали стандартную антибактериальную терапию в сочетании с пероральным приемом поливалентного пиобактериофага, а 41 – только противомикробные препараты; с рецидивирующими нарушениями микроценоза влагалища (n=63) из которых 28 женщин получали только поливалентный бактериофаг, а 35 – только противомикробный препарат в виде метронидазола интравагинально. Среди пациенток с рецидивирующими нарушениями микроценоза влагалища эффективность монотерапии в виде интравагинального введения полифага составила 85,7%. При назначении противомикробного препарата интравагинально микробиологическая эффективность достигала 71,4%. Частота рецидивов бактериального вагиноза и неспецифического вагинита на протяжении шести месяцев наблюдения снизилась в 4,2 раза после применения поливалентного бактериофага.

Теми же авторами проводилась оценка эффективности использования препарата с бактериофагами для профилактики рецидивирования вагинальных

инфекций. Группу пациентов составили 32 женщины, имеющие жалобы на зуд, жжение, выделения из влагалища, чаще после половых контактов. У 37,5% женщин отмечались рези при мочеиспускании. В качестве профилактики вульвовагинальных инфекций назначали гель с бактериофагами в качестве гигиенической процедуры после полового контакта. После 3-х недель терапии у 87,5% женщин симптомы купировались. Явления посткоитального цистита регрессировали у 8 (66,7%) пациенток [9].

Полученные данные свидетельствуют о высокой эффективности лечения ВЗОМТ с помощью бактериофагов в качестве альтернативы антибиотикотерапии.

Пробиотики – это живые микроорганизмы, используемые в терапевтических целях, обладающие благоприятным воздействием на организм человека в результате нормализации состава и/или повышения биологической активности микробиоты.

Недавние исследования были направлены на выбор потенциальных пробиотических штаммов лактобацилл из влагалищных образцов с целью улучшения микрофлоры женского репродуктивного тракта. Так, были отобраны штаммы *L. rhamnosus* из-за её способности снижать вагинальный pH и производить короткоцепочечные жирные кислоты, защищающие против колонизации патогенами [110].

Другими авторами изучалось влияние лактобацилл на барьерные функции эпителиальных клеток эндометрия. Обнаружено, что пробиотические штаммы *L. reuteri* и *L. rhamnosus* могут улучшить барьерную функцию эпителиальных клеток эндометрия и снизить восприимчивость к первичной ВИЧ-инфекции [104].

Пребиотики – это нежизнеспособные субстраты, которые служат питательными веществами для полезных микроорганизмов, обитающих в организме хозяина. В исследовании для улучшения эндометриальной микробиоты у инфертильных женщин, применялся лактоферрин совместно с антибактериальными препаратами. Среди пациенток группы без доминирования лактобацилл в полости матки, получавших лактоферрин в течение трёх месяцев после лечения антибактериальными препаратами, у 67% пациенток (6/9) в

последующем в полости матки доминировали лактобациллы [59]. Кроме того, использование лактоферрина продемонстрировало хорошие результаты у женщин с БВ, приводящим к преждевременным родам [99].

Использование пробиотиков и пребиотиков приобретает всё большую популярность для улучшения и поддержания оптимального состава микробиоты эндометрия. Однако в настоящее время механизмы действия пробиотиков и пребиотиков на эндометрий до конца не изучены. Нет четких клинических рекомендаций для диагностики и лечения «патологической, неблагоприятной» микробиоты эндометрия. Безусловно, необходима разработка чёткого терапевтического подхода для восстановления дисбиоза полости матки.

Таблица 1. Исследования, представляющие микробиом матки

Авторы	Кол-во пациенток (n)	Когорта пациенток	Техника забора материала	Метод исследования	Обнаруженные микроорганизмы
Чертовских М.Н., Кулинич С.И., 2013 [54]	287	Бесплодие; неудачи ЭКО	Трансцервикально; аспират эндометрия (пайпель)	Культуральный	87,8% положительных проб <i>Candida</i> spp. (17,4%), <i>Peptostreptococcus</i> spp. (9,5%), <i>Enterococcus</i> spp.
Mitchell C.M. et al., 2015 [76]	58	Дисфункциональные маточные кровотечения, миома матки, болевой синдром	Гистерэктомия	ПЦР; секвенирование участков гена 16S рибосомальной РНК	95% положительных проб <i>L. iners</i> (45%), <i>Prevotella</i> spp. (33%), <i>L. crispatus</i> (33%)
Fang R-L. et al., 2016 [65]	30	Полипы эндометрия	Аспират из полости матки	Секвенирование участков гена 16S рибосомальной РНК	<i>Proteobacteria</i> spp. (73%), <i>Firmicutes</i> spp. (14%), <i>Actinobacteria</i> spp. (5%) на уровне типа; <i>Enterobacter</i> spp. (33%), <i>Pseudomonas</i> spp. (24%), <i>Lactobacillus</i> spp. на уровне генов у здоровых женщин
Walter-Antonio M.R. et al., 2016 [102]	31	Дисфункциональные маточные кровотечения, миома матки, болевой синдром, гиперплазия эндометрия, рак эндометрия	Гистерэктомия	Секвенирование участков гена 16S рибосомальной РНК	<i>Shigella</i> spp., <i>Barnesiella</i> spp., <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Blautia</i> spp., <i>Parabacteroides</i> spp. у женщин с доброкачественными процессами в полости матки; <i>Bacteroides</i> spp., <i>Faecalibacterium</i> spp. у женщин со злокачественными процессами в полости матки.

Продолжение Таблицы 1

Miles S.M. et al., 2017 [95]	10	Женщины, которым проводили гистерэктомию	Гистерэктомия	Секвенирование участков гена 16S рибосомальной РНК	<i>Lactobacillus</i> spp., <i>Acinetobacter</i> spp., <i>Blautia</i> spp., <i>Corynebacterium</i> spp., <i>Staphylococcus</i> spp.
Chen C. et al., 2017 [113]	110	Женщины с отсутствием воспалительных заболеваний органов малого таза	Смывы из полости матки, трансервикальные мазки	Секвенирование участков гена 16S рибосомальной РНК	<i>Lactobacillus</i> spp. (30,6%), <i>Pseudomonas</i> spp. (9,1), <i>Acinetobacter</i> spp. (9,1%), <i>Vagococcus</i> spp. (7,3%), <i>Sphingobium</i> spp. (5%).
Franasiak J.M. et al., 2016 [84]	33	Бесплодие, ВРТ	Трансервикально; дистальная часть эмбриокатетера	Секвенирование участков гена 16S рибосомальной РНК	<i>Lactobacillus</i> spp., <i>Flavobacterium</i> spp. Содержание лактобацилл не влияет на репродуктивный исход
Moreno I. et al., 2016 [83]	70	Бесплодие, ВРТ	Аспират эндометрия, влагалищное отделяемое	Секвенирование участков гена 16S рибосомальной РНК	<i>Lactobacillus</i> spp. (71,7%) <i>Gardnerella</i> spp. (12,6%) <i>Bifidobacterium</i> spp. (3,7%) <i>Streptococcus</i> spp. (3,2%) <i>Prevotella</i> spp. (0,9%); у группы без доминирования лактобацилл: <i>Atopodium</i> spp., <i>Clostridium</i> spp., <i>Gardnerella</i> spp., <i>Megasphaera</i> spp., <i>Parvimonas</i> spp., <i>Prevotella</i> spp., <i>Sphingomonas</i> spp. <i>Sneathia</i> spp.



Продолжение Таблицы 1

<p>Куono K. et al, 2019 [85]</p>	<p>99</p>	<p>Бесплодие, ВРТ</p>	<p>Трансцервикально, с помощью IUI-катетера</p>	<p>Секвенирование участков гена 16S рибосомальной РНК</p>	<p>Содержание лактобацилл у забеременевших было в среднем – 15,1%. УПМ: <i>Atorobium</i> spp. (7.3–97,4%), <i>Gardnerella</i> spp. (10.5–98,9%), и <i>Streptococcus</i> spp. (2.7–95,5%). Содержание лактобацилл у не забеременевших – в среднем 14,75%. <i>Gardnerella</i> spp. (11.0–98,8%), <i>Atorobium</i> spp. (3.8–97,3%), и <i>Streptococcus</i> spp. (65.4–81,5%)</p>
<p>Kotaro K. et al, 2019 [73]</p>	<p>46</p>	<p>Бесплодие, ВРТ</p>	<p>Аспират эндометрия, влагалищное отделяемое</p>	<p>Секвенирование участков гена 16S рибосомальной РНК</p>	<p>Лактобациллы в полости матки у женщин с повторными неудачами имплантации – 64,3%, у женщин с I попыткой ЭКО – 38,9%. <i>Gardnerella</i> spp. – 39,3% у женщин с повторными неудачами имплантации, а в контрольной группе – 27,7%. <i>Burkholderia</i> spp. – 25% у женщин с повторными неудачами имплантации.</p>

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Материалы исследования

В соответствии с целью исследования и поставленными для её решения задачами обследованы 130 пациенток репродуктивного возраста, проходившие лечение в отделении вспомогательных технологий в лечении бесплодия имени профессора Б.В. Леонова (рук. отд. – д.м.н., профессор Калинина Е.А.) ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор – академик РАН Сухих Г.Т.). Исследование было проспективным (когортным) и носило сравнительный характер.

Критерии включения в исследование:

- возраст пациенток до 37 лет;
- трубно-перитонеальный фактор бесплодия;
- отсутствие выраженной патозооспермии;
- регулярный менструальный цикл;
- отсутствие патологии эндометрия по данным УЗИ;
- перенос эмбрионов хорошего качества.

Критерии исключения:

- противопоказания для проведения ЭКО, в том числе тяжёлая экстрагенитальная патология и онкологические заболевания в анамнезе;
- подтверждённый лапароскопически генитальный эндометриоз III-IV степени;
- интерстициальная и/или субсерозная миома матки более 4 см, субмукозная миома, деформирующая полость матки;
- патология эндометрия;
- пороки развития половых органов.

Всем женщинам объяснялись суть, цель и методы исследования. Перед началом научной работы получено одобрение этического комитета

ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Всеми пациентками подписано добровольное информированное согласие.

Всем женщинам в момент переноса эмбриона в полость матки производился сбор материала из цервикального канала. Дистальную часть эмбриокатетера, извлечённого из полости матки, помещали в среду накопления. Состав микробиоты изучали методом культуромики – культурального исследования с использованием расширенного набора селективных и неселективных питательных сред для культивирования облигатно-анаэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

При обнаружении УПМ по данным культурального анализа отделяемого цервикального канала в умеренных ( $10^4$ – $10^5$  КОЕ/мл) концентрациях пациенткам назначали гель с бактериофагами. У женщин с отсутствием беременности при обнаружении микроорганизмов в высоких концентрациях ( $10^6$  и более КОЕ/мл) и отсутствии видоспецифических бактериофагов в составе геля назначали местную антибактериальную терапию совместно с пробиотиками. Также были отобраны 30 образцов со среды накопления эмбриокатетера для проведения метагеномного секвенирования с целью сравнения с микробиологическими данными.

В соответствии с критериями включения и исключения отобраны 130 пациенток, которые были разделены на три группы:

- I группу составили пациентки с I попыткой ЭКО с переносом эмбриона в цикле овариальной стимуляции (n=39);
- II группу – женщины с повторными неудачами имплантации, с переносом эмбриона в цикле овариальной стимуляции (ПНИ с ПЭ в цикле стимуляции) (n= 27);
- III группу – пациентки с повторными неудачами имплантации с ПЭ в криоцикле (ПНИ с ПЭ в криоцикле) (n=64).

## 2.2 Методы исследования

Предварительное обследование супружеской пары проводилось по месту жительства и/или в амбулаторных условиях ФГБУ «НМИЦ АГП им.

В.И. Кулакова» Минздрава России со сбором подробного анамнеза и использованием лабораторных и общеклинических методов исследования в соответствии с приказом Минздрава России № 107н от 30 августа 2012 г. «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению».

Всем женщинам перед вступлением в программу ЭКО или криопротокोल проводилось предварительное культуральное исследование отделяемого влагалища и цервикального канала, по результатам которого не обнаружено УППМ в диагностически значимых количествах  $10^4$  КОЕ/мл и более, что свидетельствует о наличии нормофлоры у всех пациенток перед началом программы ЭКО.

### **2.2.1 Общеклинические методы исследования**

В соответствии с приказом применялись следующие методы обследования:

- общее и специальное гинекологическое обследование;
- анализ крови на гормоны (2-3 день МЦ): фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ), эстрадиол (Е2), тестостерон (Т), пролактин (ПРЛ), дегидроэпиандростерона-сульфат (ДГЭА-С), кортизол (К), тиреотропный гормон (ТТГ), тироксин свободный (Т4), трийодтиронин (Т3), соматотропный гормон (СТГ), антимюллеровский гормон (АМГ) и прогестерон (П) – на 20-22 день МЦ;
- клинический анализ крови;
- биохимический анализ крови;
- гемостазиограмма;
- общий анализ мочи;
- определение группы крови и резус-фактора;
- анализ крови на антитела к ВИЧ, HBs – антиген, анти HCV, сифилису (оба супруга);
- мазок на степень чистоты влагалища;

- бактериологический посев микрофлоры отделяемого влагалища и цервикального канала;
- исследование на инфекции, передаваемые половым путём (ИППП) методом ПЦР в цервикальном мазке;
- анализ крови на антитела (IgG, IgM) к вирусу простого герпеса (ВПГ), цитомегаловирусу (ЦМВ), токсоплазме, краснухе;
- расширенная кольпоскопия, цитологическое исследование мазков с шейки матки;
- УЗИ органов малого таза (5-7 день МЦ),
- молочных желёз или маммография (от 35 лет),
- УЗИ щитовидной железы;
- флюорография;
- ЭКГ;
- заключение терапевта о соматическом статусе пациентки, отсутствии противопоказаний к проведению стимуляции суперовуляции, вынашиванию беременности и родам;
- спермограмма мужа, консультация андролога;
- рентгеновские снимки матки и труб (по показаниям);
- консультация врача-генетика (по показаниям);
- заключение других специалистов (по показаниям).

### **2.2.2 Клинико-anamнестический анализ**

При оценке анамнеза обращали внимание на перенесённые инфекционные и соматические заболевания. Детально оценивали параметры менструального цикла (возраст менархе, регулярность, продолжительность цикла, характер менструации), репродуктивную функцию (количество, исход и осложнения предыдущих беременностей). Обращалось внимание на наличие в анамнезе оперативных вмешательств на органах малого таза, особое внимание уделялось перенесённым и сопутствующим гинекологическим заболеваниям, в частности,

количеству внутриматочных манипуляций. У каждой пациентки уточняли данные о продолжительности бесплодия и методах его лечения на предыдущих этапах.

### **2.2.3 Ультразвуковое исследование малого таза**

УЗИ органов малого таза до начала программы ЭКО и ПЭ на 5-7 день МЦ выполняли на аппарате с использованием трансвагинального датчика с частотой 7,5 МГц. Измерения проводились при опорожненном мочевом пузыре с использованием одноразового презерватива. Оценивались размеры матки, ее положение, структура миометрия, выявление сопутствующей патологии (наличие миоматозных узлов, аденомиоза), определялись размеры яичников с определением количества антральных фолликулов, наличие объемных образований в малом тазу. Особое внимание уделялось толщине и структуре эндометрия, диагностике его патологических состояний (с патологией эндометрия женщины в исследование не включались).

УЗ-мониторинг в цикле стимуляции суперовуляции проводили на 2-3 день МЦ в раннюю фолликулиновую фазу перед началом введения гонадотропинов, далее – на 5-6 день стимуляции функции яичников, затем ежедневно или через день с целью контроля роста фолликулов и состояния эндометрия, определения времени начала и продолжительности введения препарата антагониста гонадотропин-рилизинг гормона (ант-ГнРГ) и дня назначения овуляторной дозы хорионического гонадотропина с целью финального дозревания ооцитов.

Трансвагинальное УЗИ проводилось у пациенток с переносом размороженных эмбрионов в течение планируемого криоцикла для определения динамики роста доминантного фолликула, времени овуляции, оценки толщины и структуры эндометрия в день переноса эмбриона в полость матки.

### **2.2.4 Специальные методы исследования**

#### **Микробиологический метод**

Микробиологические исследования материалов проводились на базе института микробиологии, антимикробной терапии и эпидемиологии (директор

института – д.м.н., Припутневич Т.В.) ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

Всем женщинам перед переносом эмбриона в полость матки проведено микробиологическое исследование микробиоты цервикального канала. Для исключения контаминации цервикального канала микрофлорой влагалища, влагалищную часть шейки матки обрабатывали стерильным ватным тампоном. Взятие материала из цервикального канала осуществляли с помощью дакронового бактериологического тампона в пробирки с транспортной средой Эймса (Medical Wire, Англия). Отделяемое цервикального канала засеивали на селективные и неселективные агаризованные плотные питательные среды. После переноса эмбриона в полость матки дистальный фрагмент эмбриокатетера срезали стерильными ножницами и помещали в пробирку со средой накопления (1 мл), используемой для гемокультур (Oxoid, Великобритания). После 48 часов культивирования в анаэробном боксе (Jouan, Франция) в атмосфере трёхкомпонентной газовой смеси ( $N_2$ -80%;  $CO_2$ -10%;  $H_2$ -10%) состав микробиоты исследовали методом культуромики. Для выделения факультативно-анаэробных микроорганизмов использовали колумбийский агар (Oxoid, Великобритания), маннит-солевой агар (HiMedia, Индия), среду для выявления и дифференциации *Streptococcus agalactiae* (CHROMagar, Франция), энтерококковый агар и агар Эндо-ГРМ (ФГУН «ГНЦПМ и Б», Оболенск, Россия), декстрозный агар Сабуро (Oxoid, Великобритания). Лактобациллы культивировали на среде Лактобакагар (ФГУН «ГНЦПМ и Б», Оболенск, Россия), строгие анаэробы – на агаре для бифидобактерий (HiMedia, Индия), прeredуцированном агаре Шедлера с необходимыми добавками, основном агаре для анаэробов и перфрингенс агаре (Oxoid, Великобритания).

Идентификацию выделенных микроорганизмов проводили методом времяпролётной масс-спектрометрии (MALDI-TOF) с помощью масс-спектрометра AutoFlex III с программным обеспечением Maldi BioTyper (Bruker Daltonics, Германия) версии 3.0.

## Метагеномное секвенирование

Метагеномное секвенирование микробиоты полости матки проводили на базе института репродуктивной генетики (директор института – д.б.н., профессор РАН Трофимов Д.Ю.) ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

Отобрано 30 образцов биоматериала из полости матки (фрагмент эмбриокатетера в среде накопления) для проведения метагеномного секвенирования.

Для определения видового состава микробиоты методом высокопроизводительного секвенирования были выбраны переменные регионы V3-V4. Амплификацию выбранного региона проводили с использованием опубликованных праймеров 357F и 806R, выделение ДНК из образцов с использованием набора реагентов ДНК «МЧ-Рапид v2», а амплификацию последовательности гена 16S рРНК с использованием детектирующего амплификатора Дтпрайм («ДНК-технология»). Оценку качества полученных ампликонов производили в 2% агарозном геле.

Приготовление библиотек для секвенирования проводили согласно протоколу производителя. Качество и концентрацию библиотек ДНК для NGS-секвенирования проверяли с использованием прибора Bioanalyzer. Секвенировали на приборе MiSeq (Illumina, USA) на ячейках v2 согласно протоколу производителя. Анализ данных проводили с использованием программного пакета QIMME.

### 2.3 Этапы проведения программы ЭКО

Стимуляция суперовуляции проводилась со 2-3 дня МЦ препаратами гонадотропинов (рФСГ/ЧМГ). Начальная доза препаратов подбиралась индивидуально в соответствии с возрастом и параметрами овариального резерва пациентки. С целью предотвращения «паразитарного» выброса ЛГ, при достижении лидирующим фолликулом диаметра 13-14 мм осуществляли ежедневное подкожное введение препарата антГ-ГнРГ (цетрореликс) в дозе 0,25 мг/сут до дня введения триггера овуляции включительно. Овуляторная доза ХГЧ

была стандартной, составила 10000 МЕ и вводилась внутримышечно при достижении лидирующими фолликулами диаметра 18-19 мм с целью финального дозревания ооцитов за 35 часов до пункции фолликулов яичников.

Трансвагинальная пункция яичников (ТВП) проводилась в асептических условиях в малой операционной под кратковременной внутривенной анестезией и УЗ контролем. Фолликулярную жидкость аспирировали под отрицательным давлением в диапазоне 90-100 мм водного столба в стерильные пробирки. Полученная фолликулярная жидкость незамедлительно отдавалась эмбриологу для идентификации ооцитов, последующего оплодотворения и культивирования эмбрионов.

Преинкубация, оплодотворение ооцитов с использованием стандартов ЭКО, культивирование эмбрионов осуществляли в средах для культивирования фирмы «COOK Group, Inc.» (США). Качество эмбрионов оценивалось на 5-ые сутки после оплодотворения на основании совокупности морфологических характеристик в соответствии с установленными критериями по Гарднеру.

Перенос эмбрионов осуществлялся без анестезиологического пособия под УЗ-контролем на 5-ые сутки культивирования посредством мягкого эмбриокатетера «COOK». Проводился селективный перенос 1-го эмбриона в полость матки «хорошего» или «отличного» качества. Оставшиеся эмбрионы «отличного» и «хорошего» качества криоконсервировались.

Ведение посттрансферного периода осуществляли по общепринятой методике препаратами дидрогестерона в дозе 30 мг/сут перорально со дня проведения трансвагинальной пункции яичников в циклах стимуляции суперовуляции.

Перенос эмбрионов в криоциклах проводился в естественном овуляторном менструальном цикле на 5-6 день после овуляции, диагностированной при УЗ-мониторинге.

Диагностику беременности проводили на основании определения сывороточной концентрации бета-субъединицы ХГЧ через 12-14 дней после переноса эмбриона в полость матки. Тест на беременность считали положительным

при уровне бета-субъединицы ХГЧ более 20 МЕ/мл (биохимическая беременность). Ультразвуковая диагностика клинической беременности проводилась через 21 день после переноса эмбриона, еще через 10 дней – для определения сердцебиения эмбриона.

#### **2.4. Статистическая обработка результатов исследования**

Статистическая обработка данных выполнена с использованием программы IBM SPSS Statistics, версия 22. Для количественных параметров определены: среднее значение и стандартное отклонение  $M$  ( $SD$ ), для качественных данных – частоты и абсолютные значения % (абс.). При нормальном распределении, значимость наблюдаемых отклонений средних значений измеренных параметров оценивали с помощью  $t$ -критерия Стьюдента. При сравнении качественных параметров применялся метод Хи-квадрат.

Статистически значимыми различия считали при уровне значимости  $p \leq 0,05$ .

## **ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГРУПП ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОК**

### **3.1 Возраст пациенток, включенных в исследование**

Возраст пациенток в исследуемых группах варьировал от 22 до 37 лет, статистически значимых различий по возрасту не выявлено ( $p > 0,05$ ). В группе с I попыткой ЭКО возраст женщин составил  $30,4 \pm 3,3$  года; у женщин с ПНИ с ПЭ в цикле овариальной стимуляции (II группа) –  $32,3 \pm 3,5$  года; у пациенток с ПНИ и ПЭ в криоцикле (III группа) –  $32,0 \pm 3,0$  года.

### **3.2 Характер менструальной функции**

Данные о менструальной функции обследованных пациенток представлены в таблице 2. Анализ характера менструальной функции показал, что на момент обследования все женщины (100%) имели регулярный менструальный цикл. Средней возраст менархе у пациенток был схожим и составил в I группе  $13 \pm 1,0$  лет; во II –  $12,8 \pm 1,0$ ; в III –  $13,0 \pm 1,2$  лет.

Продолжительность менструального цикла у пациенток в I группе составила  $28,1 \pm 3,0$  дней, у II –  $28,5 \pm 4,2$  дней, у III –  $28,9 \pm 4,5$  дней. Средняя длительность менструации у пациенток I группы  $4,4 \pm 0,6$  дней, у II –  $4,6 \pm 0,6$  дней, у III –  $4,6 \pm 0,8$  дней. Дисменорея в группах составила 23,1%, 25,9% и 26,6% соответственно. Статистически значимых различий в группах сравнения не обнаружено ( $p > 0,05$ ).

**Таблица 2. Характеристика менструального цикла у пациенток, включенных в исследование**

Показатель	Группы обследованных пациенток			p-value		
	I попытка ЭКО (n = 39)	ПНИ с ПЭ в цикле стимуляции (n=27)	ПНИ с ПЭ в криоцикле (n=64)	I-II	II-III	I-III
Возраст менархе	13 ± 1,0	12,8 ± 1,0	13,0 ± 1,2	>0,05	>0,05	>0,05
Продолжительность менструального цикла	28,1 ± 3,0	28,5 ± 4,2	28,9 ± 4,5	>0,05	>0,05	>0,05
Длительность менструального кровотечения	4,4 ± 0,6	4,6 ± 0,6	4,6 ± 0,8	>0,05	>0,05	>0,05
<b>Интенсивность менструации</b>						
умеренные	84,6%(n=33)	77,8% (n=21)	71,9% (n=46)	>0,05	>0,05	>0,05
обильные	15,4% (n=6)	22,2% (n=6)	28,1% (n=18)	>0,05	>0,05	>0,05
болезненные	23,1% (n=9)	25,9% (n=7)	26,6% (n=17)	>0,05	>0,05	>0,05
безболезненные	76,9%(n=30)	74,1% (n=20)	73,4% (n=47)	>0,05	>0,05	>0,05

### **3.3 Данные акушерско – гинекологического анамнеза пациенток, включенных в исследование**

Данные акушерско-гинекологического анамнеза у пациенток обследованных групп представлены в таблице 3. Частота первичного бесплодия у женщин с I попыткой ЭКО (71,8%) была выше по сравнению с пациентками с ПНИ и ПЭ в цикле овариальной стимуляции (40,7%) и женщинами с ПНИ и ПЭ в криоцикле (34,4%) ( $p=0,02$ ;  $p=0,01$ ). Оценивая длительность бесплодия, можно отметить, что у пациенток I группы длительность бесплодия до 5 лет была выше (76,9%) по сравнению с пациентками II (51,9%) и III (68,8%) групп. Однако разница между данными группами не была статистически значимой ( $p>0,05$ ).

У пациенток II (52,9%) и III (65,6%) групп выше оказалось количество беременностей по сравнению с I (28,1%) группой ( $p=0,02$ ;  $0,001$ ), однако количество родов в анамнезе было выше у пациенток с неудачами имплантации с ПЭ в криоцикле (31,3%) ( $p>0,05$ ). По количеству аборт (7,7%; 7,4%; 9,4%) и

самопроизвольных выкидышей (5,2%; 11,1%; 7,8%) все группы были сопоставимы ( $p>0,05$ ).

**Таблица 3. Особенности акушерско-гинекологического анамнеза пациенток, включенных в исследование**

Показатель		Группы обследованных пациенток			p-value		
		I попытка ЭКО (n = 39)	ПНИ с ПЭ в цикле стимуляции (n = 27)	ПНИ с ПЭ в криоцикле (n = 64)	I-II	II-III	I-III
Бесплодие	I	71,8% (n=28)	40,7% (n=11)	34,4% (n=22)	0,02	>0,05	0,01
	II	28,2% (n=11)	59,3% (n=16)	65,6% (n=42)			
Длительность бесплодия (лет)	до 5 лет	76,9% (n=30)	51,9% (n=14)	68,8% (n=44)	0,06	>0,05	> 0,05
	более 5 лет	23,1% (n=9)	48,1% (n=13)	31,1% (n=20)			
Количество беременностей в анамнезе	1	17,9% (n=7)	44,4% (n=12)	29,7% (n=19)	0,02	>0,05	0,001
	2	5,1% (n=2)	11,1% (n=3)	29,7% (n=19)			
	3 и более	5,1% (n=2)	3,7% (n=1)	6,2% (n=4)			
Суммарное количество		28,1% (n=11)	59,2% (n=16)	65,6% (n=42)			
Количество родов в анамнезе	1	15,4% (n=6)	14,8% (n=4)	25,0% (n=16)	>0,05	>0,05	>0,05
	2 и более	0% (n=0)	0% (n=0)	6,3% (n=4)			
Суммарное количество		15,4% (n=6)	14,8% (n=4)	31,3% (n=20)			
Количество искусственных абортов в анамнезе	1	5,1% (n=2)	7,4% (n=2)	7,8% (n=5)	>0,05	>0,05	>0,05
	2	2,6% (n=1)	0% (n=0)	1,6% (n=1)			
Суммарное количество		7,7% (n=3)	7,4% (n=2)	9,4% (n=6)			
Количество самопроизвольных выкидышей в анамнезе	1	2,6% (n=1)	11,1% (n=3)	7,8% (n=5)	>0,05	>0,05	>0,05
	2	2,6% (n=1)	0% (n=0)	0% (n=0)			
Суммарное количество		5,2% (n=2)	11,1% (n=3)	7,8% (n=5)			
Количество неразвивающихся беременностей в анамнезе	1	7,7% (n=3)	11,1% (n=3)	17,2% (n=11)	>0,05	>0,05	0,05
	2 и более	0% (n=0)	0% (n=0)	7,9% (n=5)			
Суммарное количество		7,7% (n=3)	11,1% (n=3)	25,1% (n=16)			
Количество внематочных беременностей в анамнезе	1	2,6% (n=1)	22,2% (n=6)	10,9% (n=7)	0,01	>0,05	>0,05
	2 и более	2,6% (n=1)	7,4% (n=2)	7,8% (n=5)			
Суммарное количество		5,2% (n=2)	29,6% (n=8)	18,8% (n=12)			

Кроме того, у пациенток с ПНИ оказалось выше количество неразвивающихся беременностей (11,1% и 25,1%) по сравнению с женщинами с I попыткой ЭКО (7,7%) ( $p=0,05$ ). У пациенток II группы преобладало (29,6%) количество внематочных беременностей по сравнению с женщинами I группы (5,2%) ( $p=0,01$ ). У женщин III группы также была выше частота внематочных беременностей (18,8%) по сравнению с пациентками I группы, однако статистической разницы выявлено не было ( $p>0,05$ ).

### **3.3.1 Перенесённые оперативные вмешательства на органах малого таза у женщин, включенных в исследование**

Все группы пациенток были сопоставимы по частоте перенесённых оперативных вмешательств на органах малого таза в объёме лапаротомии (5,1%, 3,7%, 1,6% соответственно), диагностической лапароскопии (20,5%, 25,9%, 17,2% соответственно), а также по частоте консервативной миомэктомии, тубэктомии, резекции яичников ( $p>0,05$ ).

Обращает на себя внимание, что в группе пациенток с неудачами имплантации в анамнезе (II и III группы) чаще были лечебно-диагностические гистероскопии (59,3%; 43,8%) по сравнению с женщинами с I попыткой ЭКО (35,4%) ( $p=0,001$ ). У женщин II и III групп частота полипэктомий составила 37,0% и 34,4%, а у пациенток с I попыткой ЭКО – 5,1% ( $p=0,003$ ;  $p=0,002$ ). Таким образом, у женщин II и III групп выше была частота внутриматочных манипуляций (37,0% и 32,8%) по сравнению с женщинами I группы (12,8%) ( $p=0,04$ ;  $p=0,04$ ). Данные о перенесённых оперативных вмешательствах представлены в таблице 4.

Таблица 4. Перенесённые оперативные вмешательства на органах малого таза

Показатель		Группы обследованных пациенток			p-value		
		I попытка ЭКО (n=39)	ПНИ с ПЭ в цикле стимуляции (n=27)	ПНИ с ПЭ в криоцикле (n=64)	I-II	II-III	I-III
Лапаротомия		5,1% (n=2)	3,7% (n=1)	1,6% (n=1)	>0,05	>0,05	>0,05
Лапароскопия диагностическая	1	20,5% (n=8)	25,9% (n=7)	17,2% (n=11)	>0,05	>0,05	>0,05
Лапароскопия лечебная	1	30,8% (n=12)	37% (n=10)	32,8% (n=21)	>0,05	>0,05	>0,05
	2	5,1% (n=2)	22,2% (n=6)	21,9% (n=14)			
	3 и более	2,6% (n=1)	7,4% (n=2)	0% (n=0)			
Консервативная миомэктомия	1	0% (n=0)	11,1% (n=3)	6,3% (n=4)	>0,05	>0,05	>0,05
	2	2,6% (n=1)	0% (n=0)	1,6% (n=1)			
Тубэктомия	1	2,6% (n=1)	22,2% (n=6)	10,9% (n=7)	>0,05	>0,05	>0,05
	2	2,6% (n=1)	7,4% (n=2)	7,8% (n=5)			
Резекция яичников	1	23,1% (n=9)	18,5% (n=5)	23,4% (n=15)	>0,05	>0,05	>0,05
	2	2,6% (n=1)	3,7% (n=1)	3,2% (n=2)			
Лечебно-диагностическая гистероскопия	1	35,4% (n=6)	59,3% (n=16)	43,8% (n=28)	0,001	>0,05	0,006
	2	7,7% (n=3)	11,1% (n=3)	9,4% (n=6)			
Общее количество внутриматочных манипуляций, включая связанных с прерыванием беременности в I триместре	1	12,8% (n=5)	37,0% (n=10)	32,8% (n=21)	0,04	>0,05	0,04
	2 и более	17,9% (n=7)	33,3% (n=9)	32,8% (n=21)			

### 3.3.2 Сопутствующая гинекологическая патология

При анализе сопутствующей гинекологической патологии статистически значимых различий между группами по частоте выявления наружно-генитального эндометриоза, миомы матки малых размеров (до 3 см), эрозии шейки матки не обнаружено ( $p > 0,05$ ). Данные представлены в таблице 5.

**Таблица 5. Сопутствующие гинекологические заболевания у женщин, включенных в исследование**

Показатель	Группы обследованных пациенток			p-value		
	I попытка ЭКО (n=39)	ПНИ с ПЭ в цикле стимуляции (n=27)	ПНИ с ПЭ в криоцикле (n=64)	I-II	II-III	I-III
НГЭ I-II	20,5% (n=8)	25,9% (n=7)	28,1% (n=18)	>0,05	>0,05	>0,05
Миома матки	7,7% (n=3)	7,4% (n=2)	7,8% (n=5)	>0,05	>0,05	>0,05
Эрозия шейки матки	5,1% (n=2)	7,4% (n=2)	12,5% (n=8)	>0,05	>0,05	>0,05

### 3.3.3 Сравнительный анализ количества попыток ЭКО у женщин, включенных в исследование

У пациенток обследуемых групп проведён сравнительный анализ количества попыток ЭКО (таблица 6).

**Таблица 6. Количество циклов ЭКО в анамнезе у женщин с ПНИ, включенных в исследование**

Показатель	Группы обследованных пациенток		p-value	
	ПНИ с ПЭ в цикле стимуляции (n=27)	ПНИ с ПЭ в криоцикле (n=64)	II-III	
Попытка ЭКО	1	0% (n=0)	40,6% (n=26)	-
	2	48,1% (n=13)	31,3% (n=20)	>0,05
	3 и более	51,9% (n=14)	28,1% (n=18)	>0,05
Среднее количество циклов ЭКО в анамнезе	3,0 ± 1,3		2,8 ± 1,0	>0,05

Нами была предпринята попытка проанализировать количество предшествующих попыток ЭКО у женщин с ПНИ, включенных в исследование. При сравнении среднего количества циклов ЭКО II и III группы были сопоставимы, у пациенток II группы это показатель составил  $3,0 \pm 1,3$ , а у женщин III группы –  $2,8 \pm 1,0$  ( $p > 0,05$ ).

### **3.3.4 Оценка функционального состояния гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы**

В ходе проведённого обследования гормонального статуса у пациенток отклонений от нормальных значений гормонов ни в одной из групп не выявлено. Средний уровень ФСГ у женщин I группы составил  $6,6 \pm 2,3$  МЕ/л, II группы –  $6,8 \pm 2,1$  МЕ/л, III группы –  $7,2 \pm 1,7$  МЕ/л., ЛГ –  $5,4 \pm 2,1$  МЕ/л,  $5,8 \pm 2,7$  МЕ/л и  $5,8 \pm 2,2$  МЕ/л, соответственно. С целью оценки состояния овариального резерва на 2-3 день менструального цикла измеряли уровень антимюллерова гормона (АМГ). Средний уровень АМГ у женщин I группы составил  $2,4 \pm 1,3$  нг/мл, II группы –  $3,3 \pm 2,5$  нг/мл, III группы  $2,9 \pm 2,0$  нг/мл.

Средняя концентрация эстрадиола в плазме крови на 2-3 день менструального цикла в I группе составила  $138,4 \pm 71,2$  пмоль/л, во II –  $150,3 \pm 88,4$  пмоль/л, в III –  $120,2 \pm 76,5$  пмоль/л, что свидетельствовало о достаточной эстрогенной насыщенности у обследованных женщин.

Средний уровень пролактина во всех группах был в пределах нормы и составил в I группе  $277,0 \pm 132,0$  мМЕ/л, во II –  $279,3 \pm 114,0$  мМЕ/л, в III группе  $215,6 \pm 119,6$  мМЕ/л. Исследование гормонов щитовидной железы и андрогенного статуса пациенток показало отсутствие отклонений от нормальных значений. В таблице 7 представлены данные гормонального статуса обследованных женщин.

**Таблица 7. Данные предварительного гормонального обследования у женщин, включенных в исследование**

Показатель	Группы обследованных пациенток			p-value		
	I попытка ЭКО (n= 39)	ПНИ с ПЭ в цикле стимуляции (n=27)	ПНИ с ПЭ в криоцикле (n=64)	I-II	II-III	I-III
ФСГ, МЕ/л	6,6 ± 2,3	6,8 ± 2,1	7,2 ± 1,7	>0,05	>0,05	>0,05
ЛГ, МЕ/л	5,4 ± 2,1	5,8 ± 2,7	5,8 ± 2,2	>0,05	>0,05	>0,05
АМГ, нг/мл	2,4 ± 1,3	3,3 ± 2,5	2,9 ± 2,0	>0,05	>0,05	>0,05
Пролактин, мМЕ/л	277,0 ± 132,0	279,3 ± 114,0	215,6 ± 119,6	>0,05	>0,05	>0,05
Эстрадиол, пмоль/л	138,4 ± 71,2	150,3 ± 88,4	120,2 ± 76,5	>0,05	>0,05	>0,05
Прогестерон (20-22 д.ц.), нмоль/л	12,1 ± 17,2	8,8 ± 13,2	9,2 ± 14,1	>0,05	>0,05	>0,05
Тестостерон, нмоль/л	3,0 ± 0,8	1,3 ± 0,6	2,1 ± 0,9	>0,05	>0,05	>0,05
ТТГ, мМЕ/л	2,6 ± 1,4	2,2 ± 1,5	2,0 ± 1,0	>0,05	>0,05	>0,05
Т4 св., пмоль/л	11,5 ± 2,9	12,7 ± 2,5	12,1 ± 8,5	>0,05	>0,05	>0,05
Т3 св., пмоль/л	3,8 ± 1,1	2,2 ± 1,5	2,9 ± 1,9	>0,05	>0,05	>0,05
Кортизол, нмоль/л	312,7 ± 89,2	316,1 ± 86,8	319,1 ± 82,1	>0,05	>0,05	>0,05

### **3.3.5 Сравнительный анализ ведущих причин бесплодия у женщин, включенных в исследование**

Проведён сравнительный анализ причин бесплодия у женщин, в обследуемых группах (таблица 8).

В ходе проведённого исследования обнаружено, что группы женщин были сопоставимы по частоте трубно-перитонеального фактора бесплодия (30,8%; 25,9%; 25,9%). Несмотря на более высокую частоту мужского бесплодия в I группе (38,4%) по сравнению со II и III группами (25,9% и 26,6%) разница оказалась статистически не значимой ( $p > 0,05$ ). По частоте комбинированного бесплодия все группы оказались сопоставимы (30,8%; 48,2% и 35,9%) ( $p > 0,05$ ).

**Таблица 8. Характеристика ведущих причин бесплодия у женщин, включенных в исследование**

Показатель	Группы обследованных пациенток			p-value		
	I попытка ЭКО (n= 39)	ПНИ с ПЭ в цикле стимуляции (n=27)	ПНИ с ПЭ в криоцикле (n=64)	I-II	II-III	I-III
Трубно-перитонеальный фактор	30,8% (n=12)	25,9% (n=7)	37,5% (n=24)	>0,05	>0,05	>0,05
Мужской фактор	38,4% (n=15)	25,9% (n=7)	26,6% (n=17)	>0,05	>0,05	>0,05
Комбинированное бесплодие	30,8% (n=12)	48,2% (n=13)	35,9% (n=23)	>0,05	>0,05	>0,05

### **3.3.6 Характеристика циклов ЭКО у женщин, включенных в исследование**

Параметры фолликуло- и оогенеза не отличались между группами. У женщин III группы с ПНИ и ПЭ в криоцикле параметры фолликуло- и оогенеза оценивали в цикле стимуляции, в котором производилась криоконсервация эмбрионов. Среднее количество аспирированных фолликулов в I группе составило  $7,3 \pm 4,0$ , во II –  $7,4 \pm 4,6$ , в III –  $7,5 \pm 4,2$  и статистически не различалось ( $p > 0,05$ ). Среднее количество полученных зрелых ооцитов у пациенток I группы составило  $6,0 \pm 3,3$ , II группы –  $5,9 \pm 3,7$ , а III группы –  $6,1 \pm 3,5$  ( $p > 0,05$ ). Таким образом, статистически значимых различий между группами пациенток в отношении числа аспирированных и полученных зрелых ооцитов не выявлено ( $p > 0,05$ ). Среднее количество бластоцист на пятые сутки составило в I группе  $2,4 \pm 1,5$ ; во II –  $2,5 \pm 1,9$ ; в III –  $2,6 \pm 1,4$  ( $p > 0,05$ ). Таким образом, при анализе параметров фолликуло-оогенеза и раннего эмбриогенеза статистически значимых различий между исследуемыми группами не выявлено ( $p > 0,05$ ).

В таблице 9 представлены данные параметров фолликуло-, оогенеза и раннего эмбриогенеза у обследуемых пациенток.

**Таблица 9. Характеристика параметров фолликуло-, оогенеза и раннего эмбриогенеза у пациенток обследуемых групп**

Показатель	Группы обследованных пациенток			p-value		
	I попытка ЭКО (n= 39)	ПНИ с ПЭ в цикле стимуляции (n=27)	ПНИ с ПЭ в криоцикле (n=64)	I-II	II-III	I-III
Среднее количество фолликулов диаметром 18 мм в день введения триггера	9,7 ± 4,4	9,4 ± 4,8	9,5 ± 4,3	>0,05	>0,05	>0,05
Среднее количество аспирированных ооцитов	7,3 ± 4,0	7,4 ± 4,6	7,5 ± 4,2	>0,05	>0,05	>0,05
Среднее количество зрелых ооцитов	6,0 ± 3,3	5,9 ± 3,7	6,1 ± 3,5	>0,05	>0,05	>0,05
Среднее количество оплодотворившихся, 1 сут.	5,0 ± 2,6	5,1 ± 3,0	5,2 ± 3,0	>0,05	>0,05	>0,05
Среднее количество бластоцист, 5 сут.	2,4 ± 1,5	2,5 ± 1,9	2,6 ± 1,4	>0,05	>0,05	>0,05

Кроме того, нами проведен анализ данных спермограммы в день трансвагинальной пункции яичников (таблица 10). Среднее количество морфологических нормальных сперматозоидов составило  $1,9 \pm 0,4$  %;  $2,0 \pm 0,6$  %;  $1,9 \pm 0,7$  % соответственно. Процент прогрессивно подвижных сперматозоидов в I группе -  $20,1 \pm 0,5$ , во II –  $22,1 \pm 0,4$ , в III -  $23,1 \pm 0,6$  %. Так показатели спермограммы в день трансвагинальной пункции яичников среди групп, включенных в исследование, были сопоставимы ( $p > 0,05$ ).

Показанием для проведения ИКСИ являлось неудовлетворительные показатели спермограммы в день проведения трансвагинальной пункции яичников. Преобладали астено- и тератозооспермия. По количеству ИКСИ все группы были сопоставимы – 97,4%, 92,6%, 96,9% соответственно. Показатели спермограммы в день трансвагинальной пункции яичников были отличны от исходных показателей спермограммы, что явилось причиной высокого процента ИКСИ.

**Таблица 10. Параметры сперматогенеза в день трансвагинальной пункции яичников, метода оплодотворения у пациенток, включенных в исследование**

Показатель	Группы обследованных пациенток			p-value		
	I попытка ЭКО (n= 39)	ПНИ с ПЭ в цикле стимуляции (n=27)	ПНИ с ПЭ в криоцикле (n=64)	I-II	II-III	I-III
% морфологически нормальных сперматозидов в день ТВП	1,9± 0,4	2,0 ± 0,6	1,9± 0,7	>0,05	>0,05	>0,05
% прогрессивно подвижных сперматозидов в день ТВП	20,1±0,5	22,1±0,4	23,1±0,6	>0,05	>0,05	>0,05
Общая концентрация сперматозоидов в 1 мл эякулята в день ТВП	67,2±1,2	69,2±1,4	68,5±1,2	>0,05	>0,05	>0,05
Тип оплодотворения, ЭКО	2,6% (n=1)	7,4% (n=2)	3,1% (n=2)	>0,05	>0,05	>0,05
Тип оплодотворения, ИКСИ	97,4%(n=38)	92,6% (n=25)	96,9% (n=62)	>0,05	>0,05	>0,05

## ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Как было сказано ранее, всем женщинам перед вступлением в программу ЭКО или криопротокол предварительно проводилось стандартное культуральное исследование отделяемого влагалища и цервикального канала, по результатам которого не было обнаружено УПМ в диагностически значимых количествах  $10^4$  КОЕ/мл и более, что свидетельствует о наличии нормофлоры у всех пациенток перед началом программы ЭКО.

Целью нашего исследования явилось изучить изменения микробиоты цервикального канала и полости матки в период стимуляции функции яичников, а также в криоциклах с использованием метода культуромики. Следует подчеркнуть, что идентификацию выделенных микроорганизмов проводили методом времяпролётной масс-спектрометрии (MALDI-TOF).

### 4.1 Результаты культурального исследования микробиоты цервикального канала

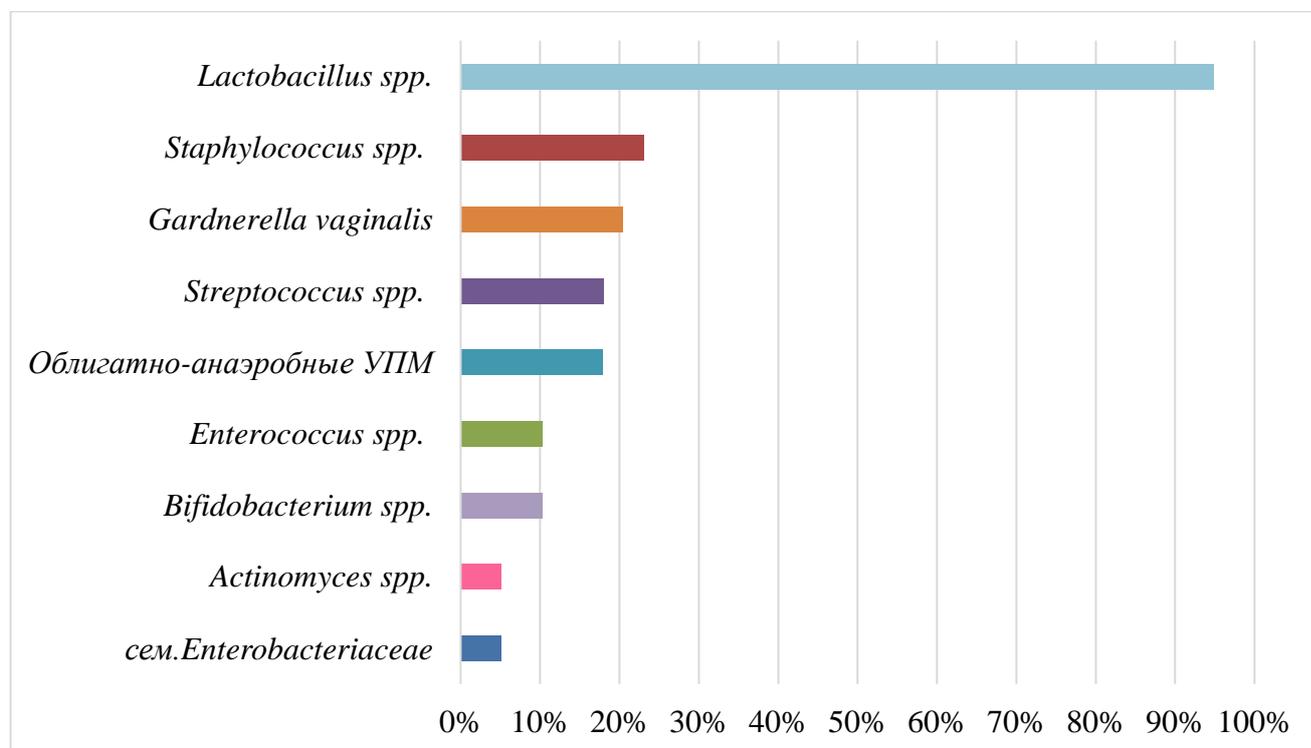
#### 4.1.1 Микробиота цервикального канала у пациенток с I попыткой ЭКО и ПЭ в цикле овариальной стимуляции (I группа)

У женщин с I попыткой ЭКО отделяемое цервикального канала в 100,0% случаев содержало различные микроорганизмы. Суммарно обнаружено 30 видов УПМ: 20 видов УПМ и 10 видов – комменсалов (9 видов лактобацилл и 1 вид бифидобактерий).

Видовой состав выделенной микрофлоры представлен в таблице 11 (приложение). Среднее количество видов на 1 женщину у пациенток этой группы составил 0,76.

Среди УПМ выявлены факультативно-анаэробные микроорганизмы семи родов (*Escherichia*, *Proteus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Kocuria*,

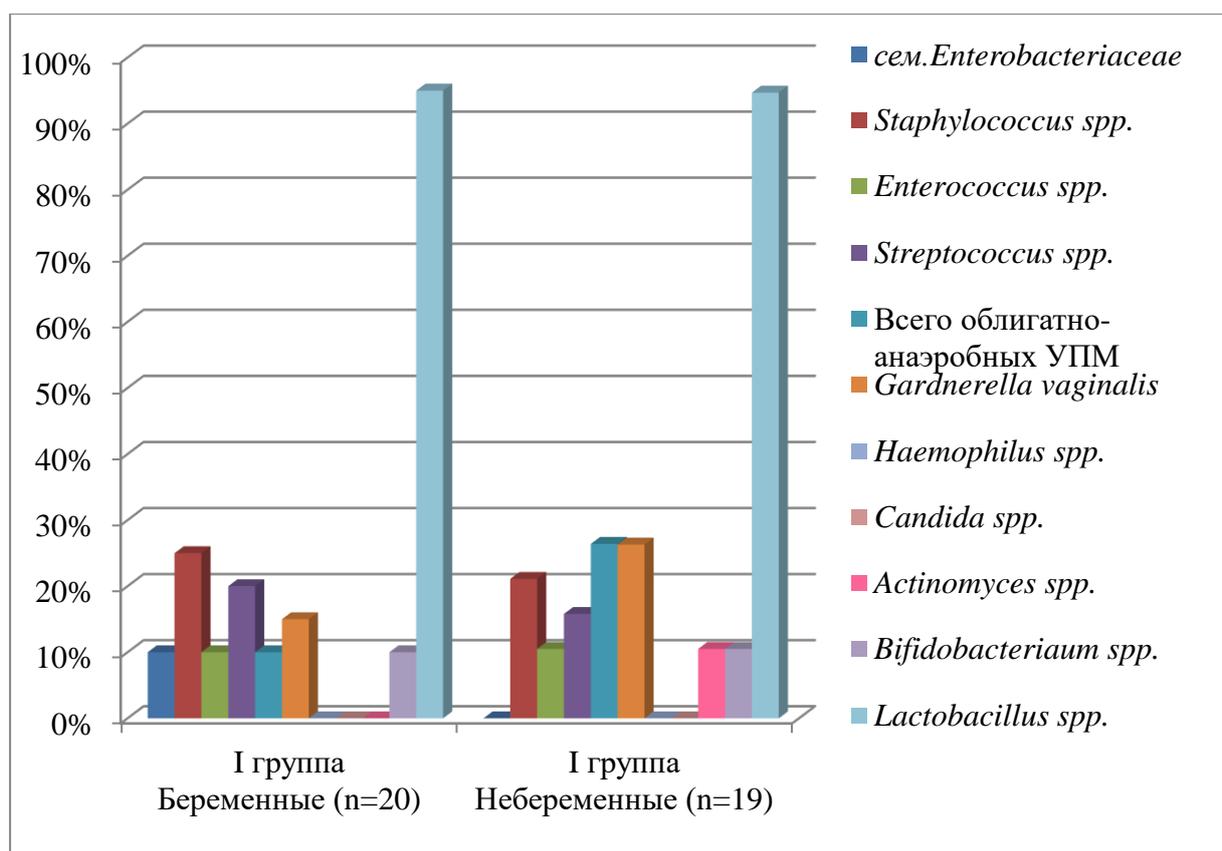
*Actinomyces*), микроаэрофилы (*G. vaginalis*) и строгие анаэробы пяти родов (*Atopobium*, *Dialister*, *Finegoldia*, *Prevotella* и *Propionibacterium*). Анализ частоты выделения отдельных групп микроорганизмов показан на рисунке 1.



**Рисунок 1. Микробиота цервикального канала у пациенток с I попыткой ЭКО (n=39)**

Из данных диаграммы следует, что в составе микробиоты цервикального канала, как и в полости матки, преобладают лактобациллы (94,9%).

Среди УПМ с большей частотой выделяли факультативно-анаэробные микроорганизмы: коагулазоотрицательные стафилококки (23,1%), стрептококки (18,0%) (преимущественно *S. anginosus* и *S. agalactiae*), энтерококки (10,3%), энтеробактерии и актиномицеты (5,1%). Частота выделения *G. vaginalis* составила 20,5%, облигатно-анаэробных УПМ – 17,9%. Бифидобактерии встречались у 10,3% женщин. Для оценки возможного влияния выделенной микрофлоры на наступление беременности проведён сравнительный анализ микробиоты среди женщин с наступившей беременностью и её отсутствием (рисунок 2).



**Рисунок 2. Частота выделения различных микроорганизмов из цервикального канала у пациенток с I попыткой ЭКО в зависимости от наступления беременности и ее отсутствия (n=39)**

Примечание: статистически значимой разницы в частоте выделения указанных микроорганизмов не обнаружено ( $p > 0,05$ )

У женщин с наступившей беременностью (Ia подгруппа) и у женщин с отсутствием беременности (Iб подгруппа) преобладающей компонентой микробиоты, выявляемой с одинаковой частотой (95,0% и 94,7% соответственно), были лактобациллы. УПМ несколько чаще выделяли в Iб подгруппе (73,7%) в сравнении с Ia подгруппой (60,0%), но без статистически значимого отличия ( $p > 0,05$ ).

В составе наиболее часто встречавшихся УПМ в Ia подгруппе чаще, чем в Iб подгруппе выявляли факультативные анаэробы: коагулазоотрицательные стафилококки (25,0% и 21,1% соответственно), стрептококки (20,0% и 15,8% соответственно), энтеробактерии (10,0% и 0% соответственно), однако без статистически значимого преимущества, касающегося как отдельных родов

микроорганизмов, так и различных видов внутри рода. Напротив, строгие анаэробы в Ia подгруппе обнаруживали реже (10,0% и 26,3% соответственно), но также без статистически значимого отличия ( $p>0.05$ ). *G. vaginalis* (15,0% и 26,3%) и *E. faecalis* выделяли с частотой (10,0% и 10,5%) соответственно.

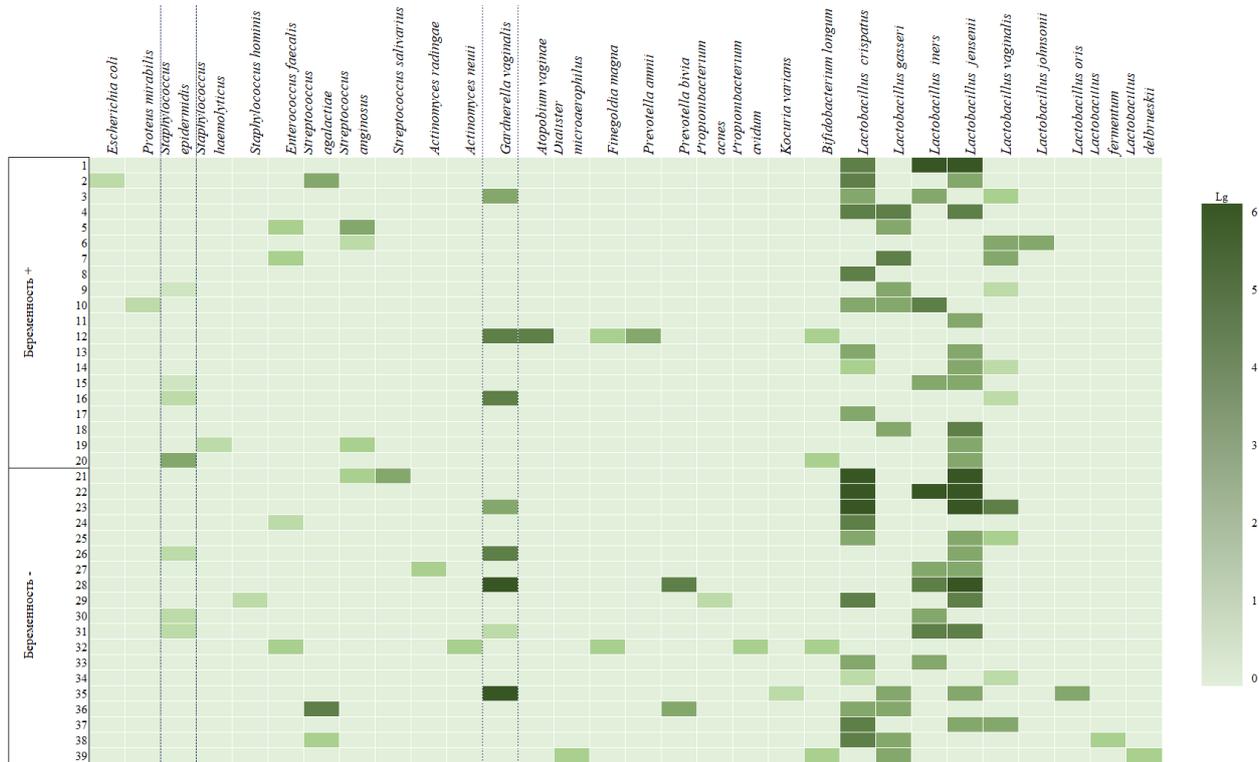
Среди УПМ более частая колонизация цервикального канала факультативными анаэробами среди забеременевших женщин и, напротив – строгими анаэробами – у незабеременевших не получила статистического подтверждения, что не позволяет выявить возможные колонизационные факторы риска, препятствующие наступлению беременности.

Учитывая, что на репродуктивные исходы может оказывать влияние не только видовой состав микроорганизмов, заселяющих нижние отделы гениталий, присутствие их в монокультуре или в составе различных ассоциаций, но и степень обсемененности ими соответствующего биотопа, была проведена количественная оценка видového состава и более крупных таксономических единиц микробиоты цервикального канала (рисунок 3).

Из диаграммы следует, что в умеренном или в большом количестве наиболее часто выделяли лактобациллы, чаще у женщин с наступившей беременностью, чем у незабеременевших (90,0% и 73,7% соответственно), однако статистически значимой разницы не выявлено ( $p>0,05$ ).

УПМ выделяли преимущественно в низком титре. Исключение составляют гарднерелла, стрептококки и облигатно-анаэробные микроорганизмы. Так, *G. vaginalis* в основном обнаружена в умеренном или высоком титре: у забеременевших женщин выявлена только в умеренном титре (15,0%), но и среди незабеременевших ее редко выявляли в низкой концентрации – 5,3 % (в высокой - 10,5% и в умеренной - 10,5% соответственно). Стрептококки у забеременевших женщин были обнаружены в низком и умеренном титрах с одинаковой частотой (10,0%), а у женщин с отсутствием беременности в 10,5 и 5,3% соответственно. Облигатно-анаэробные микроорганизмы, напротив, несколько чаще выявляли в низком (15,8%) или среднем титре (10,5%) у женщин с отсутствием беременности, но также без существенной разницы. Прочие УПМ: энтерококки, энтеробактерии

и актиномицеты колонизировали цервикальный канал только в низкой концентрации.



**Рисунок 3. Сравнительный анализ количественного состава микрофлоры, выделенной у пациенток с I попыткой ЭКО (n=39)**

Примечание: статистически значимой разницы в частоте выделения указанных микроорганизмов в низком, умеренном или высоком титре у забеременевших и незабеременевших женщин не обнаружено ( $p > 0,05$ ); КОЕ-колониеобразующие единицы

Таким образом, у пациенток I группы с наступившей и с отсутствием беременности статистически значимой разницы в частоте выделения из цервикального канала лактобацилл и УПМ как в низкой, так и в умеренной или высокой концентрации, не установлено. Обнаружена более частая колонизация лактобациллами в умеренной или высокой концентрации у женщин с наступившей беременностью. У женщин с отсутствием беременности более частое выделение *G. vaginalis* в умеренном (10,5 %) или высоком (10,5%) титрах, а также облигатно-анаэробных микроорганизмов в низком (15,8%) или среднем титрах (10,5%), однако без статистически значимой разницы, что не указывает на их выраженное влияние на наступление беременности.

#### 4.1.2 Микробиота цервикального канала у женщин с повторными неудачами имплантации и ПЭ в цикле овариальной стимуляции (II группа)

Во II группе женщин стерильных образцов отделяемого цервикального канала не было. Суммарно выделено 23 вида микроорганизмов: 12 видов УПМ 11 видов комменсалов – лактобацилл.

Видовой состав выделенной микрофлоры представлен в таблице 11. Среднее количество видов на 1 женщину у пациенток этой группы составило 0,85.

В составе УПМ выявлены факультативно-анаэробные микроорганизмы четырёх родов (*Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Haemophilus*), микроаэрофилы (*G. vaginalis*) и строгие анаэробы четырёх родов (*Atopobium*, *Dialister*, *Fingoldia* *Prevotella*). Анализ частоты выделения отдельных групп микроорганизмов показан на рисунке 4.

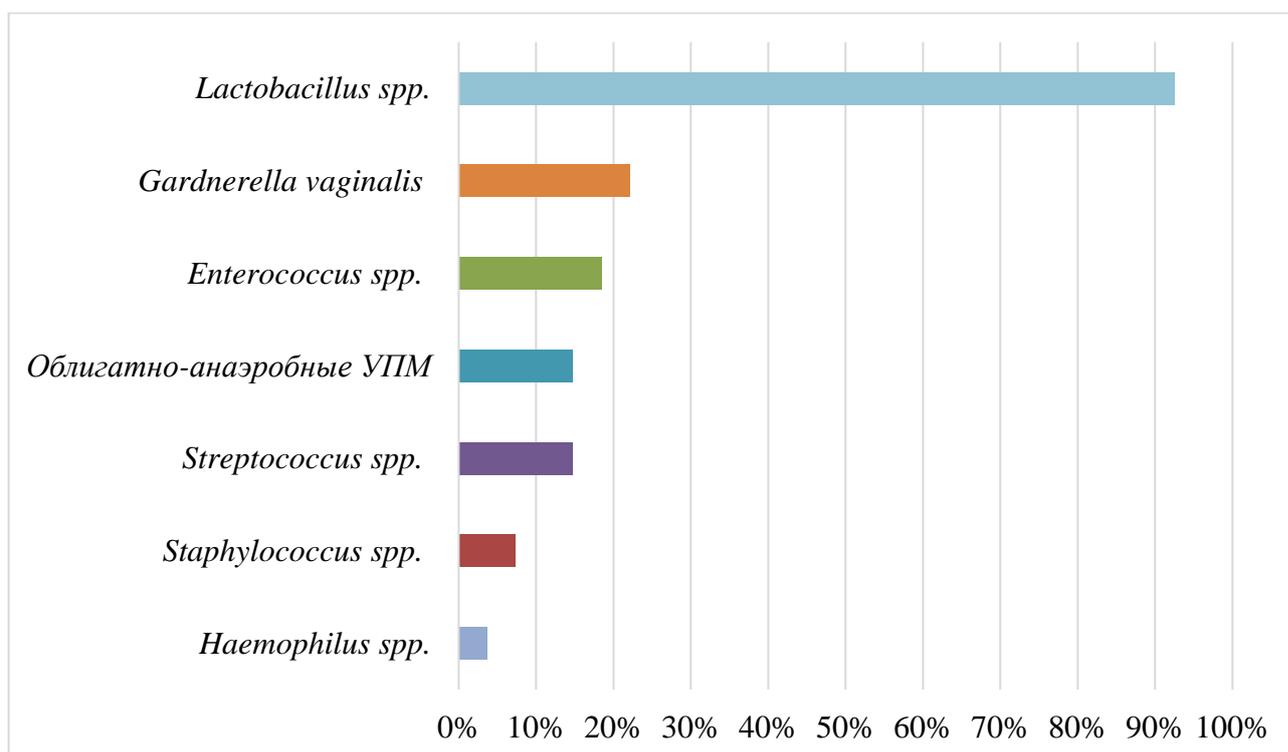
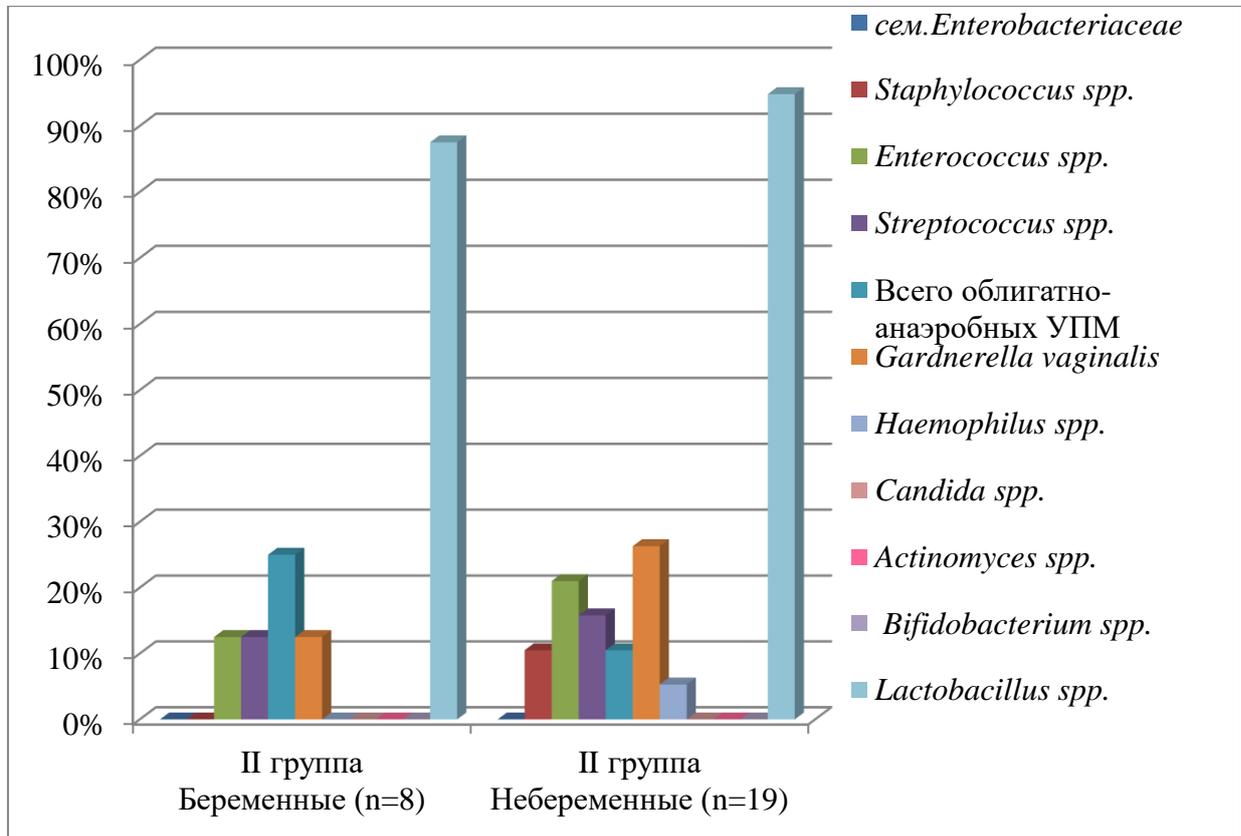


Рисунок 4. Микробиота цервикального канала у пациенток с ПНИ и с ПЭ в цикле овариальной стимуляции (n=27)

Из данных, представленных на диаграмме, следует, что наиболее часто встречались лактобациллы (92,6%). Среди УПМ выделены факультативные анаэробы: энтерококки (18,5%), стрептококки (14,8%) и коагулазоотрицательные

стафилококки (7,4%). Частота выделения *G. vaginalis* составила 22,2%, облигатно-анаэробных микроорганизмов составила 14,8%.

Для оценки возможного влияния выделенной микрофлоры на наступление беременности проведён сравнительный анализ состава микробиоты среди женщин с наступившей беременностью и её отсутствием (рисунок 5).



**Рисунок 5. Частота выделения микроорганизмов у пациенток с ПНИ и ПЭ в цикле овариальной стимуляции в зависимости от наступления беременности и ее отсутствия (n=27)**

Примечание: статистически значимой разницы в частоте выделения указанных микроорганизмов не обнаружено ( $p > 0,05$ )

У женщин с наступившей беременностью (IIa подгруппа) и у женщин с отсутствием беременности (IIб подгруппа) преобладающими в составе микробиоты и выявляемыми с частотой 87,5% и 94,8% соответственно, были лактобациллы. УПМ несколько чаще выделяли во IIa подгруппе (62,5%) в сравнении с IIб подгруппой (52,6%), но без статистически значимой разницы ( $p > 0,05$ ).

В составе УПМ у забеременевших женщин несколько реже, чем у женщин с отсутствием беременности выявляли факультативные анаэробы:

коагулазоотрицательные стафилококки (0% и 10,5% соответственно), стрептококки, преимущественно *S. anginosus* (12,5% и 15,8% соответственно), энтерококки (12,5% и 21,0% соответственно). *G. vaginalis* чаще обнаруживали у женщин с отсутствием беременности (26,3%). Строгие анаэробы (*A. vaginae*, *Prevotella bivia*, *Fingoldia magna*) чаще обнаружены у забеременевших женщин (25,0% и 10,5% соответственно), но статистической разницы для отдельных видов и родов микроорганизмов не выявлено.

Среди УПМ более частая колонизация цервикального канала факультативными анаэробами и *G. vaginalis* среди незабеременевших женщин и, напротив, – строгими анаэробами у забеременевших не получила статистического подтверждения, что не позволяет рассматривать колонизацию цервикального канала УПМ в качестве прогностического фактора наступления беременности.

Для оценки возможного влияния уровня микробной колонизации цервикального канала микроорганизмами на наступление беременности проведён анализ степени обсеменённости выделенной микрофлоры (таблица 11, приложение).

Сравнительные данные по частоте выделения основных групп микроорганизмов в низкой концентрации (до  $10^3$  КОЕ/мл отделяемого), а также и в умеренном или высоком титре ( $10^4 - 10^7$  КОЕ/мл) у пациенток с ПНИ и ПЭ в цикле овариальной стимуляции в зависимости от наступления беременности показаны на рисунке 6.



**Рисунок 6. Сравнительный анализ количественного состава микрофлоры, выделенной у пациенток с ПНИ и ПЭ в цикле овариальной стимуляции (n=27)**

Примечание: статистически значимой разницы в частоте выделения указанных микроорганизмов в низком, умеренном или высоком титре у забеременевших и незабеременевших женщин не обнаружено ( $p > 0,05$ ); КОЕ-колониеобразующие единицы

Из диаграммы следует, что лактобациллы в умеренном или в большом количестве чаще выделяли у женщин с отсутствием беременности, чем у забеременевших (63,2% и 50,0% соответственно), однако статистически значимой разницы не выявлено ( $p > 0,05$ ). УПМ высевали как в низком, так в умеренном или высоком титре. Так, энтерококк и коагулазоотрицательные стафилококки обнаружены только в низкой концентрации, стрептококки в обеих группах высевали преимущественно в низком и умеренном титре при доминировании в группе женщин с отсутствием беременности (12,5% и 15,8% соответственно). Гарднерелла обнаружена в обеих подгруппах в умеренном количестве (12,5% и 21,1% соответственно) и в высоком титре (5,3%) у женщин с отсутствием беременности. Строгие анаэробы в низком и умеренном титре выделяли чаще у забеременевших женщин с одинаковой частотой (12,5%), а у женщин с отсутствием беременности – только в умеренном титре (10,5%). Однако обращает на себя

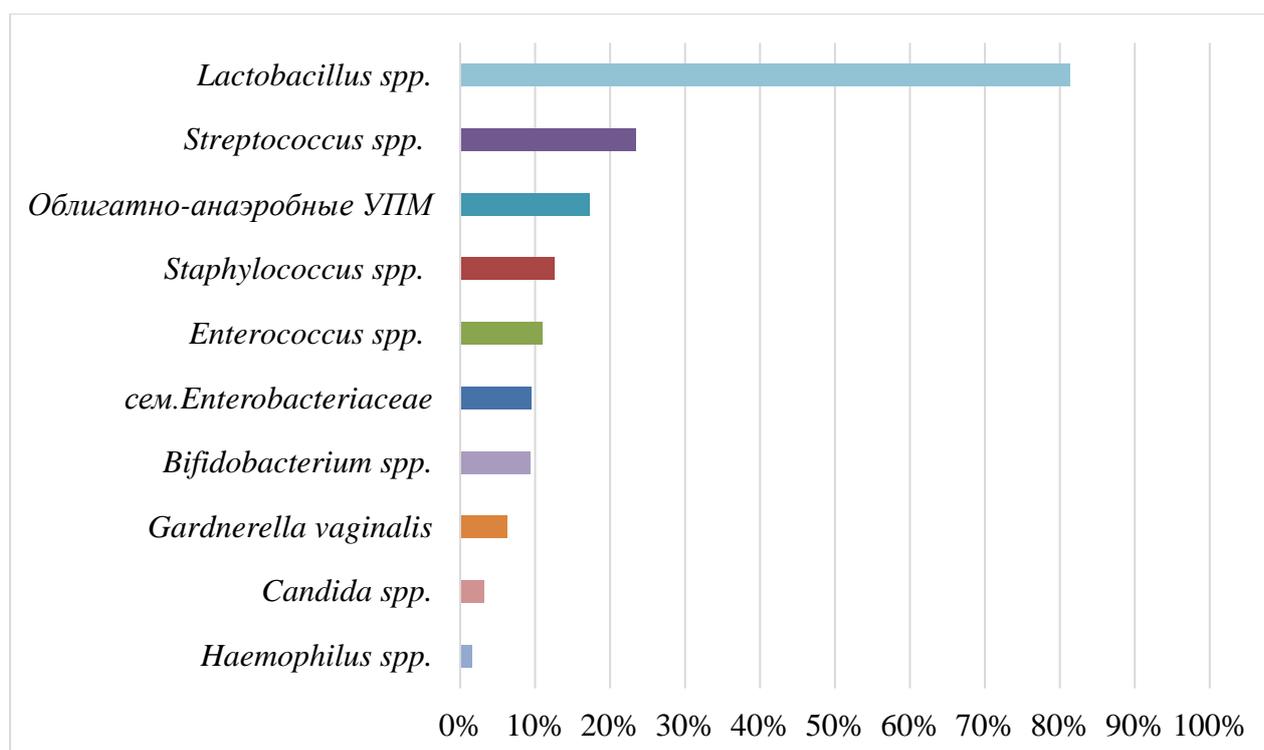
внимание обнаружения микроорганизма нетипичного для биотопа репродуктивного тракта – *Haemophilus influenzae* в умеренном титре КОЕ/мл ( $10^5$  КОЕ/мл) у женщины с отсутствием беременности.

Таким образом, во II группе среди забеременевших женщин колонизационные показатели проявлялись в более низкой частоте выделения лактобацилл, определяющих колонизационную резистентность биотопа, и более низкой степени обсемененности ими цервикального канала и, напротив, более частой колонизации цервикального канала УПМ (облигатными анаэробами) в низком и умеренном титре. Наличие в цервикальном канале, анатомически максимально приближенном к полости матки, микроорганизмов, в том числе УПМ в умеренном титре не оказало значимого влияния на имплантацию.

#### **4.1.3 Микробиота цервикального канала у женщин с повторными неудачами имплантации и ПЭ в криоцикле (III группа)**

В III группе у 7,8% женщин отделяемое цервикального канала было стерильным. Суммарно выделено 42 вида: 25 видов УПМ и 15 видов комменсалов. У 2 женщин выделены дрожжевые грибы рода *Candida*. Видовой состав выделенной микрофлоры представлен в таблице 11 (приложение). Среднее количество видов на 1 женщину у пациенток этой группы составило 0,62.

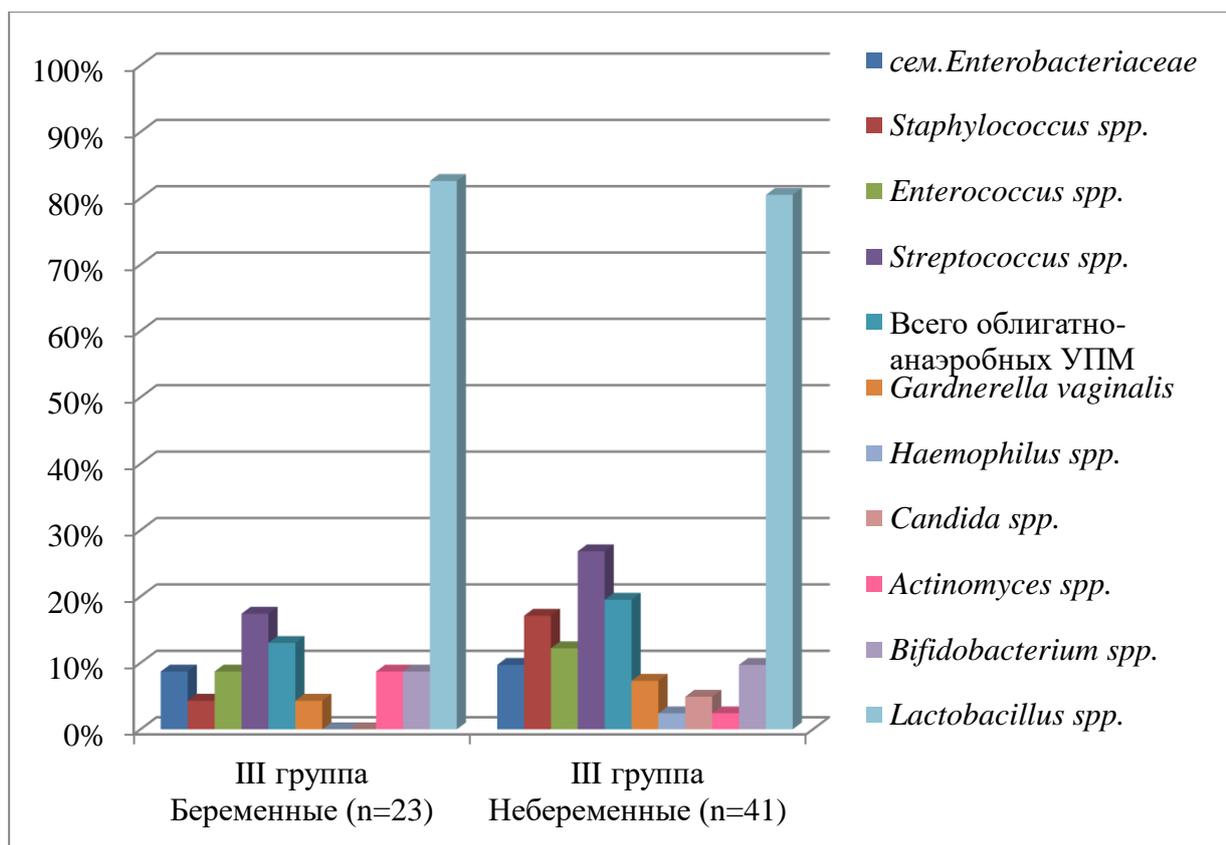
В составе УПМ выявлены факультативно-анаэробные микроорганизмы 10 родов (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Facklamia*, *Kocuria*), микроаэрофилы (*G. vaginalis*) и строгие анаэробы 8 родов (*Atopobium*, *Veillonella*, *Anaerococcus*, *Dialister*, *Finegoldia*, *Peptoniphilus*, *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Prevotella*). Комменсальная часть микробиоты представлена 3 родами: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* и *Alloscovidovia*. Анализ частоты выделения отдельных групп УПМ показан на рисунке 7.



**Рисунок 7. Микробиота цервикального канала у женщин с ПНИ и ПЭ в криоцикле (n=64)**

По данным, представленным на диаграмме видно, что с максимальной частотой у пациенток III группы в цервикальном канале обнаруживали лактобациллы (81,3%). Среди УПМ доминировали факультативно-анаэробные микроорганизмы: *Streptococcus spp.* (23,4%), *Staphylococcus spp.* (12,5%), *Enterococcus spp.* (10,9%), энтеробактерии (9,4%). Частота выделения *G. vaginalis* составила 6,3%, облигатно-анаэробных – 17,2%, дрожжевых грибов (*Candida spp.*) – 3,1%. У каждой десятой женщины (9,3%) обнаружены бифидобактерии.

Проведён сравнительный анализ состава микрофлоры цервикального канала среди женщин с наступившей беременностью и её отсутствием (рисунок 8).



**Рисунок 8. Частота выделения различных микроорганизмов у пациенток с ПНИ и ПЭ в криоцикле в зависимости от наступления беременности или ее отсутствия (n=64)**

Примечание: статистически значимой разницы в частоте выделения указанных микроорганизмов не обнаружено ( $p > 0,05$ )

У женщин с наступившей беременностью (IIIа подгруппа) и у женщин с отсутствием беременности (IIIб подгруппа) преобладающей частью микробиоты, выявляемой с близкой частотой (82,6% и 80,5% соответственно), были лактобациллы. УПМ выделяли реже, чем лактобациллы, но практически с одинаковой частотой в обеих подгруппах женщин (56,5% и 53,7% соответственно). Статистически значимой разницы в частоте обнаружения лактобацилл и УПМ в подгруппах не выявлено ( $p > 0,05$ ).

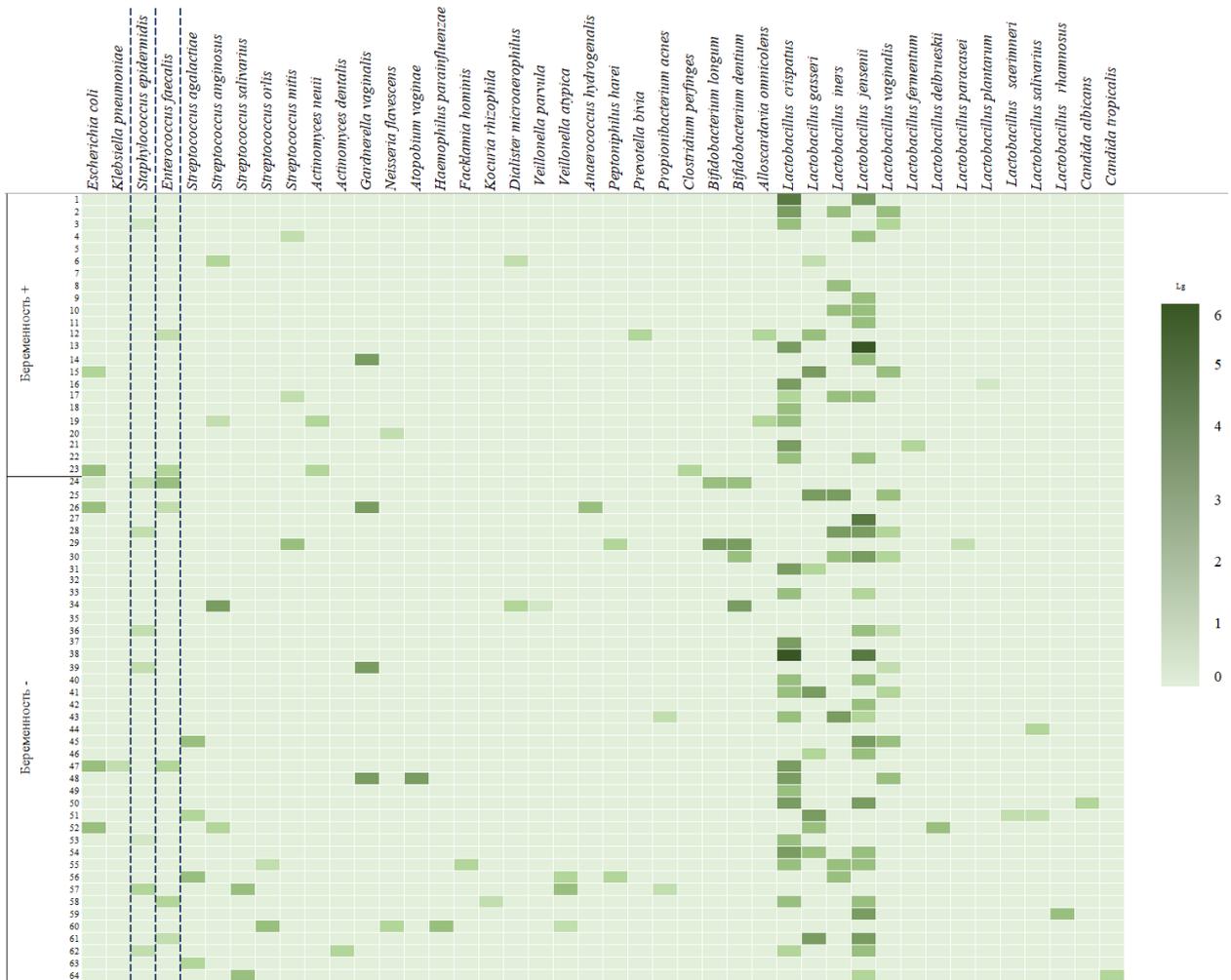
В составе микробиоты среди выявленных УПМ как у забеременевших, так и с отсутствием беременности женщин несколько чаще выявляли факультативные анаэробы: энтеробактерии (8,7% и 9,7% соответственно), коагулазоотрицательные стафилококки (4,3% и 17,1% соответственно), стрептококки (17,4% и 26,8% соответственно), энтерококки (8,7% и 12,2% соответственно), но статистически

значимого отличия для отдельных видов и родов микроорганизмов не выявлено. Также не обнаружено существенной разницы в частоте колонизации цервикального канала *G. vaginalis* (4,3% и 7,3% соответственно) и строгими анаэробами (*V. atypica*, *Peptoniphilus harei*, *D. microaerophilus*, *P. acnes* и *F. magna*) (13,0% и 19,5% соответственно).

Таким образом, среди забеременевших и незабеременевших женщин с ПНИ с ПЭ в криоцикле статистически значимой разницы в частоте обнаружения лактобацилл и УПМ (суммарно) не выявлено. УПМ из групп факультативных и облигатных анаэробов и гарднереллы, стрептококков несколько чаще обнаруживали у пациенток с отсутствием беременности, но без статистически значимого доминирования ( $p > 0,05$ ).

Учитывая, что на репродуктивные исходы может оказывать влияние степень обсемененности цервикального канала как УПМ, так и комменсалов, проведена количественная оценка видового состава и более крупных таксономических единиц микробиоты (таблица 11, приложение).

Сравнительные данные по частоте выделения УПМ в низкой, умеренной или высокой концентрации у пациенток с ПНИ и ПЭ в криоцикле в зависимости от наступления беременности показаны на рисунке 9.



**Рисунок 9. Сравнительный анализ количественного состава микрофлоры, выделенной у пациенток с ПНИ и ПЭ в криоцикле (n=64)**

Примечание: статистически значимой разницы в частоте выделения указанных УПМ в низком, умеренном или высоком титре у забеременевших и незабеременевших женщин не обнаружено ( $p>0,05$ ); КОЕ-колониеобразующие единицы

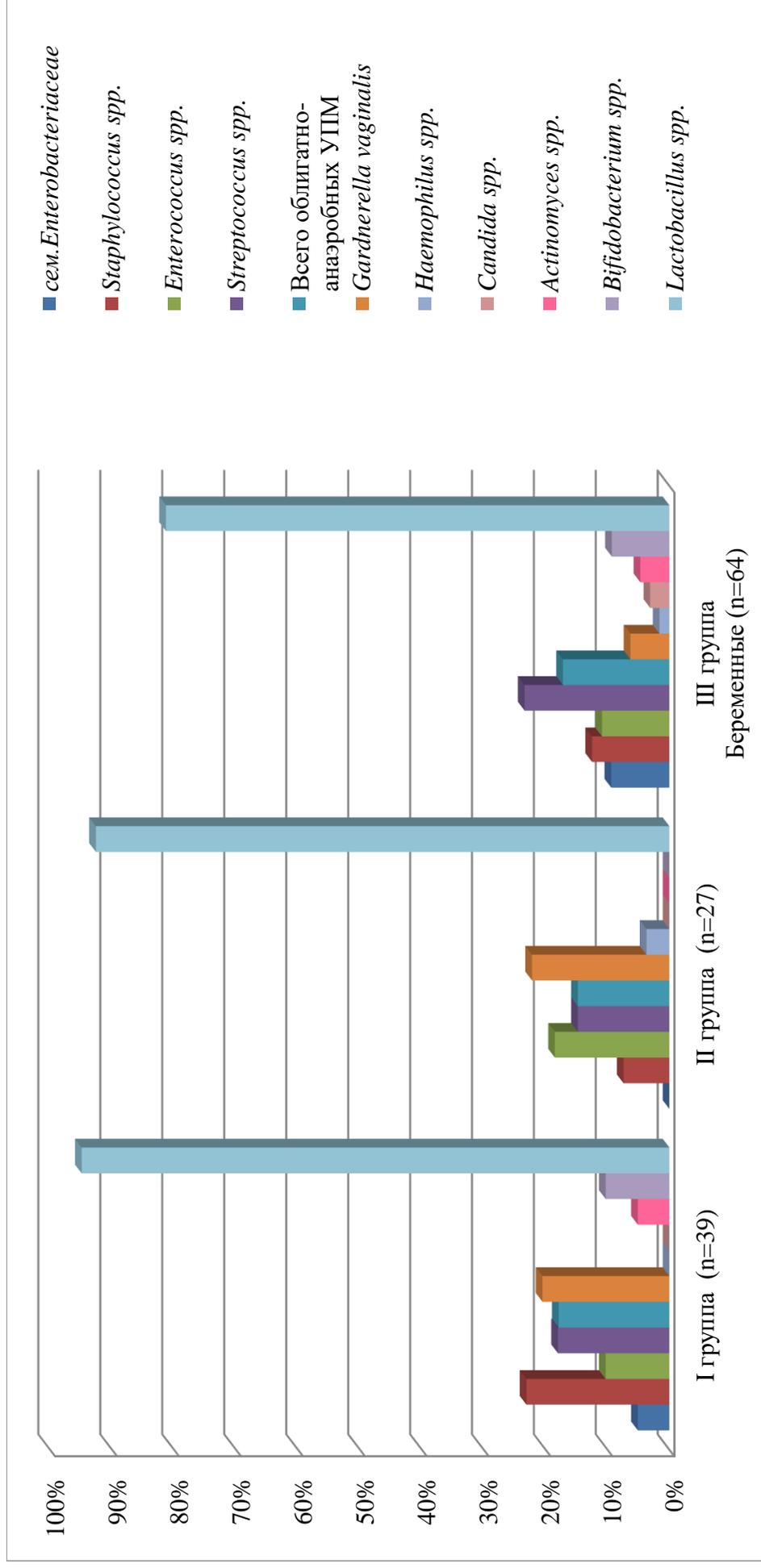
Из диаграммы следует, что в умеренном или в большом количестве лактобациллы выделяли чаще у женщин с наступившей беременностью, чем у незабеременевших (60,9% и 51,2% соответственно), однако статистически значимой разницы не выявлено ( $p>0,05$ ). УПМ выделяли преимущественно в низком титре. Исключение составляет гарднерелла, которая обнаружена в обеих подгруппах только в умеренном количестве (4,3% и 7,3% соответственно), а также строгие анаэробы, которые у забеременевших женщин выявляли только в низкой концентрации (13,0%), а среди пациенток с отсутствием беременности – с одинаковой частотой в низком и умеренном титре (по 9,75%). Стрептококки

обнаружены у забеременевших женщин чаще в низком титре (17,4%), а у незабеременевших (26,8%) – в низком (9,8%) и в умеренном (17,0%) титрах. Энтеробактерии, выделенные у забеременевших женщин с одинаковой частотой в низком и умеренном количестве (по 4,3%), а у незабеременевших – реже в небольшом количестве (2,4%) и чаще - в умеренном (7,3%). Коагулазоотрицательные стафилококки и энтерококки присутствовали практически всегда в низком титре. Следует отметить, что статистически значимого отличия в частоте колонизации цервикального канала упомянутыми группами микроорганизмов в низком и, что более важно, в умеренном количестве между женщинами с наступившей беременностью и ее отсутствием не выявлено ( $p>0.05$ ). Однако обращает на себя внимание обнаружение микроорганизма, нетипичного для биотопа репродуктивного тракта – *Haemophilus parainfluenzae* в умеренном титре КОЕ/мл ( $10^5$  КОЕ/мл) у женщин с отсутствием беременности.

Таким образом, у пациенток III группы с ПНИ и ПЭ в криоцикле с отсутствием беременности реже, чем у забеременевших пациенток отмечена колонизация цервикального канала лактобациллами в высоком или умеренном титре. УПМ (стрептококки, энтеробактерии, строгие анаэробы и гарднерелла) преимущественно были обнаружены в низком и в умеренном титрах. Однако наметившаяся тенденция при отсутствии статистически значимой разницы указанных показателей не позволяет в полной мере считать снижение титра лактобацилл, а также возрастание численности УПМ до умеренных значений рассматривать как фактор риска ненаступления беременности.

#### **4.1.4 Сравнение микробиоты цервикального канала среди групп женщин, включенных в исследование**

Данные сравнительного анализа микробиоты цервикального канала среди женщин исследуемых групп представлены на рисунке 10.



**Рисунок 10. Сравнительные результаты частоты выделения микроорганизмов у женщин, включенных в исследование (n=130)**

Примечание: статистически значимой разницы в частоте колонизации цервикального канала отдельными группами микроорганизмов не обнаружено ( $p > 0,05$ ).

Стерильным оказалось отделяемое цервикального канала только у 7,8% пациенток с ПНИ и ПЭ в криоцикле (III группа). У всех женщин с попыткой ЭКО (I группа) и ПНИ с ПЭ в цикле овариальной стимуляции (II группа) выделены УПМ. Видовой состав выделенных из цервикального канала микроорганизмов оказался разнообразным (таблица 11, приложение). Доминирующими во всех группах были лактобациллы (16 видов), обнаруженные у пациенток I, II и III групп с частотой 94,9% 92,6% и 81,3% соответственно.

Второй по частоте встречаемости составляющей микробиоты цервикального канала были УПМ: в I группе – у 66,6% женщин, во II – у 55,5%, в III – у 52,2%. Энтеробактерии чаще встречались у женщин с ПНИ и ПЭ в криоцикле (III группа) (9,4%) по сравнению с женщинами I (5,1%) и II (0%) групп. Также с большей частотой у пациенток III группы выделяли стрептококки (23,4%) по сравнению с женщинами с I попыткой ЭКО (18,0%) и II группой (14,8%).

Стафилококки чаще высевали у пациенток с I попыткой ЭКО (23,1%) по сравнению с пациентками с ПНИ (II и III группы) (7,4% и 12,5% соответственно). Однако частота выделения энтерококков оказалась выше у женщин II группы (18,5%) по сравнению с пациентками I (10,3%) и III групп (10,9%).

Высеваемость облигатно – анаэробных бактерий была примерно одинаковой во всех группах и составила в I группе 15,5%, во II – 14,8% и в III – 17,2%. Частота выделения *G. vaginalis* оказалась заметно выше у женщин I (20,5%) и II групп (22,2%) по сравнению с пациентками III группы (6,3%), однако разница оказалась статистически незначимой ( $p=0,06$ ). Бифидобактерии обнаружены только у пациенток I (10,3%) и III групп (9,3%).

Таким образом, наиболее часто встречающейся составляющей в микробиоте цервикального канала во всех группах женщин были лактобациллы, которые несколько чаще встречались у женщин с ПЭ в цикле овариальной стимуляции (I и II группы) в сравнении с женщинами с ПЭ в криоцикле (III группа), но без статистически значимого различия. Во всех группах преобладали по частоте колонизации два вида *L. jensenii* и *L. crispatus*, также с некоторым преобладанием у женщин I и II групп ( $p>0,05$ ). УПМ обнаружены у каждой второй женщины во

всех группах (с незначительным преобладанием в I группе). Статистически значимого отличия во всех группах, касающегося колонизации цервикального канала факультативными и облигатными анаэробами, не наблюдалось.

Таким образом, отсутствие статистически значимой разницы в частоте и в количестве выделенных микроорганизмов в цервикальном канале у женщин обследуемых групп с наступившей беременностью, и ее отсутствием не позволило выявить возможные колонизационные факторы риска, влияющие на частоту имплантации.

## 4.2 Результаты культурального исследования микробиоты полости матки у женщин, включенных в исследование

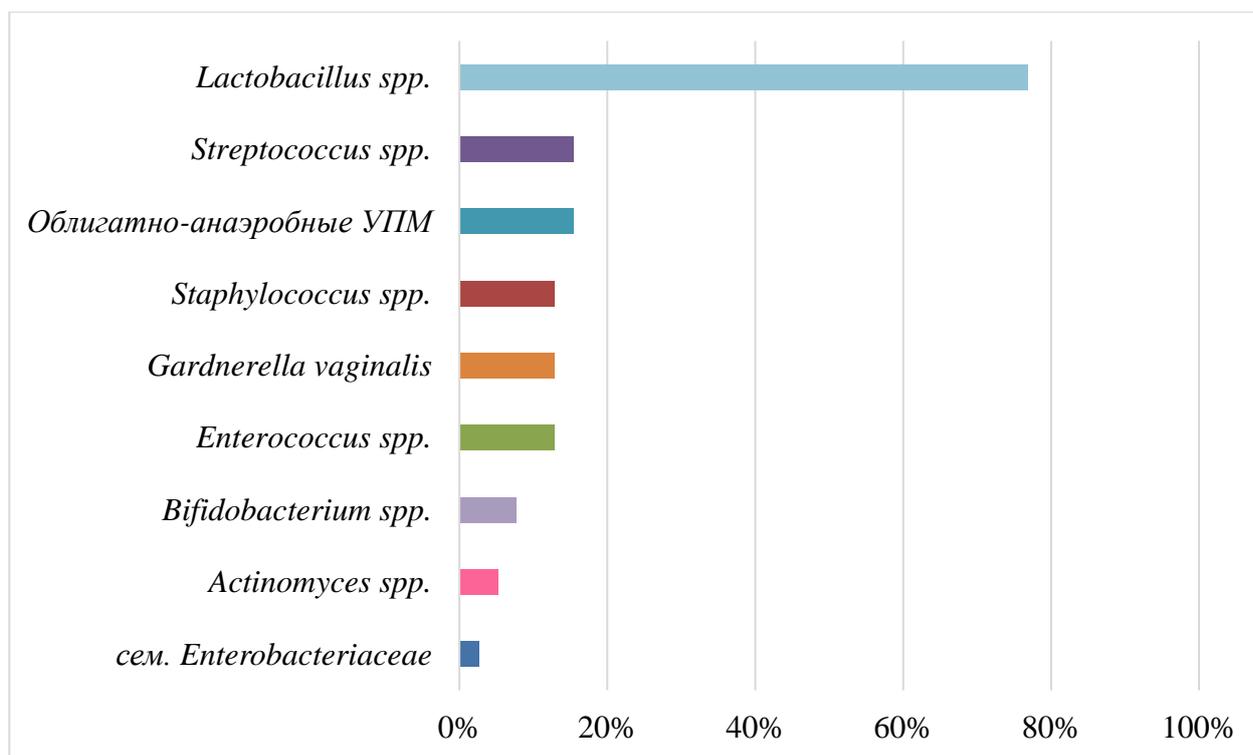
Как уже было сказано выше, после переноса эмбриона в полость матки дистальный фрагмент эмбриокатетера срезали стерильными ножницами и помещали в пробирку со средой накопления (1 мл), используемой для гемокультур. После 48 часов культивирования состав микробиоты исследовали методом культуромики.

### 4.2.1 Микробиота полости матки у женщин с I попыткой ЭКО и ПЭ в цикле овариальной стимуляции (I группа)

Учитывая высокую вероятность низкой степени обсемененности полости матки микроорганизмами, для их выделения использовали жидкую питательную среду с целью предварительного накопления микробной массы.

В I группе женщин полость матки оказалась стерильной всего в 10,3% случаев. У пациенток суммарно обнаружены микроорганизмы 29 видов: 17 видов УПМ (в цервикальном канале – 20 видов) и 12 видов комменсалов, представляющие нормофлору вагинальной микробиоты (9 видов лактобацилл и 3 вида бифидобактерий) (в цервикальном канале – 10 видов комменсалов). Среднее количество видов на 1 женщину у пациенток этой группы составило 0,7.

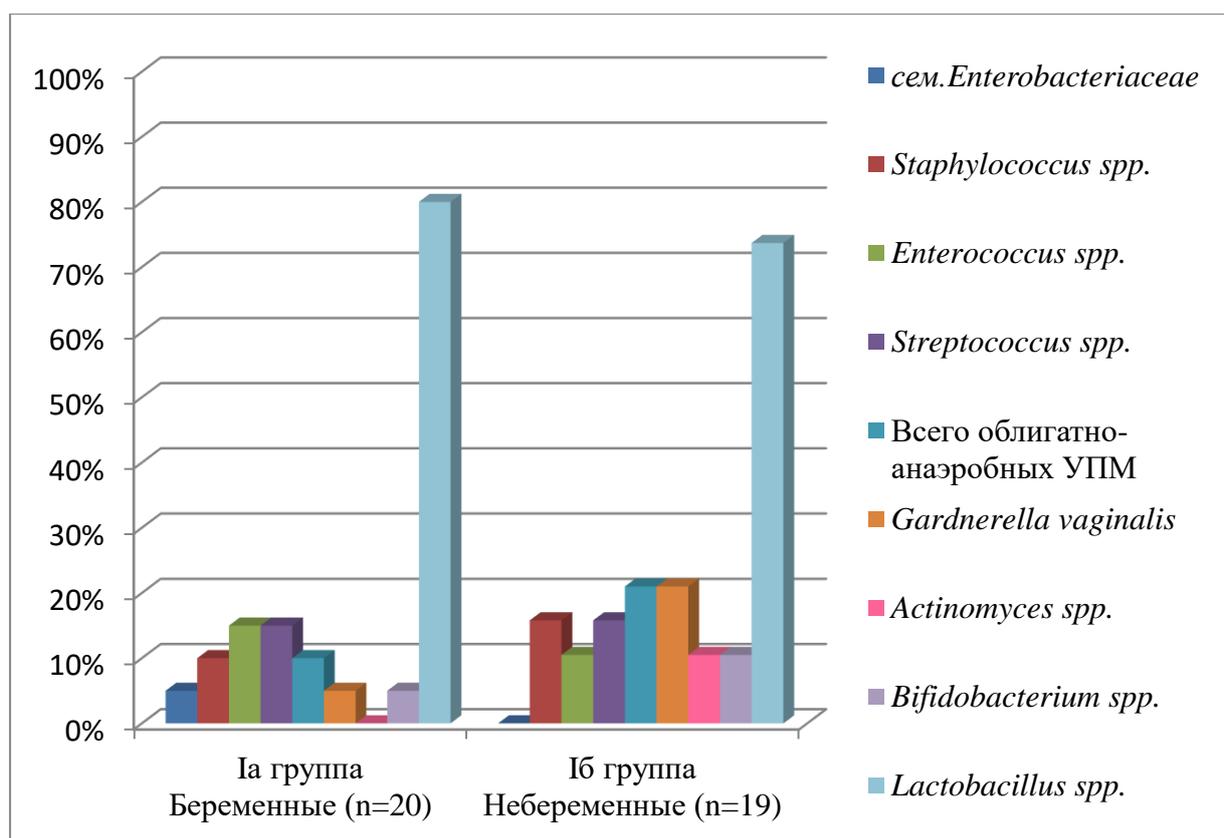
Видовой состав выделенной микрофлоры представлен в таблице 12 (приложение). Выявлены факультативно-анаэробные микроорганизмы шести родов (*Proteus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Actinomyces*), микроаэрофилы (*Gardnerella vaginalis*) и строгие анаэробы четырёх родов (*Atopobium*, *Veillonella*, *Dialister*, *Propionibacterium*). Анализ частоты выделения отдельных групп микроорганизмов показан на рисунке 11.



**Рисунок 11. Частота выделения различных микроорганизмов из полости матки у женщин с I попыткой ЭКО (n=39)**

Установлено, что в I группе женщин наиболее часто выделяли лактобациллы (76,9%). Среди факультативно-анаэробных УПМ приблизительно с одинаковой частотой обнаруживали стрептококки (15,4%) (преимущественно *Streptococcus anginosus* (*S. anginosus*)) – 12,8%, коагулазоотрицательные стафилококки - 12,9% и энтерококки (*Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*)) - 12,8%, реже - актиномицеты (5,2%) и энтеробактерии (2,6%). *G. vaginalis* выделена у 12,8% женщин, а облигатно-анаэробные микроорганизмы встречались с частотой 15,4% без существенного доминирования какого-либо вида.

Для выявления возможного влияния микрофлоры полости матки на наступление беременности проведён сравнительный анализ микробиоты у женщин с наступившей беременностью (подгруппа Ia) и её отсутствием (подгруппа Ib) (рисунок 12).



**Рисунок 12. Частота выделения различных микроорганизмов из полости матки у пациенток с I попыткой ЭКО в зависимости от наступления беременности или ее отсутствия (n=39)**

Примечание: статистически значимой разницы в частоте выделения указанных микроорганизмов не выявлено ( $p > 0,05$ )

В подгруппе женщин Ia с наступившей беременностью доминирующими были лактобациллы (у 80,0% женщин). Среди УПМ наиболее часто встречались *E. faecalis* и стрептококки – *S. anginosus* с одинаковой частотой (15,0%). *G. vaginalis* обнаруживали у 5,0%, а облигатно-анаэробные микроорганизмы у 10,0% женщин.

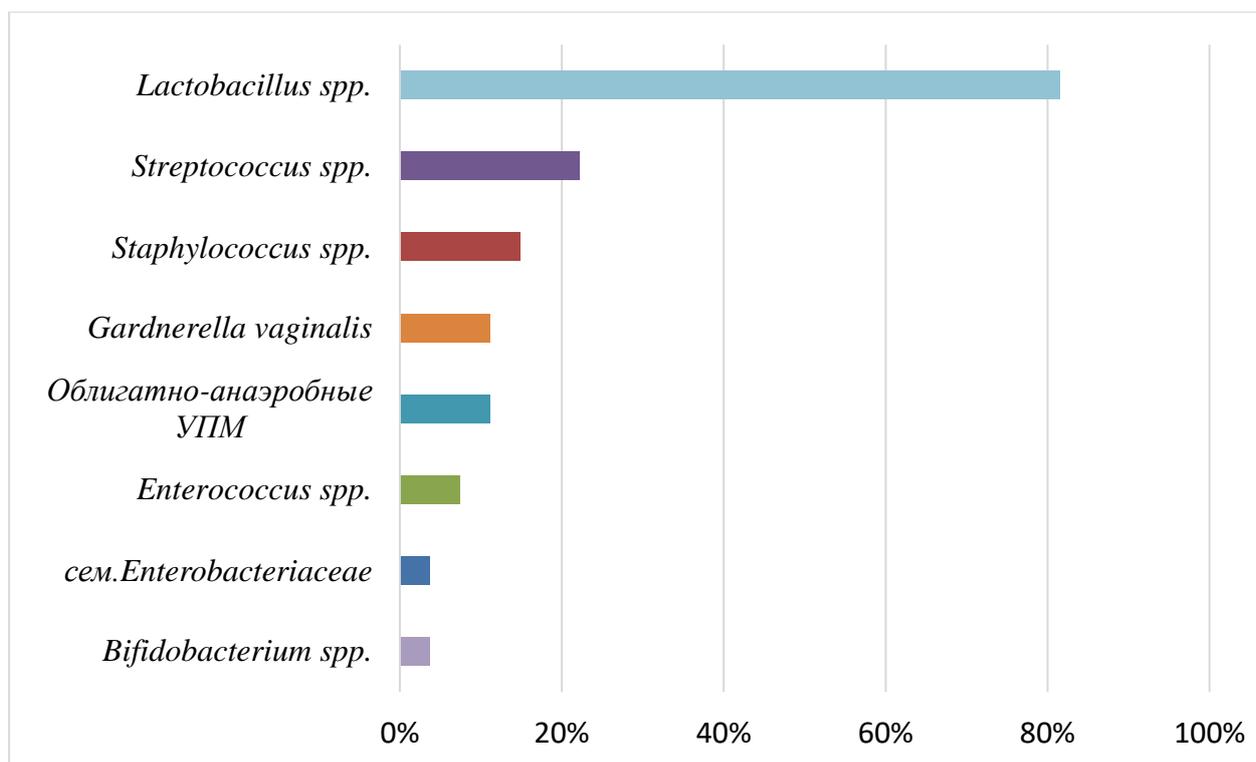
У женщин подгруппы Ib с отсутствием беременности частота выделения лактобацилл оказалась несколько ниже, чем у женщин с наступившей беременностью (73,7%). В составе УПМ наиболее часто встречались коагулазоотрицательные стафилококки (15,8%) (преимущественно *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*), (10,5%)) и стрептококки (15,8%) (преимущественно *S. anginosus*, 10,5%). Актиномицеты обнаружены у 10,6% женщин. Обращает на себя внимание, что *G. vaginalis* и облигатно-анаэробные УПМ выделены у 21,0% женщин.

Таким образом, соотношение суммарной частоты выделения лактобацилл и УПМ у женщин с наступившей беременностью (80,0 и 45,0% соответственно) и её отсутствием (73,7 и 47,4% соответственно) существенно не отличалось ( $p>0,05$ ). Так же не выявлено значимой разницы в видовом составе микробиоты полости матки в момент переноса эмбриона и частоте выделения отдельных видов и групп УПМ. Исключение составили *G. vaginalis* и строгие анаэробы, которые обнаружены соответственно в 4 и в 2,1 раза чаще у пациенток с отсутствием беременности, однако эта разница оказалась статистически не значимой ( $p>0,05$ ).

#### **4.2.2 Микробиота полости матки у женщин с повторными неудачами имплантации и ПЭ в цикле овариальной стимуляции (II группа)**

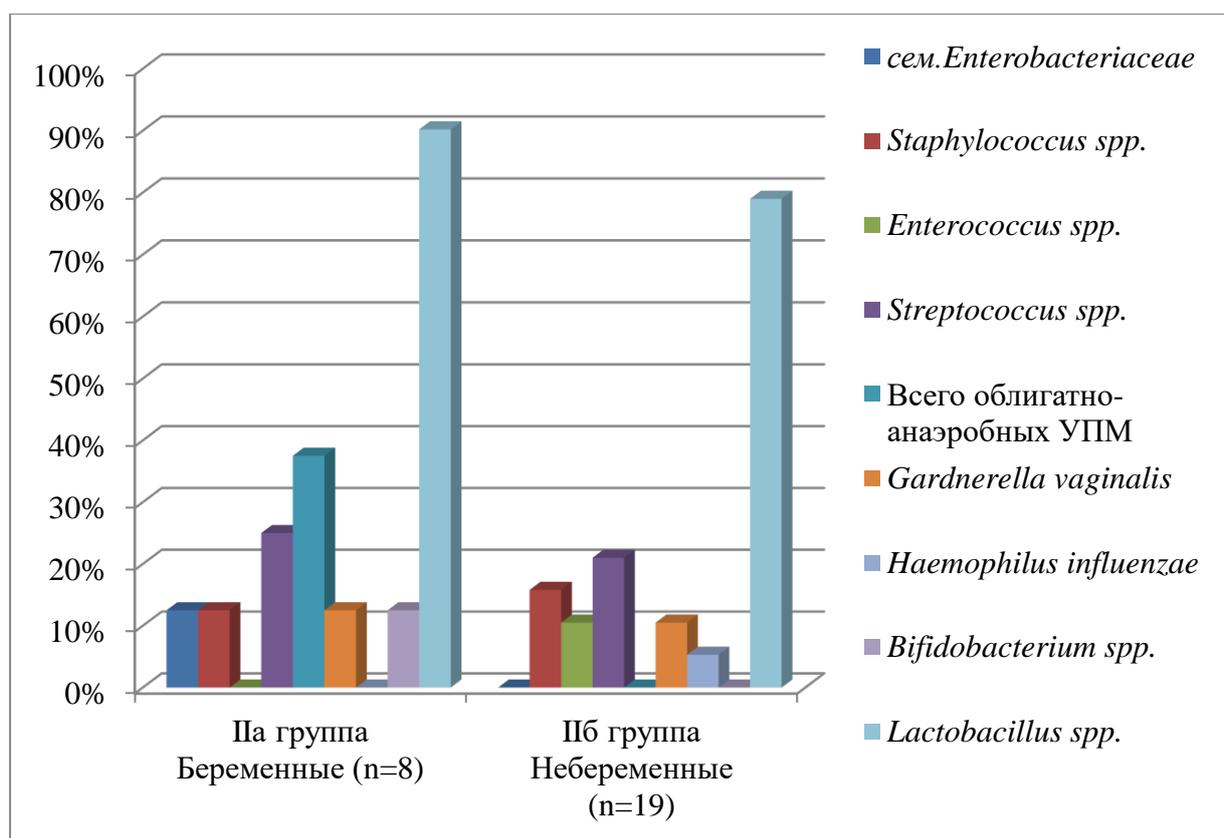
Во II группе у женщин полость матки оказалась стерильной в двух случаях (7,4%). Суммарно обнаружено 17 видов микроорганизмов, что меньше, чем в цервикальном канале (в цервикальном канале - 23): 11 видов УПМ и 6 видов – комменсалов (5 видов лактобацилл и 1 вид бифидобактерий) (в цервикальном канале 12 видов УПМ и 11 видов комменсалов).

Видовой состав выделенной микрофлоры представлен в таблице 12 (приложение). Среднее количество видов на 1 женщину у пациенток этой группы составило 0,6. В составе УПМ выявлены факультативно-анаэробные микроорганизмы пяти родов (*Escherichia*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Haemophilus*), микроаэрофилы (*G. vaginalis*) и строгие анаэробы двух родов (*Veillonella* и *Propionibacterium*). Анализ частоты выделения отдельных групп микроорганизмов показан на рисунке 13.



**Рисунок 13. Частота выделения различных микроорганизмов из полости матки у женщин с ПНИ и ПЭ в цикле овариальной стимуляции (n=27)**

Из данных, представленных на диаграмме, следует, что у женщин II группы с наибольшей частотой выделяли лактобациллы (81,5%). Среди УПМ обнаружены факультативно-анаэробные микроорганизмы: стрептококки (22,2%) (*S. anginosus* – 18,5% и *S. agalactiae* – 7,4%), коагулазоотрицательные стафилококки (14,8%) (*S. epidermidis* – 3,7%, *S. haemolyticus* и *S. hominis* – 7,4%), энтерококки (*E. faecalis*) (7,4%) и энтеробактерии (*Escherichia coli* (*E. coli*)) (3,7%). *G. vaginalis* и облигатно-анаэробные микроорганизмы обнаружены с равной частотой (11,1%). Сравнительный анализ микробиоты полости матки среди женщин с наступившей беременностью и её отсутствием представлен на рисунке 14.



**Рисунок 14. Частота выделения различных микроорганизмов из полости матки у женщин с ПНИ и ПЭ в цикле овариальной стимуляции в зависимости от наступления беременности или ее отсутствия (n=27)**

Примечание: Па- Пб облигатно-анаэробные УПМ (p=0,03)

Во II группе наиболее часто выделяемыми микроорганизмами оказались у женщин с наступившей беременностью лактобациллы (90,2%). Среди УПМ доминировали факультативные анаэробы: стрептококки (25,0%) (преимущественно *S. anginosus* – 25%), стафилококки (преимущественно *S. hominis*) (12,5%), энтеробактерии (*E. coli*) (12,5%). *G. vaginalis* обнаружена у 12,5% женщин. У женщин с наступившей беременностью частота выделения облигатно-анаэробных микроорганизмов оказалась достоверно выше, чем у женщин с отсутствием беременности (p=0,03). Среди облигатно-анаэробных микроорганизмов (37,5%) наиболее часто встречались: *Veillonella atypica* (*V. atypica*) (25,0%) и *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) (12,5%).

У женщин с отсутствием беременности (Пб подгруппа) колонизация матки лактобациллами оказалась несколько ниже – 79,0%. В составе УПМ также, как и во

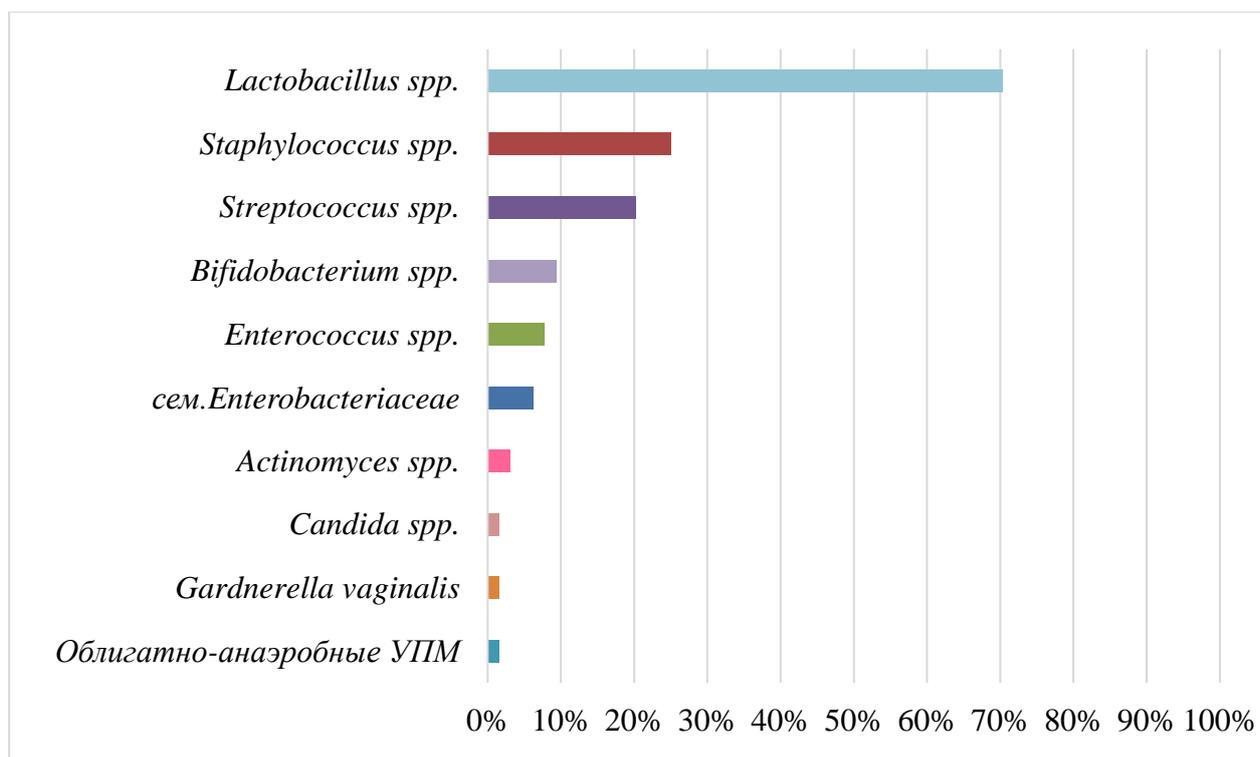
На подгруппе, чаще высеивали факультативные анаэробы: стрептококки (21,0%) и коагулазоотрицательные стафилококки (преимущественно *S. haemolyticus* -10,5% и *S. epidermidis* – 5,3%). Частота выделения *G. vaginalis* составила 10,5%. Обязатно-анаэробные микроорганизмы не обнаружены.

Таким образом, на момент переноса эмбриона статистически значимого отличия в частоте выделения лактобацилл и УПМ у пациенток с наступившей беременностью (90,2 и 50,0%, соответственно) и её отсутствием (79,0 и 42,1%, соответственно) не выявлено ( $p>0,05$ ). При относительно мало отличающейся частоте колонизации матки лактобациллами у женщин с наступившей беременностью выявлена большая частота выделения УПМ, с которыми ассоциируются инфекционно – воспалительные процессы при акушерско-гинекологической патологии: *S. anginosus*, *E. coli* и облигатных анаэробов, что, однако, не повлияло на наступление беременности.

#### **4.2.3 Микробиота полости матки у женщин с повторными неудачами имплантации в анамнезе и ПЭ в криоцикле (III группа)**

В III группе женщин полость матки была стерильной в восьми случаях (12,5%). Суммарно обнаружено 35 видов микроорганизмов, что меньше, чем в цервикальном канале (в цервикальном канале – 42 вида): 19 видов УПМ и 16 видов – комменсалов (12 видов лактобацилл и 4 вида бифидобактерий) (в цервикальном канале - 25 видов УМП и 15 комменсалов). Среднее количество видов на 1 женщину составило 0,5.

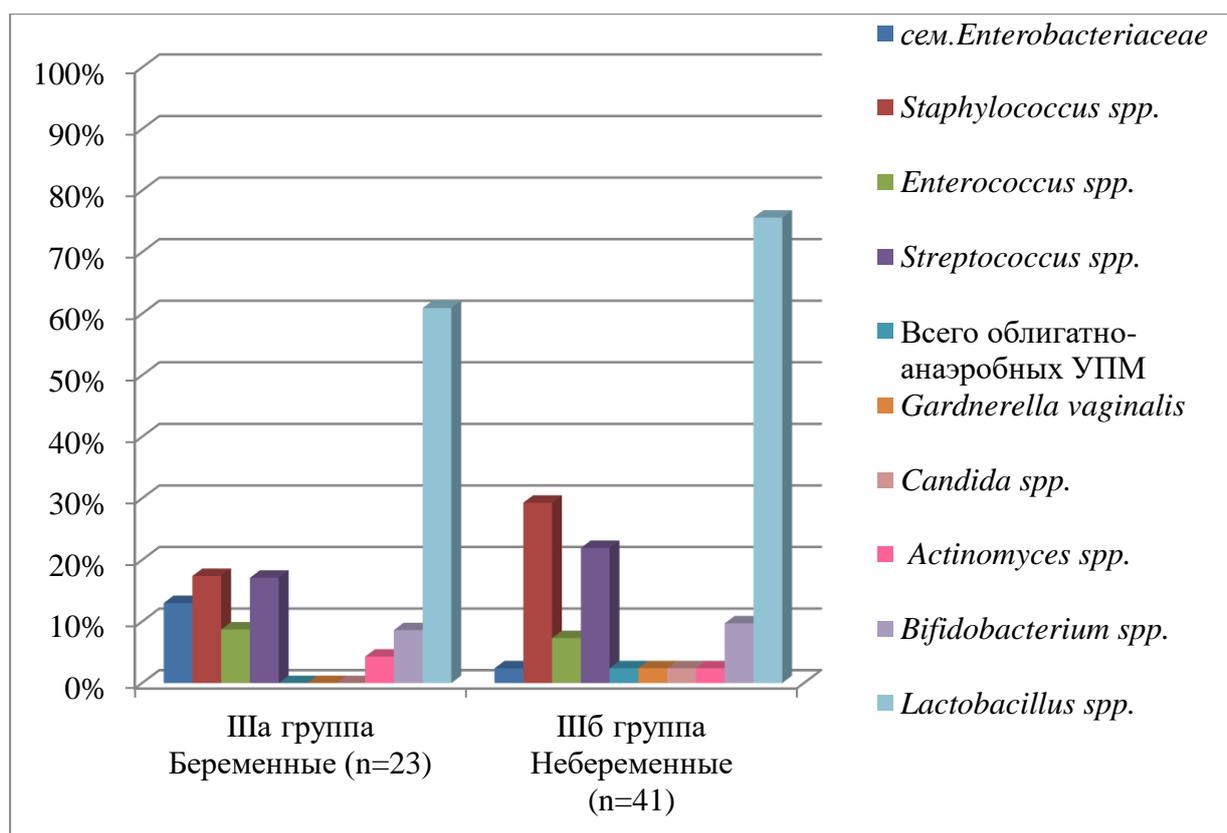
Видовой состав выделенной микрофлоры представлен в таблице 12 (приложение). Среди выявленных УПМ обнаружены факультативно-анаэробные микроорганизмы восьми родов (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Neisseria*, *Micrococcus*, *Actinomyces*), микроаэрофилы (*G. vaginalis*) и строгие анаэробы 1 рода (*Propionibacterium*). Анализ частоты выделения отдельных групп микроорганизмов показан на рисунке 15.



**Рисунок 15. Частота выделения различных микроорганизмов из полости матки у женщин с ПНИ и ПЭ в криоцикле (n=64)**

Установлено, что у пациенток III группы наиболее часто встречавшимися микроорганизмами были лактобациллы (70,3%). У каждой десятой женщины обнаружены бифидобактерии (9,4%). Обращает на себя внимание, что среди УПМ абсолютно доминировали факультативные анаэробы: *Streptococcus spp.* (20,3%) (преимущественно *S. anginosus* – 9,4%), *Staphylococcus spp.* (25,0%) (преимущественно *S. epidermidis* – 18,8%), *Enterococcus spp.* (7,8%), энтеробактерии (6,25%) и актиномицеты (3,1%). *G. vaginalis* и облигатно-анаэробные микроорганизмы обнаруживали крайне редко с равной частотой (1,6%).

Результаты сравнительного анализа таксономического состава микрофлоры, выделенной из полости матки у пациенток с наступившей беременностью (подгруппа IIIа) и ее отсутствием (подгруппа IIIб) представлены на рисунке 16.



**Рисунок 16. Частота выделения различных микроорганизмов у женщин с ПНИ и с ПЭ в криоцикле в зависимости от наступления беременности или ее отсутствия (n=64)**

Примечание: статистически значимой разницы в частоте выделения указанных микроорганизмов не обнаружено ( $p > 0,05$ )

У женщин с наступившей беременностью (подгруппа IIIa) лактобациллы обнаружены с частотой – 60,9%, но частота выделения УПМ была сопоставимой с частотой колонизации матки лактобациллами (56,5%). Среди УПМ наиболее часто выделяли факультативные анаэробы: коагулазоотрицательные стафилококки (17,4%) (преимущественно *S. epidermidis* (17,4%)), стрептококки (17,4%), (преимущественно *S. anginosus* (13%)), энтеробактерии (13,0%) (преимущественно *E. coli*) и энтерококки (8,7%) - *E. faecalis*. Обращает на себя внимание отсутствие облигатно-анаэробных микроорганизмов, а также *G. vaginalis*.

У женщин с отсутствием беременности (подгруппа IIIб) частота выделения лактобацилл составила 75,6%. С максимальной частотой у этой подгруппы пациенток высевали бифидобактерии (9,7%). В составе УПМ (46,3%) также преобладали факультативные анаэробы: стрептококки (21,95%) (*S. anginosus*, *S. agalactiae*, *S. salivarius*), коагулазоотрицательные стафилококки (29,3%) (*S.*

*epidermidis* – 19,5%, *S. hominis* – 9,8%) и энтерококки (*E. faecalis*) (7,3%). Частота выделения *G. vaginalis* и облигатных анаэробов составила 2,4%. *Candida* spp. были обнаружены с частотой 2,4%.

В результате исследования выявлено, что в обеих подгруппах в таксономической структуре микробиоты матки чаще выделяли лактобациллы, однако, но без статистически значимого отличия ( $p > 0,05$ ). При большем видовом разнообразии в подгруппе Шб доминирующими в обеих подгруппах были *L. jensenii* (41,5%) и *L. crispatus* (36,6%).

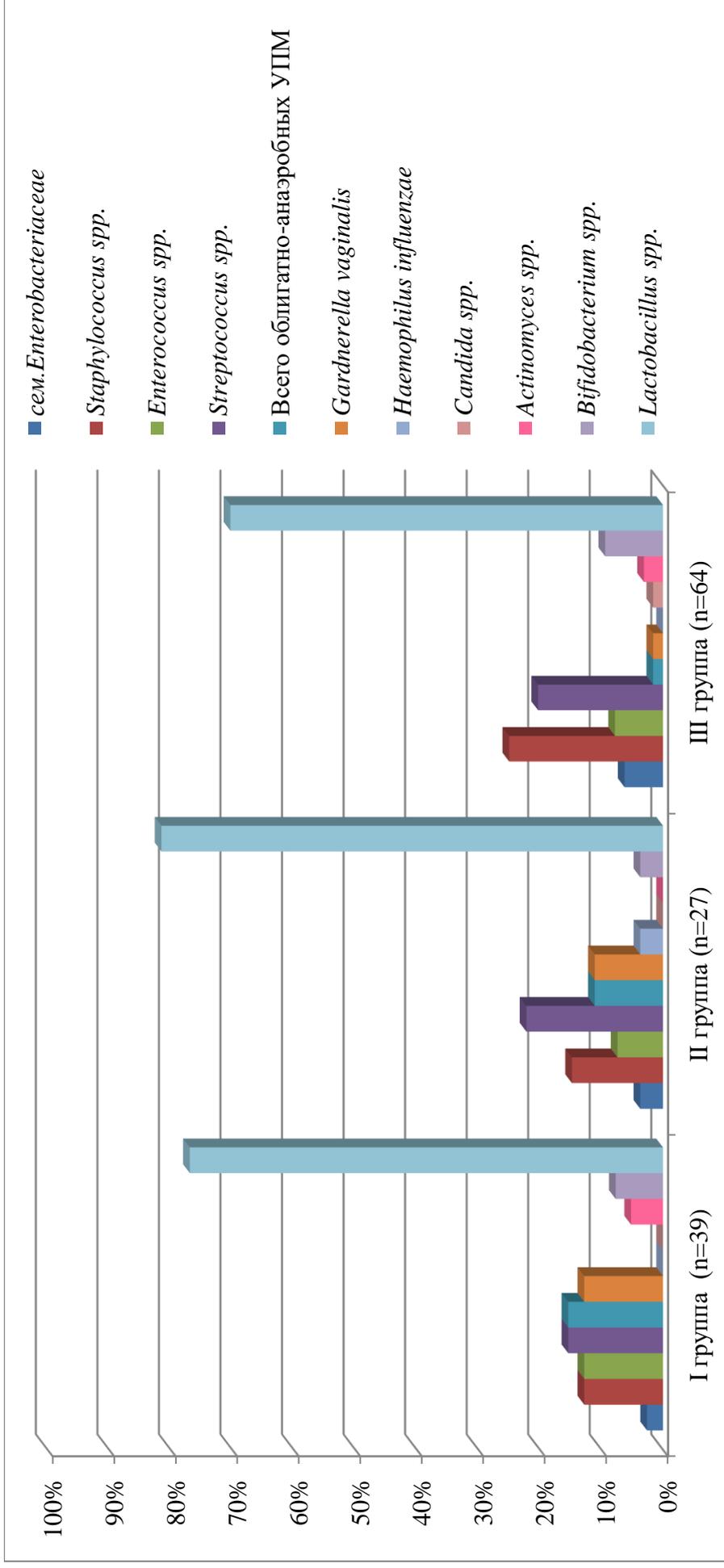
Полученные данные свидетельствуют о том, что в III группе наиболее часто встречавшимися микроорганизмами были лактобациллы (70,3%). У каждой десятой женщины выделены бифидобактерии (9,4%). У каждой второй (50,0%) обнаружены УПМ, преимущественно из группы факультативных анаэробов при минимальном содержании строгих анаэробов и *G. vaginalis*.

Сравнительная оценка состава микробиоты полости матки у женщин в зависимости от наступления беременности показала, что статистически значимого отличия в микробном пейзаже в обеих подгруппах в момент переноса эмбриона не было. Более того, у женщин с наступившей беременностью относительно меньшая частота колонизации матки лактобациллами, определяющими колонизационную резистентность биотопа, и относительно большая колонизация УПМ, в том числе этиологически значимыми (энтерококки, энтеробактерии), не повлияли на наступление беременности.

#### **4.2.4 Сравнение состава микробиоты полости матки у женщин, включенных в исследование**

По данным культурального исследования содержимого полости матки 130 женщин, микрофлора обнаружена в 90% случаев. Установлено, что полость матки у женщин I, II и III групп стерильна только в 10,3%, 7,4% и 10,9% случаев соответственно. Результаты сравнения частоты выявления микроорганизмов в группах представлены в таблице 12 (приложение).

Видовой состав выделенных из полости матки микроорганизмов оказался разнообразным. Доминирующими во всех группах были лактобациллы (14 видов), из которых чаще встречались три вида – *L. jensenii*, *L. crispatus* и *L. vaginalis*. Частота выделения *L. jensenii* в сравниваемых группах составила 48,7%, 51,9% и 40,6% соответственно. Высеваемость *L. crispatus* соответственно составила 35,9%; 25,9% и 31,3%. Частота встречаемости *L. vaginalis* – 2,6%, 11,1% и 9,4% соответственно. Статистически значимого отличия в частоте колонизации полости матки лактобациллами суммарно и по частоте выделения отдельных видов среди пациенток сравниваемых групп не отмечено ( $p > 0,05$ ). УПМ у пациенток I – III групп выделяли практически с одинаковой частотой (46,2%, 44,4% и 50,0% соответственно ( $p > 0,05$ )). Результаты сравнительного анализа микробиоты матки в группах обследуемых женщин представлены на рисунке 17.



**Рисунок 17. Сравнительный анализ частоты выделения микроорганизмов в группах женщин, включенных в исследование (n=130)**

Примечание: I-III *G. vaginalis* ( $p=0,05$ ); I-III облигатно-анаэробные УПМ ( $p=0,02$ )

Обращает на себя внимание, что среди факультативных анаэробов энтеробактерии чаще встречались у женщин с ПНИ и ПЭ в криоцикле (III группа) (6,25%) по сравнению женщинами с I попыткой ЭКО (I группа) (2,6%) и с ПНИ с ПЭ в криоцикле (II группа) (3,7%).

Стафилококки чаще высевались у пациенток III группы (25,0%) по сравнению с пациентками I группы (12,8%) и II группы (14,8%). Стрептококки чаще встречались у пациенток с ПНИ II (22,2%) и III групп (20,3%), по сравнению с женщинами с I попыткой ЭКО (15,4%). Однако частота выделения энтерококков была выше у женщин I группы (12,8%), чем во II (7,4%) и III группах (7,8%).

Следует отметить, что высеваемость облигатно-анаэробных микроорганизмов и *G. vaginalis* была статистически значимо выше в I группе по сравнению с III группой (строгие анаэробы – 15,4 и 1,6%; *G. vaginalis* – 12,8 и 1,6% соответственно) ( $p=0,02$ ;  $0,05$ ).

Доминирование облигатно-анаэробных микроорганизмов у женщин с ПНИ и ПЭ в цикле стимуляции с наступившей беременностью (37,5%) по сравнению с ее отсутствием (0%) ( $p=0,03$ ) в микробиоте полости матки не позволило выявить возможные колонизационные факторы риска, влияющие на частоту имплантации, учитывая маленькую выборку. Кроме того, преобладание *G. vaginalis* и облигатно-анаэробных микроорганизмов у женщин I группы не повлияло негативно на процесс имплантации.

### 4.3 Результаты метагеномного исследования полости матки

Для проведения метагеномного исследования отобраны 30 образцов биоматериала из полости матки:

- женщины с ПНИ, у которых в образцах из полости матки не обнаружено роста, а в цервикальном канале обнаружены только лактобациллы (n=5);
- женщины с I попыткой ЭКО с наступившей беременностью (n=5);
- женщины с I попыткой ЭКО с отсутствием беременности (n=5);
- женщины с ПНИ, у которых в образцах из полости матки и цервикального канала присутствовали только лактобациллы, но беременность не наступила (n=7);
- женщины с микрофлорой полости матки, отличающейся от микрофлоры цервикального канала (n=8).

В таблице приведены сравнительные данные культурального исследования и наиболее представленные (представленность выше 5%) рода бактерий по данным метагеномного секвенирования фрагмента последовательности 16S рибосомальной РНК (таблица 13).

У женщин с ПНИ (образцы №1-5), несмотря на отсутствие роста микроорганизмов в полости матки при культуральном исследовании, с помощью метагеномного анализа удалось обнаружить ДНК различных микроорганизмов. Отсутствие роста микроорганизмов скорее всего связано с малым количеством биоматериала и наличием бактерий, некультивируемых на используемых в данном исследовании питательных средах. При этом обнаружение в материале ДНК различных УПМ с помощью метагеномного анализа возможно обусловлено не только микробиотой самой полости матки, но и фоновой микрофлорой, которая могла попасть извне в ходе проведения исследования.

У забеременевших женщин с I попыткой ЭКО (образцы №6-10), преобладание УПМ в образцах из полости матки (более 50%) не повлияло на частоту наступления беременности. У женщин с отсутствием беременности с I попыткой ЭКО (образцы №11-15) в образцах из полости матки по данным

культурального и метагеномного исследований преобладали УПМ (более 50%). Однако невозможно исключить присутствие в данных образцах фоновой микрофлоры.

У женщин с ПНИ (образцы №16-22) в образцах из полости матки при культуральном исследовании присутствовали только лактобациллы и бифидобактерии. У большинства женщин (n=5) при метагеномном исследовании образцов также доминировали лактобациллы. У двух пациенток при метагеномном исследовании обнаружены УПМ, которые не выявлены при культуральном исследовании.

В результате, несмотря на доминирование лактобацилл у данной группы женщин беременность у них не наступила.

У некоторых женщин (образцы №23-30) микробиота полости матки и цервикального канала по данным культурального исследования отличались. Результаты культурального и метагеномного анализа полости матки также оказались различны. Преобладание УПМ (более 50%) у большинства женщин (n=5) по данным метагеномного анализа не помешало наступлению беременности. У одной пациентки преобладание лактобацилл в образцах из полости матки не привело к наступлению беременности.

**Таблица 13. Сравнительный анализ результатов культурального и метагеномного исследований содержимого полости матки**

Номер образца (n=30)	Результат культурального исследования	Результ метагеномного исследования
1	Нет роста	<i>Tepidimonas</i> spp. (0.23) - 23% <i>Streptococcus</i> spp. (0.09) - 9% <i>Acinetobacter</i> spp. (0.10) - 10% <i>Proteus</i> spp. (0.06) - 6% Др. - 52%
2	Нет роста	<i>Acinetobacter</i> spp. (0.81) - 81% <i>Lactobacillus</i> spp. (0.06) - 6% Др. - 13%
3	Нет роста	<i>Enterococcus</i> spp. (0.78) - 78% <i>Lactobacillus</i> spp. (0.12) - 12% Др. - 10%
4	Нет роста	<i>Streptococcus</i> spp. (0.25) - 25% <i>Tepidimonas</i> spp. (0.16) - 16% <i>Pseudomonas</i> spp. (0.11) - 11% <i>Lactobacillus</i> spp. (0.08) - 8% <i>Veillonella</i> spp. (0.07) - 7% Др. - 67%
5	Нет роста	<i>Lactobacillus</i> spp. (0.61) - 61% Др. - 39%
6	<i>V. atypica</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. vaginalis</i>	<i>Veillonella</i> spp. (0.92) - 92% Др. - 8%
7	<i>Proteus mirabilis</i> <i>S. epidermidis</i> <i>E. faecalis</i> <i>L. crispatus</i>	<i>Proteus</i> spp. (0.75) - 75% <i>Lactobacillus</i> spp. (0.09) - 9% Др. - 16%
8	<i>S. hominis</i> <i>E. faecalis</i> <i>S. anginosus</i> <i>V. atypica</i>	<i>Veillonella</i> spp. (0.67) - 67% <i>Enterococcus</i> spp. (0.14) - 14% <i>Streptococcus</i> spp. (0.11) - 11% Др. - 8%.
9	<i>G. vaginalis</i> <i>P. acnes</i> <i>L. crispatus</i>	<i>Enterococcus</i> spp. (0.53) - 53% <i>Lactobacillus</i> spp. (0.15) - 15% <i>Gardnerella</i> (0.07) - 7% <i>Acinetobacter</i> spp. (0.06) - 6% Др. - 19%.
10	<i>E. faecalis</i> <i>S. anginosus</i> <i>G. vaginalis</i>	<i>Enterococcus</i> spp. (0.71) - 71% <i>Streptococcus</i> spp. (0.24) - 24% Др. - 5%.
11	<i>S. agalactiae</i> <i>S. anginosus</i> <i>V. atypica</i> <i>Alloscardavia omnicolens</i>	<i>Veillonella</i> spp. (0.41) - 41% <i>Streptococcus</i> spp. (0.45) - 45% <i>Lactobacillus</i> spp. (0.06) - 6% Др. - 8%

Продолжение Таблицы 13

12	<i>S. epidermidis</i> <i>E. faecalis</i> <i>L. fermentum</i>	<i>Veillonella</i> spp. (0.67) - 67% <i>Streptococcus</i> spp. (0.29) - 29% Др. - 4%
13	<i>Micrococcus luteus</i> <i>L. crispatus</i>	<i>Micrococcus</i> spp. (0.53) - 53% <i>Lactobacillus</i> spp. (0.35) - 35% Др. - 12%
14	<i>Streptococcus salivarius</i> <i>L. crispatus</i> <i>L. jensenii</i>	<i>Streptococcus</i> spp. (0.69) - 69% <i>Lactobacillus</i> spp. (0.15) - 15% Др. - 16%
15	<i>G. vaginalis</i> <i>L. jensenii</i>	<i>Lactobacillus</i> spp. (0.76) - 76% <i>Gardnerella</i> (0.12) - 12% Др. - 12%
16	<i>L. jensenii</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Bifidobacterium</i> spp. (0.64) - 64% <i>Lactobacillus</i> spp. (0.22) - 22% Др. - 14%.
17	<i>L. crispatus</i> <i>L. jensenii</i>	<i>Streptococcus</i> spp. (0.06) - 6% <i>Lactobacillus</i> spp. (0.83) - 83% Др. - 11%
18	<i>L. gasseri</i> <i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactobacillus</i> spp. (0.56) - 56% <i>Diaphorobacter</i> spp. (0.12) - 12% <i>Cutibacterium</i> spp. (0.08) - 8% <i>Micrococcus</i> spp. (0.06) - 6% Др. - 18%
19	<i>L. jensenii</i>	<i>Lactobacillus</i> spp. (0.81) - 81% Др. - 19 %
20	<i>L. crispatus</i>	<i>Streptococcus</i> spp. (0.37) - 37% <i>Veillonella</i> spp. (0.31) - 31% <i>Enterococcus</i> spp. (0.17) - 17% Др. - 15%
21	<i>L. crispatus</i>	<i>Lactobacillus</i> spp. (0.88) - 88% Др. - 12%
22	<i>L. jensenii</i> <i>L. crispatus</i>	<i>Streptococcus</i> spp. (0.42) - 42% <i>Veillonella</i> spp. (0.39) - 39% <i>Enterococcus</i> spp. (0.17) - 17% Др. - 2%
23 (Б+)	<i>S. epidermidis</i> <i>Actinomyces neuui</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> <i>B. longum</i>	<i>Veillonella</i> spp. (0.24) - 24% <i>Streptococcus</i> spp. (0.19) - 19% <i>Proteus</i> spp. (0.14) - 14 % <i>Bifidobacterium</i> spp. (0.12) - 12% <i>Escherichia – Shigella</i> spp. (0.12) - 12% <i>Gillisia</i> spp. (0.09) - 9% Др. - 10%

Продолжение Таблицы 13

24 (Б+)	<i>S. agynosus</i> <i>L. johnsonii</i> <i>E. faecalis</i> <i>V. atypica</i>	<i>Veillonella</i> spp. (0.56) - 56% <i>Streptococcus</i> spp. (0.37) - 37% Др. - 7%.
25 (Б-)	<i>S. agynosus</i>	<i>Veillonella</i> spp. (0.29) - 29% <i>Streptococcus</i> spp. (0.25) - 25% <i>Gillisia</i> spp. (0.13) - 13% <i>Proteus</i> spp. (0.12) - 12% <i>Bifidobacterium</i> spp. (0.07) - 7% <i>Escherichia-Shigella</i> spp. (0.06) - 6% Др. - 8%
26 (Б+)	<i>E. coli</i> <i>Streptococcus gallolyticus</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. vaginalis</i>	<i>Escherichia-Shigella</i> spp. (0.47) - 47% <i>Streptococcus</i> spp. (0.40) - 40% Др. - 13%
27 (Б-)	<i>L. crispatus</i>	<i>Lactobacillus</i> spp. (0.86) - 86% Др. - 14%
28 (Б+)	<i>E. faecalis</i> <i>S. agynosus</i> <i>Alloscardavia omnicolones</i> <i>V. atypica</i>	<i>Veillonella</i> spp. (0.28) - 28% <i>Streptococcus</i> spp. (0.18) - 18% <i>Proteus</i> spp. (0.21) - 21% <i>Gillisia</i> spp. (0.08) - 8% <i>Bifidobacterium</i> spp. (0.06) - 6% <i>Escherichia-Shigella</i> spp. (0.09) - 9% Др. - 10%
29 (Б-)	<i>E. faecalis</i>	<i>Streptococcus</i> spp. (0.88) - 88% Др. - 12%.
30 (Б+)	<i>L. jensenii</i> <i>S. agalactiae</i> <i>P. acnes</i> <i>E. coli</i>	<i>Streptococcus</i> spp. (0.83) - 83% Др. - 17%

При метагеномном анализе для образцов со стерильной полостью матки во всех случаях обнаружена крайне низкая концентрация бактериальной ДНК, сопоставимая с концентрацией ДНК в отрицательных контрольных образцах. В этих образцах обнаружены микроорганизмы родов *Lactobacillus*, *Tepidimonas*, *Streptococcus*, *Acinetobacter*, *Proteus*, *Acinetobacter*, *Enterococcus*, *Pseudomonas*, *Veillonella*, которые так же могут определяться в отрицательных контрольных образцах.

В большинстве случаев представленность микроорганизмов в полости матки по данным культурального и метагеномного исследований совпадали. В

некоторых случаях обнаружены рода бактерий, которые не выявлены при исследовании методом культуромики. Это может объясняться наличием в образце микроорганизмов, которые по разным причинам не выросли на питательных средах, но при этом их ДНК присутствует в образце. Полученные результаты могут быть обусловлены наличием следовых количеств бактериальной ДНК в каких-то из используемых реактивов и свидетельствуют о том, что метод секвенирования не является достаточно специфичным для работы с образцами с крайне низкой концентрацией ДНК.

Представленность различных родов микроорганизмов в исследуемых образцах + отрицательные контрольные образцы

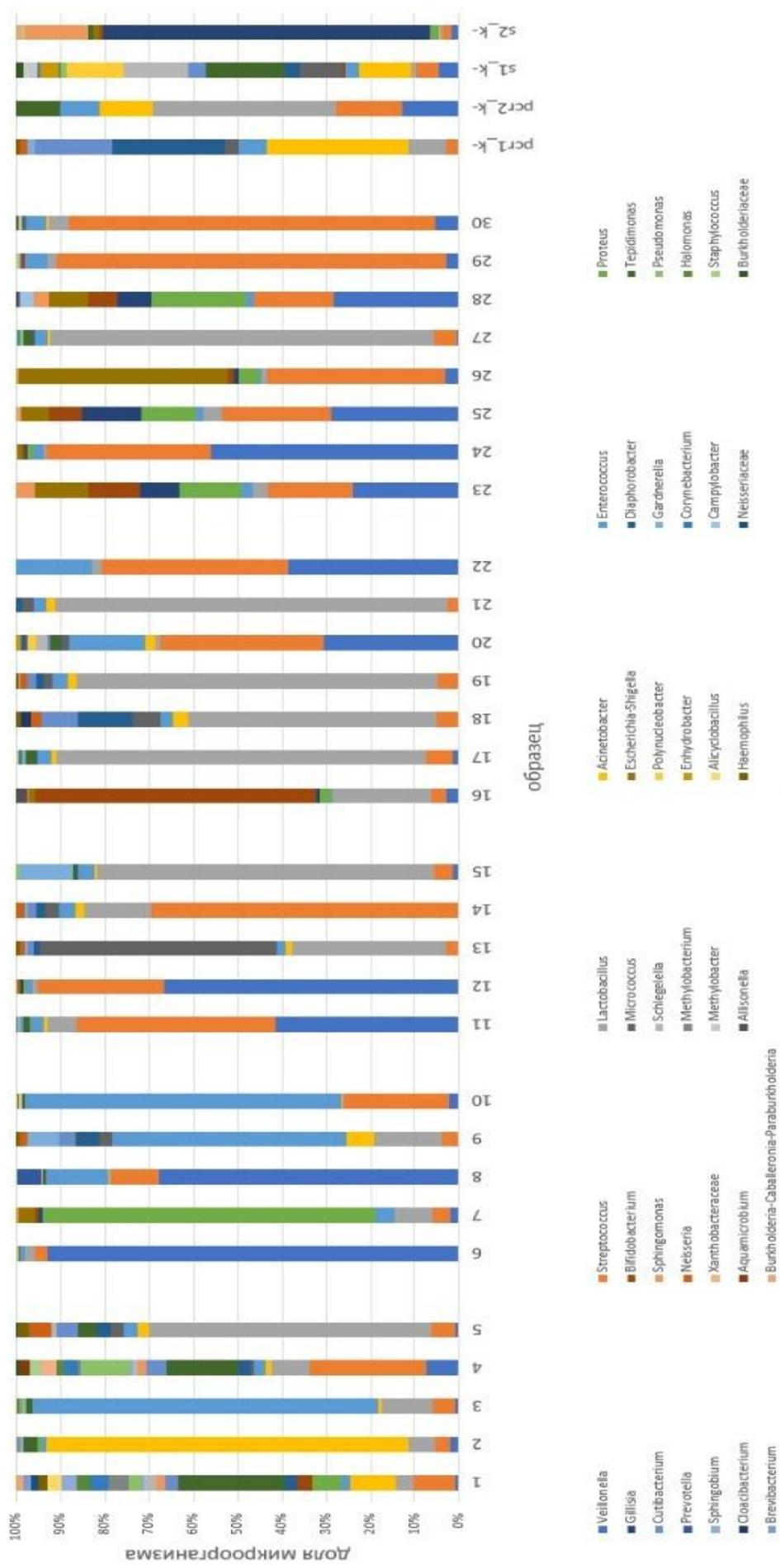


Рисунок 18. Представленность различных родов микроорганизмов в исследуемых образцах + отрицательные контрольные образцы

#### 4.4 Сравнительный анализ состава микробиоты полости матки и цервикального канала у женщин, включенных в исследование

С целью возможного влияния бактериальной обсемененности на репродуктивные исходы, нами проведён сравнительный анализ микробиоты полости матки и цервикального канала 130 женщин.

Полость матки была стерильной у 14 (10,8%) женщин. У 116 (89,2%) пациенток выявлена колонизация полости матки различными УПМ. Рост микрофлоры в цервикальном канале отсутствовал у 5 из 130 женщин (3,8%). При сравнении видового разнообразия и частоты выделения отдельных видов отмечено, что только у 14 (12,1%) из 116 женщин микробиота полости матки и цервикального канала была идентичной, а у 102 (87,9%) отличалась по качественному составу.

При сравнении частоты выделения различных компонентов микробиоты полости матки и цервикального канала отмечено, что статистически значимая разница наблюдалась в частоте выявления *G. vaginalis* ( $p=0,01$ ) и наиболее часто встречающихся видов лактобацилл: *L. crispatus* ( $p=0,01$ ), *L. gasseri* ( $p=0,01$ ), *L. vaginalis* ( $p=0,01$ ) и *L. iners* ( $p=0,01$ ) (рис. 29). По остальным видам разница оказалась статистически не значимой ( $p>0,05$ ).

*G. vaginalis* обнаружена у 19 (14,6%) из 130 женщин: только в цервикальном канале – у 10, только в полости матки – у 1 и в обоих биотопах – у 8.

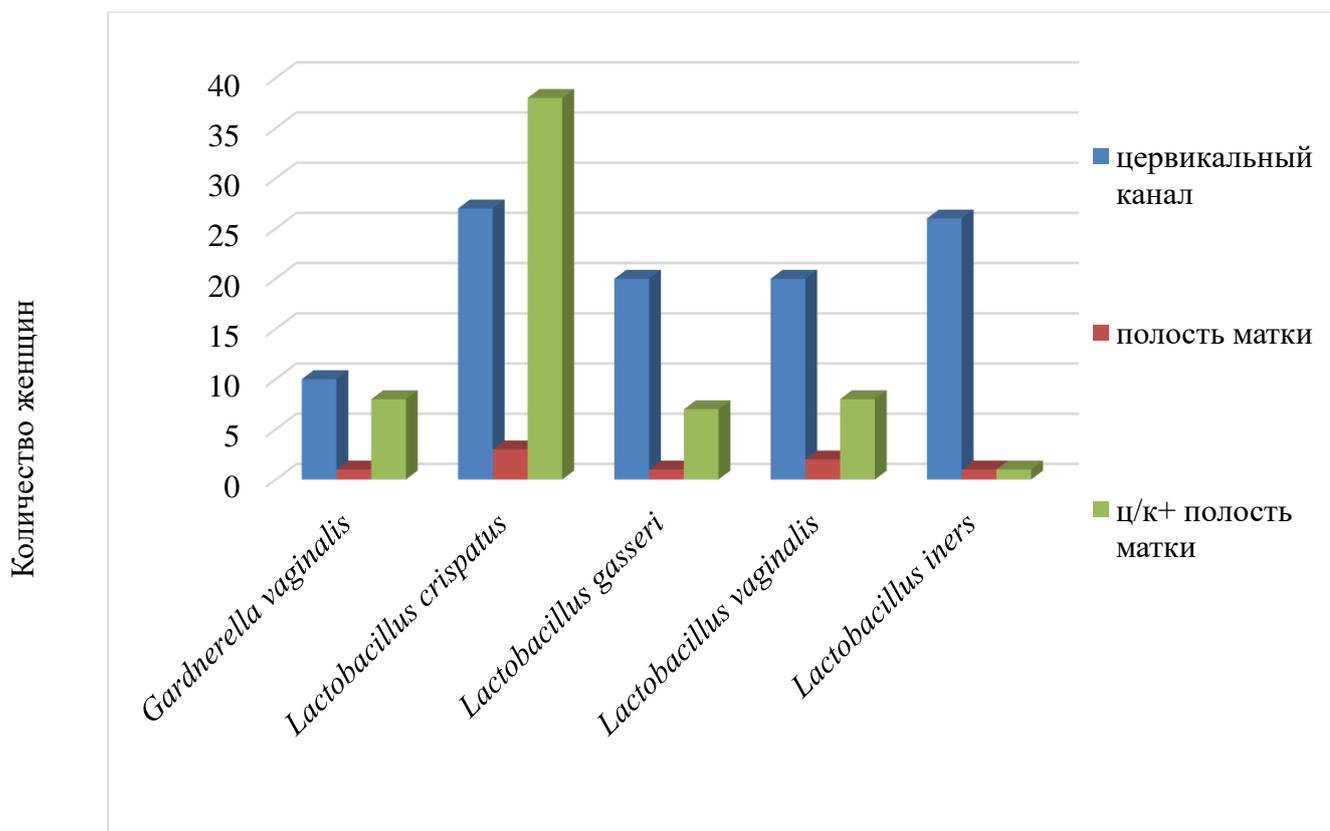
Указанные выше лактобациллы колонизировали цервикальный канал и полость матки с различной частотой. *L. crispatus* выделена у 68 из 130 (52,3%) женщин (у 27 пациенток только из цервикального канала, у 3-х - только из полости матки и у 38 – из обоих биотопов). *L. gasseri* выявлена у 28 из 130 женщин (21,5%) (у 20 – только в цервикальном канале, у 1 – только в полости матки и у 7 – в обоих локусах). *L. vaginalis* обнаружена у 30 пациенток (23,0%) (у 20 – в цервикальном канале, у 2 - в полости матки и у 8 - в полости матки и в цервикальном канале). *L. iners* обнаружена у 28 женщин (21,5%): в цервикальном канале – у 26, в полости матки – у 1 и у 1 – в обоих биотопах.

В цервикальном канале *G. vaginalis* выявляли в 2 раза чаще, чем в полости матки (18 и 9 женщин соответственно), а частота совпадений в обоих биотопах составила 42,1%. *L. crispatus* в 1,5 раза чаще высевали из цервикального канала, чем из полости матки (65 и 41 соответственно), а частота выделения в обоих биотопах составила 55,9%. *L. gasseri* выявлена в 3,4 раза чаще в цервикальном канале, чем в полости матки (27 и 8 женщин соответственно), но совпадение в колонизации обоих биотопов составило 25,0%. Для *L. vaginalis* эти показатели составили соответственно в 2,8 раза чаще в цервикальном канале (28 и 10), а совпадение в колонизации обоих локусов – 26,7%. Для *L. iners* характерно максимально высокое доминирование колонизации цервикального канала в сравнении с полостью матки (в 13,5 раза) (27 и 2 женщины соответственно) и минимальная частота выделения из обоих локусов (3,6%).

На основании полученных данных показано, что микрофлора полости матки идентична микрофлоре цервикального канала только у 12,1% женщин, а у 87,9% - имела отличия, что может свидетельствовать о возможности формирования в полости матки самостоятельной микробиоты. Среднее количество видов микроорганизмов на 1 женщину в цервикальном канале у всех групп обследуемых женщин было выше, чем в полости матки. У женщин I группы данный показатель составил в полости матки - 0,7, а в цервикальном канале – 0,76; во II группе – 0,6 (в полости матки) и 0,85 (в цервикальном канале); у женщин III группы – 0,5 (в полости матки) и в цервикальном канале - 0,65.

Таким образом, цервикальный канал и полость матки могут отличаться по видовому разнообразию микроорганизмов, а полость матки характеризуется меньшим видовым разнообразием.

Сравнительный анализ статистически значимых различий выделенных микроорганизмов в полости матки и в цервикальном канале у женщин представлен на рисунке 19.



**Рисунок 19. Сравнительный анализ статистически значимых различий выделенных микроорганизмов в полости матки и цервикальном канале у женщин, включенных в исследование**

#### **4.5 Сравнительный анализ состава микробиоты полости матки в циклах оварияльной стимуляции и в криоциклах у женщин, включенных в исследование**

Для изучения возможного влияния гонадотропной стимуляции и, соответственно, гиперэстрогении на бактериальную обсемененность, нами проведён сравнительный анализ микробиоты полости матки 66 женщин с ПЭ в цикле оварияльной стимуляции (I и II группы) и 64 женщин с ПЭ в криоцикле (III группа).

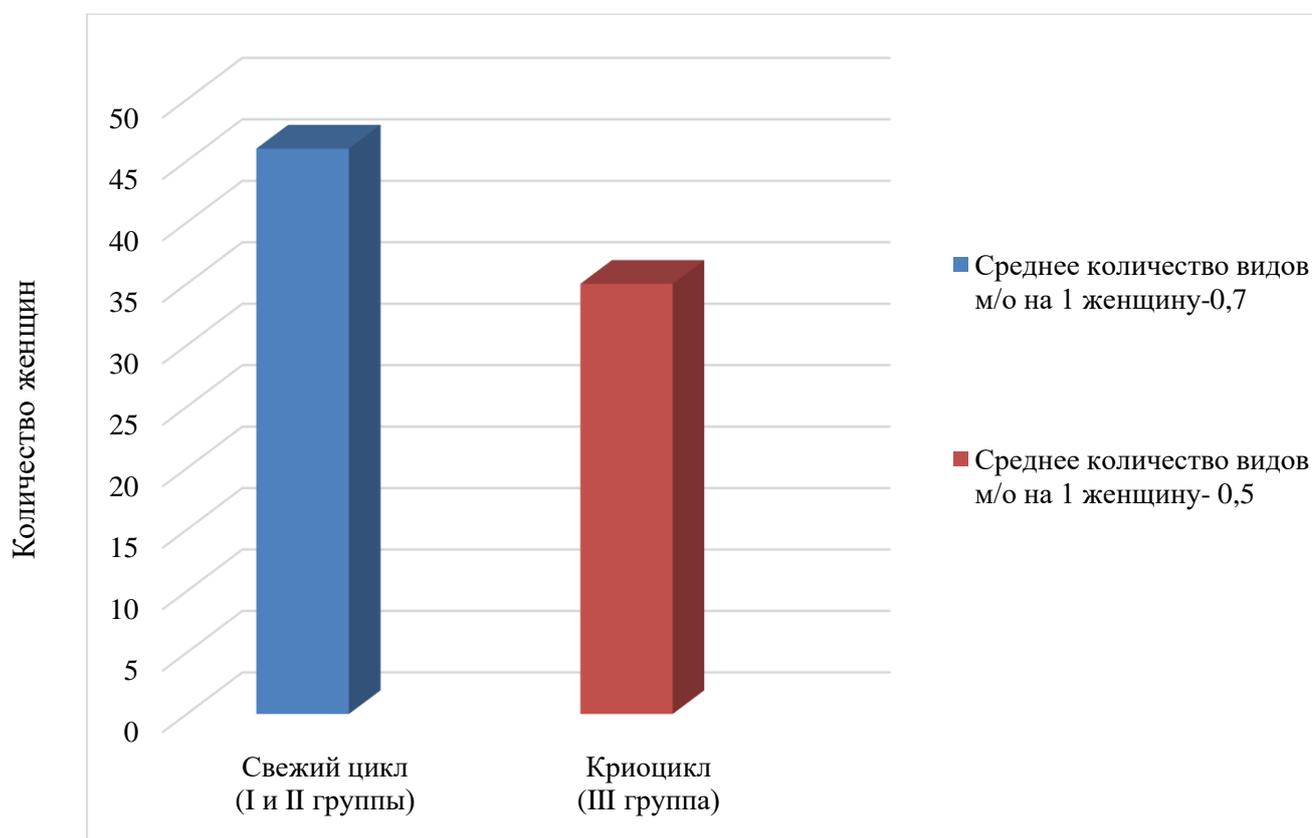
Микробиота полости матки у женщин с переносом эмбриона в цикле стимуляции яичников статистически значимо отличалась от микробиоты женщин с переносом в криоцикле только по частоте выявления двух видов

микроорганизмов: *S. epidermidis* и *G. vaginalis*. По остальным видам микроорганизмов статистически значимой разницы обнаружено не было ( $p > 0,05$ ).

*S. epidermidis* статистически значимо чаще выделяли у женщин с ПЭ в криоцикле (у 12 из 64; 18,8%) в сравнении с женщинами с переносом в цикле овариальной стимуляции (у 4 из 66; 6,0%) ( $p = 0,05$ ).

Напротив, *G. vaginalis* чаще обнаружена у пациенток с ПЭ в цикле овариальной стимуляции (у 8 из 66 женщин; 12,1%) в сравнении с пациентками с ПЭ в криоцикле (у 1 женщины из 64; 1,6%) ( $p = 0,04$ ) (рисунок 20). По остальным видам микроорганизмов разница не оказалась статистически значимой ( $p > 0,05$ ). У женщин с переносом эмбриона в криоцикле суммарно было обнаружено 35 видов микроорганизмов в полости матки (среднее количество видов на 1 женщину – 0,5). У пациенток с переносом эмбриона в циклах стимуляции суперовуляции было выделено 46 видов микроорганизмов (среднее количество видов на 1 женщину – 0,7) (рисунок 20). Так, видовое разнообразие в полости матки у женщин с ПЭ в цикле овариальной стимуляции было выше, чем у женщин с ПЭ в криоцикле, что, вероятно, связано с супрафизиологической концентрацией половых и других гормонов в период стимуляции функции яичников.

Перенос криоконсервированного эмбриона у женщин III группы проводился в естественном менструальном цикле, без заместительной гормональной терапии (ЗГТ). Наименьшее значение видового разнообразия в III группе женщин, возможно, связано с физиологическими концентрациями уровней эстрогенов и других гормонов.



**Рисунок 20. Сравнительный анализ состава микробиоты матки в циклах овариальной стимуляции и в криоциклах у женщин, включенных в исследование.**

Примечание: *G.vaginalis* свежий цикл (12,1%); криоцикл (1,6%) (p=0,04)

#### 4.6 Репродуктивные исходы у женщин, включенных в исследование

Нами проведен анализ репродуктивных исходов у обследуемых групп женщин (таблица 14).

**Таблица 14. Характеристика исходов беременностей у пациенток обследуемых групп**

Показатель	I попытка ЭКО (n=39)	ПНИ с ПЭ в цикле стимуляции (n=27)	ПНИ с ПЭ в криоцикле (n=64)
Частота наступления беременности из расчета на перенос	51,3% (n=20)	29,6% (n=8)	35,9% (n=23)
Частота неразвивающейся беременности от числа наступивших	5,0% (n=1/20)	12,5% (n=1/8)	17,4% (n=4/23)
Частота самопроизвольного прерывания беременности в I триместре от числа наступивших	15,0% (n=3/20)	0% (n=0)	8,7% (n=2/23)
Частота преждевременных родов	5,0% (n=1/20)	12,5% (n=1/8)	0% (n=0)
Частота своевременных родов	75,0% (n=15/20)	75,0% (n=6/8)	73,9% (n=17/23)

Из данных, представленных в таблице, следует, что частота наступления беременности из расчета на перенос у пациенток I группы была выше в 1,7 раз по сравнению с женщинами II группы (29,6%) и в 1,4 раза по сравнению с III (35,9%) и составила 51,3%, однако разница не была статистически значимой ( $p>0,05$ ).

При анализе исходов беременностей в исследуемых группах обращает на себя внимание у пациенток с повторными попытками ЭКО (II и III группы) частота неразвивающихся беременностей составила 12,5% и 17,4% соответственно от числа наступивших беременностей. Однако статистически значимого отличия не установлено ( $p>0,05$ ).

Очевидно, в связи с малым объемом выборки, статистически значимое увеличение частоты высеваемости *G. vaginalis* и облигатно-анаэробных микроорганизмов в полости матки у женщин I группы не помешало наступлению беременности.

По количеству самопроизвольных выкидышей существенной разницы не обнаружено. По количеству своевременных родов от числа наступивших беременностей все группы были сопоставимы (75,0%, 75,0% и 73,9%).

Таким образом, беременность наступила у каждой второй женщины с первой попыткой ЭКО и у каждой третьей женщины с ПНИ, неразвивающаяся беременность чаще наблюдалась в группах с повторными попытками ЭКО. Частота своевременного родоразрешения в группах сравнения была одинаковой.

Нулевая гипотеза в нашем исследовании: присутствие микроорганизмов в полости матки (колонизация полости матки) у пациенток с исключённым хроническим эндометритом (воспалительным процессом в полости матки), вступающих в программу ЭКО, не повлияло на имплантацию и наступление беременности. Полученные данные о колонизации матки микроорганизмами на момент переноса эмбриона не позволили опровергнуть (исключить) нулевую гипотезу. Нами не выявлено статистически значимой разницы в частоте наступления беременности среди 130 обследованных женщин в зависимости от присутствия или отсутствия микроорганизмов в полости матки, как условно-патогенных, так и микроорганизмов из группы комменсалов. Более того, не

выявлено существенной разницы в наступлении беременности в зависимости от колонизации матки микроорганизмами различной видовой принадлежности.

#### **4.6.1 Анализ результатов репродуктивных исходов в зависимости от клинико-anamnestических данных у женщин, включенных в исследование**

Нами проведена оценка клинико-anamnestических данных у исследуемых женщин, в ходе которой не было выявлено статистически значимых различий. Исключение составило статистически значимое преобладание у женщин с ПНИ количества внутриматочных манипуляций в анамнезе. Так нами была предпринята попытка оценить влияние предшествующих внутриматочных манипуляций у женщин с I попыткой ЭКО и с ПНИ на частоту наступления беременности из расчета на перенос эмбриона.

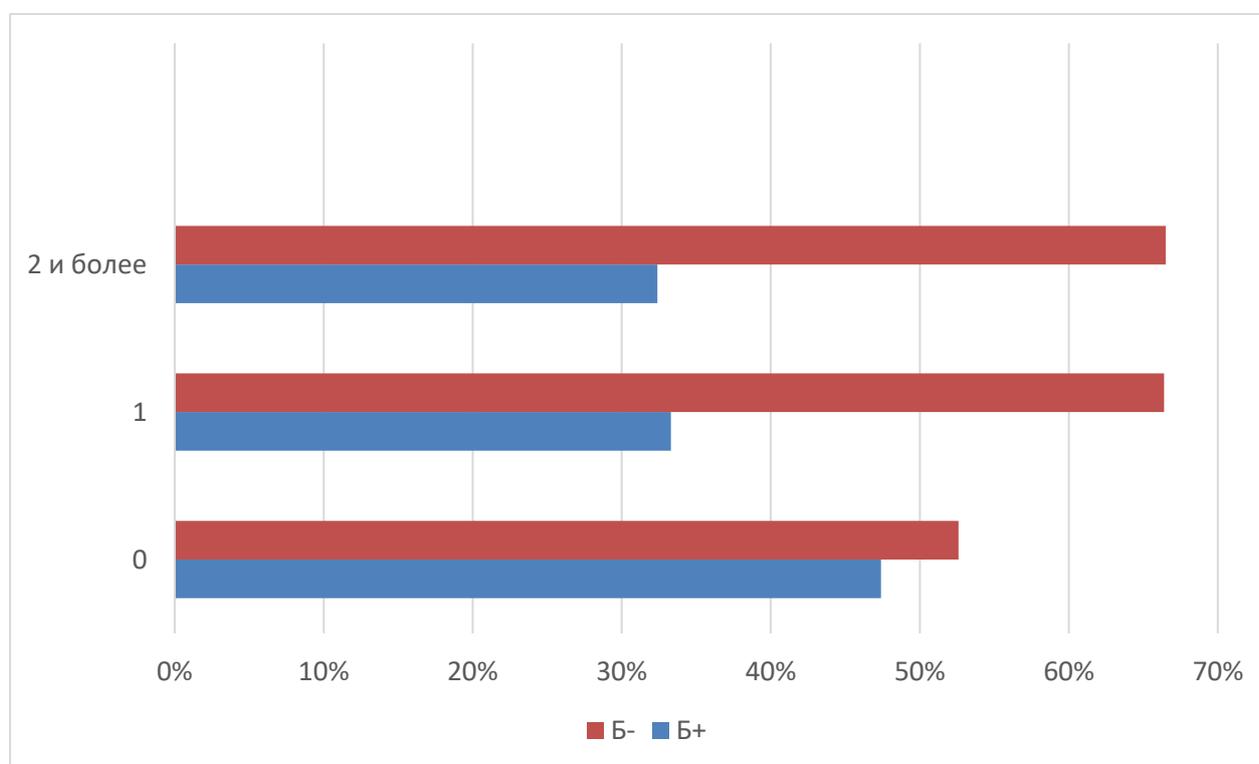
У пациенток с I попыткой ЭКО и отсутствием внутриматочных манипуляций в анамнезе (n=27) была самая высокая частота наступления беременности 59,3% (n=16). У женщин с двумя и более манипуляциями в анамнезе (n=7) частота наступления беременности из расчета на перенос была в 1,4 раза ниже и составила 42,8% (n=3).

У женщин с ПНИ (II и III группы) и отсутствием внутриматочных манипуляций в анамнезе (n=30) частота наступления беременности из расчета на перенос эмбриона составила 40%, что в 1,5 раза ниже, чем у женщин с I попыткой ЭКО и отсутствием внутриматочных манипуляций в анамнезе (59,3%). У женщин с ПНИ и одним внутриматочным вмешательством в анамнезе (n=30) частота наступления беременности из расчета на перенос была ниже по сравнению с отсутствием манипуляций в анамнезе и составила 35,5 %. А у женщин с наличием двух и более манипуляций в анамнезе частота наступления беременности была в 1,4 раза ниже по сравнению с женщинами с I попыткой ЭКО.

Таким образом наиболее благоприятный исход ВРТ был у пациенток с I попыткой ЭКО (I группа) и отсутствием внутриматочных манипуляций в анамнезе с частотой наступления беременности - 59,3%, что в 1,9 раз выше, чем у пациенток

с ПНИ и наличием двух и более внутриматочных манипуляций в анамнезе (30%) ( $p=0,05$ ). Кроме того, нами была проведена оценка отношения шансов наступления беременности у женщин данных групп. Значение отношения шансов наступления беременности в I группе с отсутствием внутриматочных манипуляций по сравнению с пациентками с ПНИ и наличием двух и более манипуляций в анамнезе составило – 3,4 (95% ДИ: 1,14-10,5).

Проведён сравнительный анализ взаимосвязи частоты наступления беременности в зависимости от количества внутриматочных манипуляций у 130 женщин (рисунок 21).



**Рисунок 21. Частота наступления беременности в зависимости от количества внутриматочных манипуляций в анамнезе.**

Среди обследуемых женщин ( $n=130$ ) внутриматочных манипуляций в анамнезе не было у 43,8% ( $n=57$ ), из которых забеременели 47,4% ( $n=27$ ) женщин. Таким образом, среди женщин с отсутствием внутриматочных манипуляций оказалось примерно одинаковое количество забеременевших (47,4%) и с отсутствием беременности (52,6%).

Среди женщин с одной манипуляцией в анамнезе (n=36) беременность наступила в 33,3% случаев (n=12).

У пациенток с наличием в анамнезе двух и более внутриматочных манипуляций (n=37) частота наступления беременности составила 32,4% (n=12). Таким образом у женщин с наличием одной внутриматочной манипуляции частота беременности (33,3%) была в 1,4 раза ниже по сравнению с пациентками с отсутствием манипуляций в анамнезе (47,4%). Тогда как среди пациенток с наличием двух и более манипуляций частота наступления беременности была в 1,5 раза ниже, из чего следует, что каждое вхождение в полость матки ведёт к снижению частоты наступления беременности.

Полученные данные могут свидетельствовать о травматизации эндометрия при внутриматочных вхождениях и снижении рецептивности эндометрия, ведущих к неудачам имплантации.

Также нами была предпринята попытка оценить частоту наступления беременности из расчета на перенос в зависимости от количества попыток ЭКО (таблица 15).

**Таблица 15. Сравнительный анализ частоты наступления беременности на перенос эмбриона в полость матки у женщин с ПНИ в зависимости от количества попыток ЭКО**

Показатель		Группы обследованных пациенток				p-value
		ПНИ с ПЭ в цикле стимуляции (n=27)		ПНИ с ПЭ в криоцикле (n=64)		
		Б+ (n=8)	Б- (n=19)	Б+ (n=23)	Б- (n=41)	
Попытка ЭКО	1	0% (n=0)		42,3% (n=11/26)	57,7% (n=15/26)	-
	2	30,8% (n=4/13)	69,2% (n=9/13)	30,0% (n=6/20)	70,0% (n=14/20)	>0,05
	3 и более	28,6% (n=4/14)	71,4% (n=10/14)	33,3% (n=6/18)	66,7% (n=12/18)	>0,05

Нами была предпринята попытка оценить частоту наступления беременности у женщин с ПНИ и ПЭ как в стимулированном, так и криоцикле в зависимости от

предшествующих попыток ЭКО в анамнезе. Самая высокая частота наступления беременности была у пациенток с ПНИ и ПЭ в криоцикле с I попыткой ЭКО - 42,3%. У пациенток с ПНИ и с ПЭ как стимулированных, так и в криоциклах с двумя попытками ЭКО частота наступления беременности составила 30,8% и 30% соответственно. У женщин с тремя попытками ЭКО и более частота наступления беременности в криоцикле была чуть выше - 33,3%, чем в стимулированном (28,6%).

Обращает на себя внимание, что у женщин с ПНИ и ПЭ в криоцикле частота наступления беременности с двумя попытками ЭКО была в 1,4 ниже (30%), чем с одной (42,6%), однако разница не была статистически значимой ( $p > 0,05$ ). Учитывая отсутствие статистической разницы, полученные нами данные не позволяют спрогнозировать частоту наступления беременности в зависимости от количества попыток ЭКО в анамнезе. В первую очередь это может быть связано с как с малой выборкой пациенток, так и переносом эмбрионов без проведения предимплантационной генетической диагностики (ПГД).

#### **4.6.2 Анализ репродуктивных исходов в зависимости от проводимой терапии у женщин, включенных в исследование**

Пациенткам проводилось лечение по результатам культурального исследования, а также в зависимости от наступления беременности и ее отсутствия. При обнаружении УПМ по данным культурального исследования отделяемого цервикального канала в умеренных ( $10^4$ - $10^5$  КОЕ/мл) концентрациях всем пациенткам проводилась терапия. Пациенткам назначали антибактериальное средство на основе геля с бактериофагами для интравагинального применения, если в цервикальном канале обнаруживались УПМ идентичные видоспецифическим бактериофагам, входящим в его состав. Лечение проводили по следующей схеме: 5-7 мл геля 2 раза в день в течение 14 дней. При снижении общего количества лактобацилл (менее  $10^5$  КОЕ/мл) в цервикальных образцах назначались пробиотики в виде свечей вагинально в течение 10 дней.

В случае выявления УПМ в высоких титрах ( $10^6$  КОЕ/мл и более), а также при обнаружении УПМ, фаги которых не содержались в геле, препаратами выбора у женщин с отсутствием беременности была антибактериальная терапия в сочетании с пробиотиками.

Суммарно бактериофаготерапию получали 44/130 пациентки (33,8%), из которых 18 женщин (40,9%) с наступившей беременностью и 26 (59,1%) – с отсутствием. У 16 из 18 забеременевших женщин беременность завершилась родами (88,8%); неразвивающаяся беременность была у 1 женщины (5,6%); самопроизвольный выкидыш - у 1 (5,6%).

Гель с бактериофагами для интравагинального применения содержит комплекс бактериофагов, подавляющих рост следующих бактерий: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus succinus*, *Gardnerella vaginalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* spp., *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Actinomyces* spp., *Streptococcus agalactiae*, стрептококк группы Д (по новой номенклатуре *Enterococcus faecium*), *Enterobacter* spp, *Enterobacter kobei*, *Enterobacter cloacae*, *Prevotella* spp., *Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Citrobacter freundii*, *Propionibacterium acnes*.

В группе с I попыткой ЭКО препараты на основе бактериофагов совместно с пробиотиками получали 41% пациенток (n=16), из которых у 56,3% (n=9) наступила беременность. У 88,9% (n=8/9) беременность закончилась родами, а у 11,1 % женщин самопроизвольным выкидышем на ранних сроках (таблица 16).

**Таблица 16. Анализ частоты наступления беременности на перенос эмбриона у женщин обследуемых групп, получавших лечение**

Показатель	Группы обследованных пациенток			p-value		
	I попытка ЭКО (n=16)	ПНИ с ПЭ в цикле стимуляции (n=14)	ПНИ с ПЭ в криоцикле (n=21)	I-II	II-III	I-III
Получали бактериофаготерапию	41% (n=16)	40,7% (n=11)	26,6% (n=17)	>0,05	>0,05	>0,05
Получали антибактериальную терапию	0% (n=0)	11,1% (n=3)	6,3% (n=4)	>0,05	>0,05	>0,05
Частота наступления беременности	56,3%(n=9/16)	35,7%(n=5/14)	42,8%(n=9/21)	>0,05	>0,05	>0,05
Внематочная беременность	0% (n=0)	0% (n=0)	0% (n=0)	>0,05	>0,05	>0,05
Неразвивающаяся беременность	0% (n=0)	0% (n=0)	0% (n=0)	>0,05	>0,05	>0,05
Самопроизвольный выкидыш	11,1% (n=1/9)	0% (n=0)	0% (n=0)	>0,05	>0,05	>0,05
Преждевременные роды	0% (n=0)	20% (n=1/5)	0% (n=0)	>0,05	>0,05	>0,05
Своевременные роды	88,9% (n=8/9)	80% (n=4/5)	100% (n=9/9)	>0,05	>0,05	>0,05

В группе с ПНИ и ПЭ в цикле овариальной стимуляции антибактериальное средство на основе бактериофагов получали – 40,7% (n=11) женщин. Беременность наступила у 37,5% женщин, из которых у 80% (n=4/5) закончилась родами, а у одной – преждевременными родами. У женщин с отсутствием беременности (n=3) при обнаружении *D. microaerophilus* (n=1), *Haemophilus influenzae* (n=1) и *A. vaginae* (n=1) в умеренных ( $10^4$ - $10^5$  КОЕ/мл) концентрациях, учитывая отсутствие к ним видоспецифических фагов в используемом геле, назначали клиндамицин в виде свечей для интравагинального применения совместно с последующим назначением пробиотиков.

Среди женщин III группы с ПНИ и ПЭ в криоцикле бактериофаготерапию получали 26,6% (n=17) женщин, из них у 42,8% (n=9) женщин наступила беременность, завершившаяся родами. У женщин с отсутствием беременности 6,3% (n=4) при обнаружении *Haemophilus parainfluenzae* (n=1), *A. vaginae* (n=1), *V. atypica* (n=1), *A. hydrogenalis* (n=1) в умеренных ( $10^4$ - $10^5$  КОЕ/мл) концентрациях

назначали местно антибактериальную терапию в виде свечей с клиндамицином совместно с последующим назначением пробиотиков. Сравнительный анализ представлен в таблице 16.

У пациенток I группы, получавших терапию, была самая высокая частота наступления беременности - 53,6%, что выше, чем у пациенток в группах с ПНИ, где этот показатель составил 35,7% и 42,8% соответственно ( $p>0,05$ ).

Повторное взятие мазков из цервикального канала с целью оценки эффективности проведённого лечения не производилось.

При обнаружении у пациенток УПМ в отделяемом из цервикального канала в концентрации  $10^3$  КОЕ/мл и менее лечение женщин не требовалось.

У пациенток I группы без проводимого лечения частота наступления беременности на перенос эмбриона составила 47,8% ( $n=11$ ). Частота своевременных родов - 63,6% ( $n=7/11$ ). Так при отсутствии лечения у женщин с низкой степенью обсеменённости УПМ цервикального канала, частота наступления беременности была чуть ниже (47,8%) по сравнению с женщинами I группы, получавших терапию при обнаружении УПМ в умеренных концентрациях (56,3%), однако без статистической разницы ( $p>0,05$ ) (таблица 17).

У женщин II группы с отсутствием лечения частота наступления беременности на перенос эмбриона была несколько меньше, чем у женщин, получавших лечение (35,7%) и составила 23,0% ( $n=3$ ). Самопроизвольные роды были только у женщин 66,6% ( $n=2$ ).

У пациенток III группы частота наступления беременности достигла 32,5% ( $n=14$ ), из которых своевременными родами завершилась беременность у 57,1% ( $n=8$ ) пациенток. У 28,6% (4/14) была неразвивающаяся беременность, а у 14,2% (2/14) - самопроизвольный выкидыш.

**Таблица 17. Сравнительный анализ частоты наступления беременности на перенос эмбриона у женщин без предшествующего лечения**

Показатель	Группы обследованных пациенток			p-value		
	I попытка ЭКО (n=23)	ПНИ с ПЭ в цикле стимуляции (n=13)	ПНИ с ПЭ в криоцикле (n=43)	I-II	II-III	I-III
Частота наступления беременности из расчета на перенос	47,8% (n=11)	23,0 % (n=3)	32,5 % (n=14)	>0,05	>0,05	>0,05
Внематочная беременность	9,1 % (n=1/11)	0% (n=0)	0% (n=0)	>0,05	>0,05	>0,05
Неразвивающаяся беременность	0% (n=0)	33,3% (n=1/3)	28,6% (n=4/14)	>0,05	>0,05	>0,05
Самопроизвольный выкидыш	18,2% (n=2/11)	0% (n=0)	14,2 % (n=2/14)	>0,05	>0,05	>0,05
Преждевременные роды	9,1 % (n=1/11)	0% (n=0)	0 % (n=0)	>0,05	>0,05	>0,05
Своевременные роды	63,6 % (n=7/11)	66,6 % (n=2/3)	57,1 % (n=8/14)	>0,05	>0,05	>0,05

Таким образом, лечение пациенткам необходимо проводить при обнаружении УПМ в умеренных и высоких титрах. Обнаружение УПМ в низких титрах ( $10^3$  КОЕ/мл и менее) не является прогностическим фактором наступления беременности. При выявлении УПМ в умеренных титрах ( $10^4$  КОЕ/мл и выше) очевидно, целесообразнее применять бактериофаги совместно с пробиотиками, которые могут оказывать благоприятное лечебное воздействие на микробиоту нижнего отдела репродуктивного тракта, учитывая отсутствие прерывания беременности на ранних сроках у данных пациенток. Кроме того, применение бактериофагов не противопоказано в любые сроки беременности, особенно в I триместре, когда возможность применения антибиотиков ограничена. При обнаружении УПМ в высоких концентрациях ( $10^6$  КОЕ/мл и выше) целесообразно применение антибактериальной терапии совместно с пробиотиками. На основании полученных данных разработан алгоритм ведения пациенток с повторными неудачами имплантации в анамнезе при обнаружении УПМ на этапе прегравидарной подготовки (рисунок 22).



**Рисунок 22.** Алгоритм ведения пациенток с повторными неудачами имплантации в анамнезе при обнаружении условно-патогенных микроорганизмов на этапе прегравидарной подготовки.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Крайне актуальной проблемой в репродуктивной медицине является преодоление бесплодия у пациенток с повторными неудачами имплантации. Средняя частота наступления беременности из расчёта на перенос эмбриона в протоколах ЭКО по данным РАРЧ за последние 5 лет практически не изменилась и в 2017 году составила в расчёте на перенос эмбрионов 38,4% (2016 г. – 38,7%). При оплодотворении методом ИКСИ этот показатель составил 35,7% (2016 г. – 35,2%).

В течение последних лет этот показатель не имеет тенденции к росту. Даже использование предимплантационной генетической диагностики (ПГД) не приводит к значительному увеличению частоты наступления беременности и по данным РАРЧ 2017 года в программах с ПГД частота наступления беременности на перенос эмбрионов составила 46,5% (2016 - 43,7%).

В связи с этим ведутся активные поиски возможностей повышения эффективности программ ЭКО путем использования высокоэффективных методов предварительного обследования супружеских пар, изменения условий культивирования, выявления предикторов успешной имплантации.

Повторные неудачи имплантации являются сложной и многогранной проблемой репродуктивной медицины, этиология и патофизиология которых зачастую остаются загадкой [48]. Успешность имплантации зависит от «диалога» между здоровым эмбрионом и рецептивным эндометрием, нарушения которого до конца не изучены. Так перенос морфологически качественного эмбриона при наличии эндометрия, который структурно соответствует фазе менструального цикла, не всегда приводит к имплантации, а наступившая беременность может прекратить развиваться на ранних сроках.

Влияние хромосомной патологии у эмбриона на наступление и течение беременности, вызывает большой интерес. Paul Pitrtea и соавт. в своем исследовании определяли кумулятивную частоту наступления беременности у

4429 женщин после трех последовательных селективных переносов эмбрионов после ПГД. Кумулятивная частота наступления беременности у женщин после первого переноса была максимальной и составила 69,9%, после второго – 58,8%, после третьего – 60,3%, а частота живорождения 65,4%, 54,4% и 54,1% соответственно. Снижение частоты наступления беременности с последующим переносом эмбрионов с 69,9% до 58,8% указывает на то, что неудачи имплантации могут быть связаны с нарушением рецептивности эндометрия. ПНИ, связанные с эмбриональным происхождением, можно свести к минимуму при переносе эуплоидных эмбрионов [107].

Одной из причин ПНИ – хронический эндометрит, при котором в результате персистирующего повреждения эндометрия инфекционным фактором возникают множественные морфофункциональные изменения, нарушающие рецептивность эндометрия. Большое значение в патогенезе ХЭ придается постинфекционному аутоиммунному синдрому, который проявляется увеличением инфильтрации эндометрия CD16+ и CD56+, NK-клетками, В-клетками и активированными лимфоцитами HLA-DR+. Кроме того, происходит нарушение экспрессии рецепторов половых стероидов в эндометрии. Все эти изменения при ХЭ препятствуют нормальной имплантации [48].

В последние годы в изучении этиопатогенеза ПНИ большое внимание уделяется иммунологическим механизмам формирования несостоятельности эндометрия. В реализации иммунного ответа в полости матки большая роль отводится маточным NK-клеткам (uNK). Исследование I.Santillan и соавт. показало, что уровень периферических NK-клеток и уровень uNK повышен у пациенток с ПНИ и составил  $13,4 \pm 1,2$  % против  $8,4 \pm 0,7$  % в контрольной группе [109]. Однако на сегодняшний день роль NK-клеток в имплантации вызывает множество контраргументов и вопросов, требующих дальнейших исследований.

За последние несколько лет в связи с активным изучением микробиома человека большое внимание в репродуктивной медицине уделяется роли микробиоты полости матки на процесс имплантации, особенно у женщин с ПНИ. В настоящее время ведутся многочисленные дискуссии о том, что полость матки

не является стерильной. Однако до сих пор нет понимания влияния микрофлоры эндометрия на имплантацию. Кроме того, не изучено, что следует понимать под эубиозом полости матки, а что под дисбиотическим нарушением, отсутствует чёткая грань между этими двумя понятиями. Более того, зачастую обнаружение УПМ в репродуктивном тракте и применение антибактериальной терапии не приводят к успеху.

Целью нашего исследования явилось изучение влияния микробиоты матки на успешность имплантации, течение ранних сроков беременности и частоту живорождения у женщин в программах ВРТ. Кроме того, крайне важным является разработка алгоритма ведения пациенток с нарушением микрофлоры полости матки с целью повышения эффективности преодоления бесплодия у пациенток с ПНИ. Для достижения этой цели в исследование включены 130 пациенток репродуктивного возраста с бесплодием, с I попыткой ЭКО и с ПНИ в анамнезе с селективным переносом эмбриона хорошего качества, как в цикле овариальной стимуляции, так и в криоцикле.

Наше исследование имело ряд особенностей выполнения. Во-первых, получение материала из полости матки осуществлялось определённым способом, снижающим контаминацию микрофлорой цервикального канала. Предварительно осуществлялась обработка влагалища и экзоцервикса стерильным ватным тампоном, затем в цервикальный канал вводили прозрачный проводник из поливинилхлорида, через который проходил эмбриокатетер в полость матки. Проводилось микробиологическое исследование содержимого дистальной части эмбриокатетера, извлечённого из полости матки. Похожим способом проводили изучение микробиоты полости матки Franasiak J. с соавт. (2016 г) [81], Tao X. с соавт. (2017 г) [71] и другие. Зарубежными авторами также были использованы другие методы получения биологического материала с целью изучения микробиоты полости матки: операционный материал, соскоб из полости матки кюреткой, аспират из полости матки, полученный при пайпель-биопсии эндометрия [59,95,113].

Второй особенностью являлось то, что сбор материала проводился непосредственно в момент переноса, для того, чтоб оценить влияние текущей микрофлоры полости матки на репродуктивный исход.

На первом этапе работы нами был проведен анализ анамнестических, эмбриологических параметров. Оценка клинико-анамнестических данных, менструальной, гормональной и репродуктивной функции, а также параметры эмбриогенеза у женщин в исследуемых группах не выявили статистических различий. Группы были сопоставимы по значимым параметрам и подобраны таким образом, что минимизировать влияние вмешивающихся факторов на исходы программ ВРТ. Исключение составила частота предшествующих внутриматочных манипуляций у женщин с ПНИ. У женщин с ПНИ частота внутриматочных манипуляций в анамнезе была выше (II группа - 33,3%) и (III группа - 35,9%) по сравнению с пациентками с I попыткой ЭКО (12,8%) ( $p=0,05$ ;  $p=0,01$ ).

У женщин с I попыткой ЭКО и отсутствием внутриматочных манипуляций частота наступления беременности была самой высокой и составила – 59,3% из расчета на перенос эмбриона. У женщин с ПНИ при наличии двух и более внутриматочных вмешательств в анамнезе частота наступления беременности была ниже в 1,9 раз по сравнению с женщинами с отсутствием внутриматочных вмешательств и составила 30% ( $p=0,05$ ). Кроме того, нами была предпринята попытка оценить отношение шансов наступления беременности у женщин исследуемых групп. Было обнаружено, что шанс наступления беременности у женщин с I попыткой ЭКО и отсутствием внутриматочных манипуляций в анамнезе выше в 3,4 раза по сравнению с пациентками с ПНИ и наличием двух и более манипуляций в анамнезе (95% ДИ: 1,14-10,5). Таким образом, обнаружена связь между предшествующими внутриматочными манипуляциями и частотой наступления беременности. Полученные данные могут свидетельствовать как о негативном влиянии ранее выявленной внутриматочной патологии, так и о травматизации эндометрия при внутриматочных вхождениях и снижении рецептивности эндометрия, ведущих к неудачам имплантации.

В настоящее время доказано, что внутриматочные вмешательства могут провоцировать деструктивное воздействие иммунокомпетентных клеток на ткани эндометрия и развитие хронического аутоиммунного процесса. Важным аспектом является акцентирование внимания на необходимости сохранения и восстановления репродуктивного здоровья пациенток после потери беременности и неудачных попыток ЭКО. Таким образом, каждое внутриматочное вмешательство должно быть чётко обоснованным и крайне «щадящим» [43].

Вторым этапом нашего исследования было изучение состава микробиоты цервикального канала у пациенток обследуемых групп. У женщин с I попыткой ЭКО с наступившей и отсутствием беременности статистически значимой разницы в частоте выделения из цервикального канала лактобацилл и УПМ не установлено. Обнаружена более частая колонизация лактобациллами в умеренной или высокой концентрации у женщин с наступившей беременностью. У женщин с отсутствием беременности отмечено более частое выделение *G. vaginalis* в умеренном (10,5 %) и высоком (10,5%) титрах, а также облигатно-анаэробных микроорганизмов в низком (15,8%) или среднем титрах (10,5%), однако без статистически значимой разницы, что не указывает об их выраженном влиянии на наступление беременности.

У забеременевших пациенток II группы с ПНИ и переносом эмбриона в цикле овариальной стимуляции колонизационные показатели проявлялись в более низкой частоте выделения лактобацилл, определяющих колонизационную резистентность биотопа, и более низкой степени обсемененности ими цервикального канала и, напротив, более частой колонизации цервикального канала УПМ (облигатными анаэробами) в низком (12,5%) и умеренном (12,5 %) титрах. Наличие в цервикальном канале, анатомически максимально приближенном к полости матки, микроорганизмов, в том числе УПМ в умеренном титре не оказало значимого влияния на имплантацию. Это не повлияло негативным образом на наступление беременности, что свидетельствует о том, что наличие в цервикальном канале, анатомически максимально приближенном к полости матки микроорганизмов, в

том числе УПМ в умеренном титре не обязательно влияет на процесс имплантации и наступление беременности.

У женщин III группы с ПНИ и ПЭ в криоцикле с отсутствием беременности реже, чем у забеременевших пациенток отмечена колонизация цервикального канала лактобациллами в высоком или умеренном титре. УПМ (стрептококки, энтеробактерии, строгие анаэробы и гарднерелла) преимущественно были обнаружены в низком и в умеренном титрах. Однако наметившаяся тенденция при отсутствии статистически значимой разницы указанных показателей не позволяет в полной мере считать снижение титра лактобацилл, а также возрастание численности УПМ до умеренных значений рассматривать как предиктор отрицательного исхода ЭКО.

Однако нельзя исключить негативное влияние на наступление беременности микроорганизмов видов *Haemophilus influenzae* и *Haemophilus parainfluenzae*, обнаруженных в умеренных количествах у пациенток с повторными неудачами имплантации. Данные УПМ обладают большим патогенным потенциалом и нетипичны для биотопа репродуктивного тракта.

Таким образом, отсутствие статистически значимой разницы в частоте и в количестве выделенных микроорганизмов в цервикальном канале у женщин обследуемых групп с наступившей беременностью и ее отсутствием не позволило выявить возможные колонизационные факторы риска, влияющие на частоту имплантации. Исключение составило выделение УПМ, ассоциированных с бактериальным вагинозом (*G. vaginalis*) из цервикального канала в высоком титре ( $10^6$  КОЕ/мл и более), которое во всех случаях сопровождалось либо ненаступлением беременности, либо ее прерыванием на ранних сроках, что можно расценивать как фактор риска неблагоприятных исходов ВРТ.

Отдельным этапом нашего исследования явилась оценка микробиоты полости матки в момент переноса эмбриона у обследуемых групп и её влияние на репродуктивные исходы. Нужно отметить, что результаты исследования методом культуромики были положительными в 90% случаев. Мы обнаружили, что полость

матки не является свободной от микроорганизмов, и в этом наши результаты совпадают с результатами других авторов [76,98].

У женщин I группы существенной разницы в видовом составе микробиоты полости матки в момент переноса эмбриона и частоте выделения отдельных видов и групп УПМ среди пациенток с наступившей беременностью и у пациенток с её отсутствием в нашем исследовании не выявлено. Соотношение суммарной частоты выделения лактобацилл и УПМ у женщин с наступившей беременностью (80,0 и 45,0% соответственно) и её отсутствием (73,7 и 47,4% соответственно) существенно не отличалось ( $p>0,05$ ). Так же не выявлено значимой разницы в видовом составе микробиоты полости матки в момент переноса эмбриона и частоте выделения отдельных видов и групп УПМ. Исключение составили *G. vaginalis* и строгие анаэробы, которые обнаружены соответственно в 4 и в 2,1 раза чаще у пациенток с отсутствием беременности, однако эта разница оказалась статистически не значимой ( $p>0,05$ ).

У женщин II группы с наступившей беременностью наиболее часто выделяемой составляющей микробиоты были лактобациллы (90,2%), у женщин с отсутствием беременности колонизация матки лактобациллами оказалась несколько ниже – 79%. Частота УПМ у забеременевших пациенток составила 50%, а у женщин с её отсутствием 42,1%. В сравниваемых подгруппах на момент переноса эмбриона статистически значимого отличия по частоте выделения лактобацилл и УПМ не обнаружено. При относительно мало отличающейся частоте колонизации матки лактобациллами у женщин с наступившей беременностью выявлена большая частота выделения УПМ, с которыми ассоциируются инфекционно – воспалительные процессы при акушерско-гинекологической патологии: *S. anginosus*, *E. coli* и облигатных анаэробов, что, однако, не повлияло на наступление беременности.

Установлено, что у забеременевших женщин III группы лактобациллы по-прежнему занимали лидирующую позицию по частоте встречаемости (60,9%), но частота выделения УПМ была сравнимой (56,5%). Обращает на себя внимание

отсутствие облигатно-анаэробных микроорганизмов, а также *G. vaginalis*. Таким образом не всегда преобладание лактобацилл влияет на благоприятный исход программы ВРТ.

Обращает на себя внимание, что у 10% (n=13) женщин посевы из полости матки оказались «стерильными», при этом беременность наступила у 30,8% (n=4), а у женщин с выделенными микроорганизмами из полости матки (n=117) частота наступления беременности составила – 41% (n=48). Значение отношения шансов наступления беременности у женщин со «стерильными» посевами из полости матки по сравнению с пациентками с обнаруженными микроорганизмами в полости матки – 0,64 (95% ДИ: 0,19-2,2). Таким образом, шансы наступления беременности у сравниваемых женщин равны, и отсутствие микроорганизмов в полости матки не является предиктором успешной имплантации.

В исследовании Moreno I. и соавт. оценивалось влияние микробиоты полости матки на имплантацию. Выявлено, что группа пациенток со снижением количества лактобацилл (менее 90%) и преобладанием УПМ (более 10%) в полости матки, по сравнению с группой с преобладанием лактобацилл (более 90%), имела достоверно более низкую частоту имплантации (60,7% против 23,1%, p=0,02), наступления беременности (70,6% против 33,3%, p=0,03), прогрессирующей беременности (58,8% против 13,3%, p=0,02) и частоты родов (58,8% против 6,7%, p=0,002) [83].

В исследовании, проведенном Franasiak J.M. с соавт. также уделялось большое внимание преобладанию лактобацилл. Изучено 35 образцов биоматериала: 33 образца, полученных от пациенток и 2 контрольных, содержащих *E. coli*. У 18 из 33 женщин беременность наступила и у 15 пациенток – нет. Суммарно в исследуемых образцах обнаружено ДНК 278 различных микроорганизмов. Микробиота полости матки во время переноса эмбриона в обеих группах характеризовалась преобладанием лактобацилл [81].

В исследовании Куопо К. проанализировали частоту наступления беременности у пациенток с доминированием лактобацилл (содержание лактобацилл более 80%) и группы без доминирования лактобацилл (содержание

лактобацилл менее 80% и присутствие УПМ более 20%). Частота наступления беременности была выше у женщин с доминированием лактобацилл (более 80%) – 61,3% по сравнению с пациентками без доминирования лактобацилл (менее 80%) – 40% женщин [59].

Есть исследования, свидетельствующие об обратном. Так, в исследовании Kotaro K. и соавт., напротив, преобладание лактобацилл в полости матки (> 90%) встречалось чаще у женщин с ПНИ – 64,3% (18/28), чем в контрольной группе – 38,9% (7/18). Сходные результаты получены из образцов влагалища, где у женщин с ПНИ доминировали лактобациллы – 67,9% (19/28), в отличие от пациенток с первой попыткой ЭКО – 44,4% (8/18). Частота высеваемости *Gardnerella* spp. составила 39,3% (11/28) у женщин с повторными неудачами имплантации и 27,7% (5/18) – в контрольной группе [73].

Кроме того, в исследовании R.Wang и соавт. в 2016 году обнаружили большее количество лактобацилл у пациенток с полипами эндометрия (38,6%) и хроническим эндометритом (33,2%) по сравнению со здоровой когортой женщин (6,2%) [65]. Таким образом, сегодня крайне важным направлением научного поиска становится патогенетически значимое взаимодействие между микробиотой эндометрия и иммунитетом, а не просто подтверждение присутствия микроорганизмов в эндометрии.

Следует отметить, что по мнению большинства исследователей, инфекционный агент все же является пусковым фактором развития хронического воспалительного процесса в полости матки. Считается, что в связи с длительной персистенцией микроорганизмов в эндометрии запускается аутоиммунный процесс, субстратом которого является аутоагрессивные антитела. Антигены организма хозяина имеют схожую структуру с антигенами УПМ, что способствует развитию аутоиммунной реакции, которая приводит к вторичному иммунодефициту. Так, повреждаются не только изменённые вследствие патологического процесса клетки, но и здоровая ткань эндометрия. Срыв механизмов адаптации к постоянному воздействию микробов приводит к

снижению и неполноценности иммунного ответа и развитию аутоиммунных реакций, что ведёт к хроническому вялотекущему воспалительному процессу [2].

Результаты нашего исследования согласуются с результатами зарубежных исследователей. Нет чётких доказательств явного преимущества микробиоты полости матки с доминированием лактобацилл с точки зрения исходов беременности. Но, очевидно, восстановление микробиоты полости матки с целью преобладания в нём лактобацилл, благоприятно для имплантации эмбриона. Наличие УПМ в полости матки не повлияло на частоту наступления беременности.

Вероятно, микробиота полости матки представляет собой совокупность функционально связанных микроорганизмов. И, очевидно, у каждого здорового индивидуума, гомеостаз полости матки поддерживают «свои» определённые микроорганизмы. Большую роль играют биоплёнки, которые представляют собой микробные сообщества. Бактерии в биоплёнках имеют определённые физиологические свойства. Нормальные биоплёнки в организме человека представлены микробными сообществами, формирующими физиологическую микрофлору кожи, ротовой полости, влагалища, кишечника и т.д. Но существуют и патологические биопленки, которые часто связаны с хроническими воспалительными процессами.

Отдельным этапом работы стало проведение метагеномного секвенирования образцов со среды накопления эмбриокатетера, извлечённого из полости матки после переноса эмбриона. Данный метод изучения микробиоты описан в исследованиях зарубежных авторов [65,81,71].

В большинстве случаев представленность микроорганизмов в полости матки по данным культуральных и метагеномных исследований совпадали. В некоторых случаях обнаружены рода бактерий, которые не выявлены по данным культуральных исследований. Эти результаты могут объясняться наличием в образце микроорганизмов, которые по разным причинам не выросли на питательных средах, но при этом их ДНК присутствует в образце. Полученные результаты могут быть обусловлены наличием следовых количеств бактериальной ДНК в каких-то из используемых реактивов и свидетельствуют о том, что метод

секвенирования не является достаточно специфичным для работы с образцами с крайне низкой концентрацией ДНК. Таким образом, использование данного метода для оценки микробиоты полости матки в момент переноса эмбриона является сомнительным. Однако применение метагеномного секвенирования может быть целесообразно при комплексной оценке микробиоты эндометрия и его рецептивности при получении биологического материала с помощью пайпель-биопсии, учитывая большую биомассу материала, чем в момент переноса эмбриона. Можно полагать, что помимо присутствия микроорганизмов в полости матки важна количественная оценка состава микрофлоры, что в момент переноса проблематично, учитывая низкую потенциальную возможность получения достаточного количества образца с помощью эмбриокатетера. Вторым важным моментом является состояние макроорганизма с точки зрения защиты от разрушающего воздействия микробного фактора на эндометрий. Известно, что в физиологических условиях микроорганизмы инактивируются системой врождённого и адаптивного иммунитета. На ранних этапах этот процесс осуществляется TOLL-NOD и TOLL-RIG подобными рецепторами, располагающимися на поверхности клеток иммунной системы, эпителиоцитах, эндотелиоцитах и фибробластах. Микробная колонизация эндометрия сдерживается также TOLL-like подобными рецепторами, которые, взаимодействуя со структурами микробной клетки, стимулируют механизмы врождённой антимикробной резистентности.

На следующем этапе нами был проведен сравнительный анализ микробиоты полости матки и цервикального канала. При сравнении микробиоты этих двух биотопов отмечено, что у 14 (12,1%) женщин микробиота была идентичной, а у 102-х (87,9%) эти два биотопа различались по качественному составу. Полость матки и цервикальный канал достоверно различались по частоте выявления следующих видов микроорганизмов: *G. vaginalis* ( $p=0,01$ ), *L. crispatus* ( $p=0,01$ ), *L. gasseri* ( $p=0,01$ ), *L. vaginalis* ( $p=0,01$ ) и *L. iners* ( $p=0,01$ ). По остальным видам разница не оказалась статистически значимой ( $p>0,05$ ). Многочисленные

дискуссии вызывают сравнение микробиоты верхнего и нижнего отделов генитального тракта.

В исследовании Moreno I. и соавт. примерно в 20% исследуемых образцов влагалищная и эндометриальная микробиоты были различны по микробному составу [83]. Различия между этими биотопами обнаружены в исследовании Wee В.А. и соавт., которые сравнивали микробиоту эндометрия с вагинальным и цервикальными образцами у фертильных и бесплодных женщин [60].

Необходимо отметить, что различия между микробным составом этих биотопов наблюдалось вне зависимости от метода забора материала – трансцервикально или во время операции на матке. Данные результаты свидетельствуют, что микробиота верхнего и нижнего отделов репродуктивного тракта может быть схожей, но не всегда идентична.

Кроме того, для изучения возможного влияния гонадотропной стимуляции и, соответственно, гиперэстрогении на бактериальную обсемененность, нами проведён сравнительный анализ микробиоты полости матки 66 женщин с ПЭ в цикле овариальной стимуляции (I и II группы) и 64 женщин с ПЭ в криоцикле (III группа). Микробиота полости матки у женщин с переносом эмбриона в цикле овариальной стимуляции различалась от микробиоты женщин с переносом в криоцикле по частоте выявления *S. epidermidis* и *G. vaginalis*. Частота выделения *S. epidermidis* в полости матки была выше у женщин с переносом эмбриона в криоцикле ( $p=0,05$ ). *G. vaginalis* выделена у 12,1% женщин с переносом эмбриона в цикле овариальной стимуляции и у 1,6% с переносом эмбриона в криоцикле. Таким образом, частота высеваемости *G. vaginalis* в полости матки выше у женщин с переносом эмбриона в цикле стимуляции суперовуляции, чем в криоцикле ( $p=0,04$ ).

У женщин с переносом эмбриона в криоцикле суммарно было обнаружено 35 видов микроорганизмов в полости матки (среднее количество видов на 1 женщину – 0,5). У пациенток с переносом эмбриона в циклах стимуляции суперовуляции было выделено 46 видов микроорганизмов (среднее количество видов на 1 женщину – 0,7). Таким образом, видовое разнообразие в полости матки у женщин

с ПЭ в цикле овариальной стимуляции было выше, чем у женщин с ПЭ в криоцикле. Это может быть связано влиянием гормональной стимуляции на микробиоту. Цикл стимуляции суперовуляции характеризуется суперфизиологическими концентрациями половых гормонов, в отличие от криоцикла, в котором параметры стероидогенеза физиологичны. Эстрогены контролируют пролиферативную активность клеток вагинального и мочевого эпителия и адекватность кровоснабжения слизистых, индуцируют накопление в вагинальном эпителии гликогена, который является метаболическим субстратом для лактобацилл. Кроме того, они стимулируют формирование молекул адгезии к ним на эпителиальных клетках, за которые идёт конкуренция с другими микроорганизмами. Лактобациллы расщепляют гликоген с образованием молочной кислоты, обеспечивающей кислую среду во влагалище, и перекиси водорода, являющейся естественными антисептиком [18,20].

В работе проводилась терапия, направленная на восстановление микробиоты цервикального канала и полости матки у обследуемых женщин. Пациенткам проводилось лечение по результатам культурального исследования. При обнаружении УПМ по данным культурального исследования отделяемого цервикального канала в умеренных ( $10^4$ - $10^5$  КОЕ/мл) концентрациях всем пациенткам проводилась терапия. Пациенткам назначали антибактериальное средство на основе геля с бактериофагами для интравагинального применения, если в цервикальном канале обнаруживались УПМ идентичные видоспецифическим бактериофагам, входящим в его состав. Назначение бактериофагов беременевшим женщинам I группы, у которых обнаружены *G. vaginalis* в полости матки и облигатно-анаэробные микроорганизмы, могло оказать благоприятное воздействие на течение беременности. Несмотря на присутствие этих УПМ в полости матки и в цервикальном канале, своевременное назначение фаготерапии, возможно, позволило избежать прерывания беременности на ранних сроках. Беременность у данных пациенток закончилась родами.

Всё большую популярность обретает применение бактериофагов в акушерстве и гинекологии. В исследовании российских авторов применяли

бактериофаги для лечения больных с рецидивирующими нарушениями микроценоза влагалища (n=63), которых разделили на две группы: 28 женщин получали только поливалентный пибактериофаг, 35 пациенткам проводилась антимикробная терапия метронидазолом интравагинально. Среди пациенток с рецидивирующими нарушениями микроценоза влагалища эффективность монотерапии в виде интравагинального введения полифага составила 85,7%. При назначении метронидазола интравагинально микробиологическая эффективность достигала 71,4%. Частота рецидивов бактериального вагиноза и неспецифического вагинита на протяжении 6 месяцев наблюдения снизилась в 4,2 раза после применения поливалентного бактериофага [8]. Основное преимущество бактериофагов перед антибиотиками заключается в избирательной селективности относительно одного вида микроорганизмов, при этом физиологический микробиоценоз не угнетается. Кроме того, бактериофаги воздействуют на биопленки, не оказывают токсических и тератогенных эффектов и, следовательно, безопасны во время беременности [8]. Учитывая, что бактериофаги являются одними из самых мощных антимикробных агентов, совершенствование фаготерапии позволит обеспечить новый подход к лечению с целью преодоления антибиотикорезистентности бактерий.

Таким образом, учитывая отсутствие статистического подтверждения о влиянии тех или иных микроорганизмов полости матки на репродуктивный исход, микробиота эндометрия требует дальнейших исследований. Очевидно, значение имеет не только факт наличия микробов, а индивидуальные особенности макроорганизма, а также взаимодействие микроорганизмов с макроорганизмом. Чёткое понимание механизмов дисбиотических процессов, механизма развития хронического вялотекущего воспалительного процесса в полости матки, а также его своевременная диагностика и лечение является одним из основополагающих вопросов в лечении пациенток с ПНИ в анамнезе.

## ВЫВОДЫ

1. Значимым фактором в прогнозировании шанса наступления беременности является наличие внутриматочных манипуляций в анамнезе. При селективном переносе эмбриона хорошего/отличного качества шанс наступления беременности у женщин с I попыткой ЭКО и отсутствием внутриматочных манипуляций выше в 3,4 раза по сравнению с пациентками с ПНИ и наличием двух и более манипуляций в анамнезе (95% ДИ:1,14- 10,5) при сопоставимых параметрах фолликулогенеза и раннего эмбриогенеза.

2. В видовом составе микроорганизмов полости матки у женщин с I попыткой ЭКО статистически значимо преобладали *G. vaginalis* и облигатно-анаэробные микроорганизмы по сравнению с пациентками с повторными неудачами имплантации и переносом эмбриона в криоцикле ( $p=0,05;0,02$ ). В видовом и количественном составе микробиоты цервикального канала не было обнаружено статистически значимого преобладания отдельных видов микроорганизмов.

3. Сравнительные данные о составе микробиоты полости матки и цервикального канала подтверждают концепцию о возможной нестерильности матки и существовании «самостоятельной» микробиоты, отличающейся от микробиоты нижних отделов репродуктивного тракта. Качественный состав и частота выделения различных видов микроорганизмов, обнаруженных в матке и цервикальном канале в общей когорте женщин, были идентичны только у 12,1% женщин, а у 87,9% - отличались.

4. Видовое разнообразие в полости матки у женщин с ПЭ в цикле овариальной стимуляции было выше, чем у женщин с ПЭ в криоцикле. У женщин с переносом эмбриона в криоцикле суммарно было обнаружено 35 видов микроорганизмов в полости матки (среднее количество видов на 1 женщину – 0,5). У пациенток с переносом эмбриона в циклах стимуляции суперовуляции было выделено 46 видов микроорганизмов (среднее количество видов на 1 женщину – 0,7).

5. У женщин как с наступившей беременностью, так и с ее отсутствием наиболее часто встречавшимися микроорганизмами в составе микробиоты полости матки были лактобациллы: в I группе соответственно 80,0% и 73,7%; во II группе - 90,2% и 79,0% и в III группе - 60,9% и 75,6%. Полученные данные не подтверждают гипотезу о роли лактобациллярной и нелактобациллярной микробиоты в генезе неудач имплантации эмбриона.

6. Частота выделения УПМ из полости матки и цервикального канала, а также количественный состав их выявления в цервикальном канале в умеренных концентрациях (до  $10^5$  КОЕ/мл) среди забеременевших и с отсутствием беременности женщин не имели статистически значимых отличий и не повлияли на исходы ВРТ у обследуемых групп.

7. У женщин с умеренно выраженными дисбиотическими нарушениями ( $10^4$ - $10^5$  КОЕ/мл), которым проводилась санация бактериофагами (n=44), частота наступления беременности составила 50% и родов – 88,8%. Применение бактериофагов может рассматриваться в качестве альтернативного способа коррекции дисбиотических нарушений.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Учитывая снижение частоты наступления беременности у женщин с наличием внутриматочных манипуляций в анамнезе, следует четко обосновывать каждое «вхождение» в полость матки.

2. У пациенток с повторными неудачами имплантации на этапе прегравидарной подготовки целесообразно проведение исследования микробиоты полости матки методом культуромики с идентификацией выделенных микроорганизмов методом времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF) и определением чувствительности к антибиотикам, учитывая ее доступность и высокую информативность.

3. Учитывая, что метагеномное секвенирование не является достаточно специфичным для работы с образцами с крайне низкой концентрацией ДНК, его использование без негативных контрольных образцов для оценки микробиоты полости матки в момент переноса эмбриона является сомнительным.

4. В случае выявления дисбиотических нарушений в цервикальном канале, коррекцию микробиоты необходимо проводить при обнаружении УПМ в умеренных ( $10^4$  -  $10^5$  КОЕ/мл) и высоких ( $10^6$  и более КОЕ/мл) концентрациях.

5. При обнаружении УПМ в умеренных концентрациях целесообразно применение бактериофаготерапии, а при обнаружении УПМ в высоких концентрациях - использование антибактериальной терапии с последующим назначением пробиотиков.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АМГ – антимюллеров гормон
- БВ – бактериальный вагиноз
- ВИЧ – вирус иммунодефицита человека
- ВЗОМТ – воспалительные заболевания органов малого таза
- ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
- ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии
- ДГЭА-С – дегидроэпиандростерона-сульфат
- ДНК- дезоксирибонуклеиновая кислота
- ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
- ЗГТ – заместительная гормональная терапия
- ИКСИ – интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида
- ИППП – инфекции, передаваемые половым путём
- КОЕ – колониеобразующая единица
- ЛГ – лютеинизирующий гормон
- НГЭ – наружный генитальный эндометриоз
- ПГД – предимплантационная генетическая диагностика
- ПНИ – повторные неудачи имплантации
- ПРЛ – пролактин
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- ПЭ – перенос эмбриона(ов)
- РАРЧ – Российская ассоциация репродукции человека
- РНК – рибонуклеиновая кислота
- ТТГ – тиреотропный гормон
- УЗИ – ультразвуковое исследование
- УПМ – условно-патогенные микроорганизмы
- ХЭ – хронический эндометрит
- ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение

ЭКГ – электрокардиография

EMMA – Endometrial microbiome metagenomic analysis

ESHRE – Европейское общество по вопросам репродукции человека и эмбриологии

HMP – Human Microbiom Project

Ig – иммуноглобулин

IL – интерлейкин

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Айламазян Э.К. Микробиота женщины и исходы беременности / Э. К. Айламазян, Е. А. Шипицина, А. М. Савичева А.М. // Журнал акушерства и женских болезней. - 2016. - Т. 65., № 4. - С. 6 - 14.
2. Амриева Д.Х. Хронический эндометрит: патогенетические аспекты / Д. Х. Амриева, Ю. А. Петров // Вестник ДГМА. - 2019. - Т. 4., N 33. - С. 59 - 63.
3. Антонян А.А. Особенности межмикробных взаимоотношений микрофлоры толстого кишечника / А. А. Антонян, Е. А. Горбунова // Международный студенческий научный вестник. - 2018. - №1. - С. 23.
4. Бактериальные сообщества, формирующие микроэкосистему влагалища в норме и при бактериальном вагинозе / В. В. Назарова, Е. В. Шипицина, К. В. Шалепо [и др.] // Журнал Акушерства и женских болезней. - 2017. - Т. 66., № 6. - С. 30 - 47.
5. Бактериальный вагиноз и аэробный вагинит как основные нарушения вагинальной микрофлоры. Особенности диагностики и терапии / А. М. Савичева, Н. И. Тапильская, Е. В. Шипицина [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2017. - № 5. - С. 24 - 31.
6. Бактериальный вагиноз как фактор риска преждевременных родов / Н. Н. Рухляда, А. Н. Тайц, Л. А. Романова [и др.] // Педиатр. - 2019. - Т. 10., № 4. - С. 97 - 101.
7. Боярский, К.Ю. Микробиом репродуктивной системы человека / К. Ю. Боярский, Е. И. Кахиани // Проблемы репродукции. - 2019. - Т. 25., № 4. - С. 27 - 34.
8. Буданов, П.В. Альтернатива антибиотикотерапии в акушерстве и гинекологии / П. В. Буданов, Ж. Д. Новахова, А. А. Чурганова // РМЖ. Акушерство и гинекология. - 2015. - № 1. - С. 14 - 18.

9. Будилова, О.В. Современные представления о лактобациллах влагалища женщин репродуктивного возраста / О. В. Будилова // Журнал Акушерства и женских болезней. - 2016. - Т. 15., Вып.4. - С. 33 - 43.
10. Вспомогательные репродуктивные технологии у супружеских пар с высоким риском генетических нарушений. Предимплантационный генетический скрининг / Е. В. Кулакова, Е. А. Калинина, Д. Ю. Трофимов [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2017. - N 8. - С. 21 - 27.
11. Гинекология. Национальное руководство. [Электронный ресурс]: руководство / Под ред. Савельевой Г.М., Сухих Г.Т., Серов В.Н., Радзинский В.Е., Манухин И.Б. - 2-е изд. перераб. и доп. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. -1088 С.
12. Годовалов А.П. Микробиота кишечника и влагалища женщин со вторичным бесплодием и заболеваниями желудочно-кишечного тракта / А. П. Годовалов, Н. С. Карпунина, Т. И. Карпунина // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. - 2016. - № 6 (130). - С. 109 - 113.
13. Годовалов, А.П. Состав микробиоты репродуктивного тракта женщин при бесплодии / А. П. Годовалов, Т. И. Карпунина // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2020. - №1. - С. 26 - 31.
14. Годовалов А.П. Особенности межмикробных отношений в микробиоте влагалища инфертильных женщин / А. П. Годовалов, Т. И. Карпунина, М. О. Гуцин // Медицинский академический журнал. - 2017. - Т. 17., № 4. - С. 53 - 54.
15. Дикке Г.Б. Пробиотики в восстановлении нормального микробиоценоза влагалища и профилактике рецидивов бактериальных инфекций / Г. Б. Дикке // Фарматека. - 2019. - Т. 26., №6. - С. 97 - 105.
16. Доброхотова Ю.Э. Микробиота репродуктивного тракта и гиперпластические процессы эндометрия (обзор литературы) / Ю. Э. Доброхотова, К. К. Якубова // Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение. - 2018. - Т. 2., № 10. - С. 14 - 16.
17. Донников А.Е. Бактериальный вагиноз и вагинит. Новый взгляд на старую проблему / А. Е. Донников // Фарматека. - 2016. - №12 (235). - С. 6 - 12.

18. Заболевания женской половой сферы: бактериальный вагиноз и заболевания, передающиеся половым путем / М. М. Зверинцева, Л. Г. Гаврилова, Т. А. Емельянова [и др.] // Главный врач Юга России. - 2017. - №4 (57). - С. 61 - 63.
19. Ивашкин В.Т. Микробиом человека в приложении к клинической практике / В. Т. Ивашкин, К. В. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2017. - Т. 27., N 6. - С. 1 - 10.
20. Касян В.Н. Реабилитация пациенток репродуктивного возраста с рецидивирующим вагинозом, вульвовагинитом и циститом: роль контрацептивов с эстрогенами, идентичными натуральным. Обзор литературы / В. Н. Касян // Проблемы репродукции. - 2018. - Т 24., № 6. - С. 61 - 66.
21. Кислицына Н.Д. Дисбактериоз кишечника – фактор риска или непосредственная причина невынашивания беременности? / Н. Д. Кислицына, А. А. Безменко // Журнал акушерства и женских болезней. - 2018. - Т. 67., № 2. - С.70 - 78.
22. Климова О.И. и др. Забытые возможности. Прошлое, настоящее и будущее фаготерапии / О. И. Климова // Status Praesens. - 2016. - С. 39 - 45.
23. Клинические и микробиологические аспекты хронического эндометрита у женщин репродуктивного возраста / Л. А. Марченко, Г. Е. Чернуха, О. В. Якушевская [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. - 2016. - Т.61., № 9 - 10. - С. 44 - 51.
24. Костин И.Н. Значение и результаты международного исследовательского проекта «Микробиом человека» / И.Н. Костин, Л.Ю. Куванкина, Х.Ю. Симоновская // StatusPraesens. - 2013. - №5(16). - С. 9 - 15.
25. Кочеровец В.И. Изучение микробиоты женских половых органов: теория и практика применения двухэтапной терапии дисбиотических состояний / В. И. Кочеровец // Акушерство и гинекология. - 2018. - № 8. - С. 174 -179.
26. Критерии диагностики бактериального вагиноза с использованием теста Фемофлор-16 / В. В. Назарова, Е. В. Шипицына, Е. Н. Герасимова [и др.] //Журнал акушерства и женских болезней. - 2017. - Т. 66., № 4. - С. 57 - 67.

27. Кузнецова И.В. Трудности терапии аэробного вагинита и пути их преодоления / И. В. Кузнецова // Медицинский алфавит. - 2017. - Т 2., №10 (307). - С.23 - 29.
28. Кузьмин В.Н. Микробиом в акушерстве и гинекологии: переоценка взглядов на микробное сообщество репродуктивной системы / В. Н. Кузьмин, И. О. Стома, Л. В. Адамян // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. - 2020. - Т. 9., № 2 (33). - С. 94 - 98.
29. Марьянович А.Т. Кишечный барьер, микробиота, микробиом / А. Т. Марьянович // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. - 2016. - №2 (126). - С. 64 - 69.
30. Мелешкин, Н.С. Биопленка как форма существования микроорганизмов. Действие факторов иммунной системы / Н. С. Мелешкин // Международный студенческий научный вестник. - 2017. - № 2. - С. 32.
31. Микробиота эндометрия женщин с хроническим эндометритом идиопатическим бесплодием / Н. И. Тапильская, О. В. Будилова, А. А. Крысанова [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2020. - № 4. - С.72 - 81.
32. Молекулярное типирование штаммов «*Gardnerella vaginalis*», выделенных у женщин репродуктивного возраста с верифицированным диагнозом бактериального вагиноза / Т. В. Припутневич, В. В. Муравьева, А. Е. Донников [и др.] // Бактериология. - 2018. - Т. 3., №4. - С. 26 - 32.
33. Молчанов, О.Л. Микроэкосистема влагалища. Особенности функционирования в норме / О. Л. Молчанов, Е. Ф. Кира // Акушерство и гинекология Санкт-Петербурга. - 2018. - №1. - С. 65 - 68.
34. Никонова, Е.Л. Микробиота. Монография / Е. Л. Никонова, Е. Н. Попова. - М., 2019. - 256 С.
35. Подходы диагностики вагинальной микрофлоры женщины / Л. М. Дьяков, А. В. Ходяков, А. С. Коновалов [и др.] // Трудный пациент. - 2018. - №10. - С. 51 - 54.

36. Попова Е.Н. Современные представления о микробиоте человека / Е. Н. Попова, Е. Н. Гордеева // Микробиота под редакцией Никонова Е.Л., Поповой. - М., 2019. - С. 7 - 19.
37. Припутневич Т.В. Масс-спектрометрия – новое слово в клинической микробиологии / Т. В. Припутневич, А. Р. Мелкумян // Клиническая лабораторная диагностика. - 2016. - Т. 61., № 12. - С. 842 - 848.
38. Припутневич Т.В. Молекулярно – генетические и фенотипические особенности синантропных и патогенных штаммов «*Gardnerella vaginalis*» / Т. В. Припутневич, В. В. Муравьева, А. Б. Гордеев // Акушерство и гинекология. - 2019. - №3. - С. 10 - 17.
39. Регистр ВРТ. Отчет за 2017 год. - 75 С.
40. Рищук С.В. Дисбиоз влагалища: новый взгляд на проблему / С.В. Рищук // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. - 2016. - Т. 15., № 3. - С. 54 - 63.
41. Роль вспомогательного хетчинга в программах лечения бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий: обзор литературы / Э. О. Ибрагимова, Н. В. Долгушина, А. Г. Сыркашева [и др.] // Гинекология. - 2016. - Т. 18., N 2. - С. 44 - 47.
42. Роль фаготерапии в моделировании микроэкосистемы кишечника / С. В. Гладков, Н. К. Перевошица, Н. С. Черных [и др.] // Медико - фармацевтический журнал. Пульс. - 2020. - Т. 22., № 10-12. - С. 183 -191.
43. Роль эндометрия в решении вопроса бесплодия, невынашивания беременности / Э. М. Гатагажева, З. А. Льянова, М. М. Гатагажева [и др.] // Дневник казанской медицинской школы. - 2017. - № 2., N 16. - С. 58 - 61.
44. Сабинова, В.Л. Новый подход в обследовании и лечении хронического эндометрита у пациенток с повторными неудачами экстракорпорального оплодотворения / В. Л. Сабинова, Н. А. Илизарова // Медицинский совет. - 2020. - №20. - С.178 - 185.

45. Синякова А.А. Современные представления о микробиоценозе влагалища и его влиянии на исходы беременности / А. А. Синякова // Журнал акушерства и женских болезней. - 2017. - Т. 66., № 6. - С. 89 -100.
46. Современные представления о микробиоте в гинекологии / Г. И. Табеева, М. Р. Думановская, Г. Е. Чернуха [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2020. - № 2. - С. 38 - 44.
47. Соловьева А.В. Нарушения биоценоза влагалища у женщин репродуктивного возраста / А. В. Соловьева, В. Гаче // Акушерство и гинекология. - 2017. - №4. - С.126 - 131.
48. Тайны патогенеза повторных неудач имплантации / М. Р. Оразов, Р. Е. Орехов, Д. П. Камиллова [и др.] // Трудный пациент. - 2020. - Т. 18. - С. 43 - 48.
49. Тихончук Е.Ю. Молекулярно-биологические изменения эндометрия у женщин с наружно-генитальным эндометриозом / Е. Ю. Тихончук, А. В. Асатурова, Л. В. Адамян // Акушерство и гинекология. - 2016. - N11. - С. 42 - 48.
50. Уровень экспрессии гена кальмодулина в кумулюсных клетках как маркер наличия хромосомных аномалий в эмбрионах в программах экстракорпорального оплодотворения / Н. А. Сафронова, Е. А. Калинина, А. Е. Донников [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2016. - N 10. - С. 64 - 72.
51. Хетчинг бластоцисты у человека / Р. А. Шафеи, А. Г. Сыркашева, А. Ю. Романов [и др.] // Онтогенез. - 2017. - Т. 48., N1. - С. 8 - 20.
52. Царев В.Н. Пародонтопатогенные бактерии - основной фактор возникновения и развития пародонтита / В. Н. Царев, Е. Н. Николаева, Е. В. Ипполитов // Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунобиологии. - 2017. - №5. - С 101 - 102.
53. Чаплин А.В. Микробиом человека / А. В. Чаплин, Д. В. Ребриков, М. Н. Болдырева // Вестник Российского государственного медицинского университета. - 2017. - №2. - С. 5 - 13.
54. Чертовских М.Н. Оптимизация прегравидарной подготовки больных с неудачными программами ВРТ при бесплодии / М. Н. Чертовских, С. И. Кулинич

// Бюллетень Восточно - Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. - 2013. - №2-2 (90). - С. 60 - 64.

55. Эндометриоз, аденомиоз, хронический эндометрит: клинико-патогенетические взаимоотношения и репродуктивные неудачи / А. Л. Унанян, Т. С. Сидорова, Е. А. Коган [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2018. - N10. -. С. 136 - 140.

56. Эффективность программы экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов у женщин с хроническим неспецифическим эндометритом / Я. А. Коваленко, В. А. Крутова, Н. В. Наумова [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. - 2017. - Т.24., №6. - С. 59 - 64.

57. A case report of tubo-ovarian abscess caused by *Burkholderia pseudomallei* / P. Nernsai, A. Sophonsritsuk, S. Lertvikool [ et al.] // BMC Infectious Diseases. - Vol. 18, no. 1, p.

58. A critical assessment of the "sterile womb" and "in utero colonization" hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome / ME. Perez-Muñoz, MC Arrieta, AE. Ramer-Tait [ et al.] // Microbiome. - 2017. - Apr 28, Vol.5., N 1. - P. 48.

59. A pilot study and case reports on endometrial microbiota and pregnancy outcome: An analysis using 16S rRNA gene sequencing among IVF patients, and trial therapeutic intervention for dysbiotic endometrium / K. Kyono, T. Hashimoto, S. Kikuchi [ et al.] // Reproduction Medicine Biology. - 2018. - Oct 25; Vol.18., N1. - P. 72 - 82.

60. A retrospective pilot study to determine whether the reproductive tract microbiota differs between women with a history of infertility and fertile women / B. A. Wee, M. Thomas, EL. Sweeney [et al.] // Aust N Z J Obstetrics Gynecolog. - 2018. - Vol.58. - P. 341 - 348.

61. Aerobic vaginitis in late pregnancy and outcomes of pregnancy / C. Han, H. Li, L. Han [ et al.] // Eur J Clinical Microbiology Infect Dis. - 2019. - Vol.38., N 2. - P. 233 - 239.

62. Assessment of microbiota: host interactions at the vaginal mucosa interface / YS. Lee, Pruski, HV. Lewis, JR. Marchesi [et al.] // *Methods*. - 2018. - Vol.1., N149. - P.74 - 84.
63. Bacterial Colonization of the Female Upper Genital Tract /A. Peric, J. Weiss, N. Vulliemoz [ et al.] // *Int J Mol Sci*. - 2019. - Jul 11, Vol.20., N 14. - P. 3405.
64. Baker, JM. Uterine Microbiota: Residents, Tourists, or Invaders? / J.M. Baker, DM. Chase, MM. Herbst-Kralovetz // *Front Immunology*. - 2018. - Vol. 2., N 9. - P.208.
65. Barcoded sequencing reveals diverse intrauterine microbiomes in patients suffering with endometrial polyps / R. L. Wang, LX. Chen, WS. Shu [et al.] // *Am J Transl Res*. – 2016. – N 8. – P.1581 - 1592.
66. Bedaiwy MA. «Endometrial macrophages, endometriosis, and microbiota: time to unravel the complexity of the relationship / MA. Bedaiwy // *Fertility Sterility*. - 2019. -Vol.112., N 6. - P. 1049 - 1050.
67. Benner Marilen., Ferwerda Gerben, Joosten Irma, Renate G. van der Molen. How uterine microbiota might be responsible for a receptive, fertile endometrium // *Human Reproduction Update*. - 2018. - Jul 1; Vol.24., N 4. - P. 393 - 415.
68. Brabant, G. Bacterial vaginosis and spontaneous preterm birth / G. Brabant G. // *J Gynecology Obstetrics Biology Reproduction (Paris)*. - 2016. - Vol. 45., N 10. - P.1247 - 1260.
69. Bradshaw, C.S. Current treatment of bacterial vaginosis-limitations and need for innovation / C. S. Bradshaw, J. D. Sobel // *J. Infection Dis*. - 2016. -Vol. 214, (Suppl.1). - S. 14 - 20.
70. Cervicovaginal microbiota and local immune response modulate the risk of spontaneous preterm delivery / MA. Elovitz, P. Gajer, V. Riis [ et al.] // *J. Nat Commun*. - 2019. - Mar 21; Vol.10., N 1. - P.1305.
71. Characterizing the endometrial microbiome by analyzing the ultra-low bacteria from embryo transfer catheter tips in IVF cycles: next generation sequencing (NGS) analysis of the 16 S ribosomal gene / X. Tao, JM. Franasiak, Y. Zhan [ et al.] // *Human Microbiome J*. - 2017. - N 3. - P. 15 - 21.

72. Characterisation of the human uterine microbiome in non-pregnant women through deep sequencing of the V1-2 region of the 16 S rRNA gene / H. Verstraelen, R. Vilchez-Vargas, F. Desimpel [ et al.] // *Peer J.* - 2016. - Vol.4. -e1602.
73. Characterization of Microbiota in Endometrial Fluid and Vaginal Secretions in Infertile Women with Repeated Implantation Failure / Kotaro Kitaya, Yoko Nagai, Wataru Arai [ et al.] // *Hindawi Mediators of Inflammation.* - 2019. - Vol. 21. - P. 4893437.
74. Chronic endometritis in patients with unexplained infertility: Prevalence and effects of antibiotic treatment on spontaneous conception / E. Cicinelli, M. Matteo, G. Trojano G. [ et al.] // *Am. J. Reproduction Immunology.* - 2018. - Vol. 79., N1. - P. 1 - 6.
75. Chronic Endometritis and Infertility / Hyun Jong Park, You Shin Kim , Tae Ki Yoon [ et al.] // *Clinical Exp Reproduction Medicine.* - 2016. - Vol. 43., N 4. - P.185 - 192.
76. Colonization of the upper genital tract by vaginal bacterial species in nonpregnant women / CM. Mitchell, A. Haick, E. Nkwopara [ et al.] // *Am J Obstetrics Gynecology.* – 2015. – Vol. 212, N 5. – P. 611.e1-9.
77. Côté, N. Spontaneous preterm birth and the maternal microbiome / N. Côté, JC. Pasquier // *Med Sci (Paris).* - 2018. - Vol. 34., N10. - P. 799 - 805.
78. Donnez, J. An update on uterine cervix pathologies related to infertility / J. Donnez // *Fertility Sterility.* - 2020. - Vol.113., N 4. - P. 683 - 684.
79. Eienkel, R. Microorganisms in the healthy upper reproductive tract: from denial to beneficial assignments for reproductive biology / R. Eienkel, M. Zygmunt, DO. Muzzio // *Reproduction Biology.* - 2019. - Vol.19., N 2. - P. 113 - 118.
80. Endometrial microbes and microbiome: Recent insights on the inflammatory and immune players" of the human endometrium / S. D'Ippolito, F. Di Nicuolo, A. Pontecorvi [ et al.] // *Am J Reproduction Immunology.* - 2018. - Vol. 80., N 6. -e13065.

81. Endometrial microbiome at the time of embryo transfer: next-generation sequencing of the 16S ribosomal subunit / J. M. Franasiak, M. D. Werner, C. R. Juneau [ et al.] // *J Assist Reproduction Genetic*. - 2016. - Vol. 33., N 1. - P.129 - 136.
82. Escobar, MF. Immunological Role of the Maternal Uterine Microbiota in Postpartum Hemorrhage / MF. Escobar, MA. Hincapie, JS. Barona // *Front Immunology*. - 2020. - Vol. 31., N 11. - P. 504.
83. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure / I. Moreno, FM. Codoñer, F. Vilella [et al.] // *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. - 2016. - Vol. 215., N 6. - P. 684 - 703.
84. Franasiak, J.M. Endometrial microbiome / J. M. Franasiak, Scott Richard T. // *Current Opinion Obstetrics Gynecology*. - 2017. - Vol. 29. - P.146 - 152.
85. Hashimoto, T. Does dysbiotic endometrium affect blastocyst implantation in IVF patients? Version 2. / T. Hashimoto, K. Kyono // *J Assist Reproduction Genetic*. - 2019. - Vol.36., N 12. - P. 2471 - 2479.
86. Human Endometrial Microbiota at Term of Normal Pregnancies / C. Leoni, O. Ceci, C. Manzari [ et al.] // *Genes (Basel)*. - 2019. - Vol. 26., N10 (12). - P. 971.
87. Investigating the effect of an abnormal cervico-vaginal and endometrial microbiome on assisted reproductive technologies: A systematic review / T. Bracewell-Milnes, S. Saso, D. Nikolaou [ et al.] // *J Reproduction Immunology*. - 2018. - Vol.80., N 5. - e13037.
88. Igenomix Foundation. EMMA Endometrial Microbiome Metagenomic Analysis: A screening test to evaluate the endometrium at the microbiological level. Available online: <https://www.igenomix.com/genetic-solutions/emma-clinics/> (accessed on 23 February 2020).
89. Işık, G. Bacterial vaginosis in association with spontaneous abortion and recurrent pregnancy losses / G. Işık, S. Demirezen, HG. Dönmez, MS Beksaç // *J Cytology*. - 2016. - Vol.33., N 3. - P.135 - 140.
90. Identification of novel microbes associated with pelvic inflammatory disease and infertility / CL. Haggerty, PA. Totten, G. Tang [ et al.] // *Sex Transm Infection*. - 2016. - Vol.92., N 6. - P.441 - 446.

91. Live birth rate following oral antibiotic treatment for chronic endometritis in infertile women with repeated implantation failure / K. Kitaya, H. Matsubayashi, Y. Takaya [et al.] // *Am. J. Reproduction Immunology*. - 2017. - Vol. 78. - e12719.
92. Maternal influence on the fetal microbiome in a population-based study of the first-pass meconium / T. Tapiainen, N. Paalanen, MV. Tejesvi [ et al.] // *Pediatric Res*. - 2018. - Vol. 84., N 3. - P. 371 - 379.
93. Measuring infertility in populations: constructing a standard definition for use with demographic and reproductive health surveys / MN Mascarenhas, H. Cheung, CD. Mathers [ et al.] // *Popul Health Metr*. - 2012. -Vol. 31;10(1). - P.17.
94. Microbiota and metabolic diseases / A. Pascale, N. Marchesi, C. Marelli [ et al.] // *Endocrine*. -2018. - Vol. 61., N 3. - P. 357 - 371.
95. Miles, SM. Investigation of the microbiota of the reproductive tract in women undergoing a total hysterectomy and bilateral salpingoopherectomy / SM. Miles, BL. Hardy, DS. Merrell // *Fertilite Sterility*. - 2017. - Vol.107. - P. 813 - 820.e811.
96. Mendling, W. Vaginal Microbiota / W. Mendling // *Adv Exp Med Biology*. - 2016. - Vol. 902. - P. 83 - 93.
97. Microbiota and Human Reproduction: The Case of Female Infertility / R. Tomaiuolo, I. Veneruso, F. Cariati [ et al.] // *High Throughput*. - 2020. - May 3, Vol.9., N 2. - E12.- P.1-15.
98. Moreno, I. Endometrial microbiota – new player in town / I. Moreno, J. M. Franasiak // *Fertility Sterility*. - 2017. - Vol.108., N 1. - P. 32 - 39.
99. Otsuki, K. Effects of lactoferrin in 6 patients with refractory bacterial vaginosis / K. Otsuki, N. Imai // *Biochemie Cell Biology*. - 2017. - Vol. 95. - P. 31 - 33.
100. Parnell, LA. Maternal microbiomes in preterm birth: Recent progress and analytical pipelines / LA. Parnell, CM. Briggs, IU. Mysorekar // *Seminar Perinatology*. - 2017. - Vol. 41., N 7. - P. 392 - 400.
101. Population-level analysis of gut microbiome variation / G. Falony, M. Joossens, S. Vieira-Silva [et al.] // *Science*. - 2016. - Apr 29; Vol. 352 (6285). - P. 560 - 564.

102. Potential contribution of the uterine microbiome in the development of endometrial cancer / MR. Walther-Antonio, J. Chen, F. Multinu [et al.] // *Genome Medicine*. - 2016. - N 8. - P.122.

103. Power, ML. Reproductive Microbiomes: A New Thread in the Microbial Network / ML. Power, C. Quaglieri, J. Schulkin // *J. Reproduction Sci.* - 2017. - Vol. 24., N 11. - P.1482 - 1492.

104. Protective effect of Probiotic Bacteria and Estrogen in Preventing HIV-1-Mediated Impairment of Epithelial Barrier Integrity in Female Genital Tract / S. Dizzell, A. Nazli, G. Reid [ et al.] // *Cells*. - 2019. - Sept. 21; Vol.8., N 10. - P. 1120.

105. Quantitative PCR studies of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Treponema denticola*/*Tanarella forsythensis* Complex as Etiological Factors of Chronic Periodontitis / OO. Yanushevich, RA. Ayvazova, AV. Shibaeva [ et al.] // *Bull Exp Biology Medicine*. - 2016. - Vol.160., N 4. - P. 495 - 497.

106. Role of the microbiome in human development / MG. Dominguez-Bello, F. Godoy-Vitorino, R. Knight [ et al.] // *Gut*. - 2019. - Vol.68., N 6. - P.1108 - 1114.

107. Rate of true recurrent implantation failure is low: results of three successive frozen euploid single embryo transfers / Paul Pirtea, Dominique De Ziegler, Xin Tao [ et al.] // *Fertility Sterility*. - 2021. - Vol.115., N 1. - P. 45 - 53.

108. Rooks, MG. Gut microbiota, metabolites and host immunity/ MG. Rooks, WS. Garrett // *Nat Rev Immunology*. - 2016. - May 27. - Vol. 16., N 6. - P. 341 - 352.

109. Santillan, I. et al. Where and when should natural killer cells be tested in women with repeated implantation failure? // *J Reproduction Immunology*. - 2015. - Vol. 108. - P.142 - 148.

110. Selection of New Probiotics for Endometrial Health / E. Chenoll, I. Moreno, M. Sánchez [et al.] // *Front. Cell. Infection Microbiology*. - 2019. - N 9. - P. 114.

111. Stinson, LF. Planting the seed: Origins, composition, and postnatal health significance of the fetal gastrointestinal microbiota / LF. Stinson, MS. Payne, JA. Keelan // *Crit Rev Microbiology*. - 2017. - Vol. 43., N 3. - P. 352 - 369.

112. Susanna Pajua, Juha Oittinen, Henna Haapalaa, Sirkka Asikainen, Jorma Paavonen and Pirkko J. Pussinen. «*Porphyromonas gingivalis*» may interfere with conception in women // *J Oral Microbiology*. - 2017. - Jun 12, Vol.9., N 1. - P. 1330644.
113. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases / C. Chen, X. Song, W. Wei [et al.] // *Nat Commun*. - 2017. - N 8. - P. 875.
114. The human microbiome in evolution / ER. Davenport, JG. Sanders, SJ. Song [et al.] // *BMC Biology*. - 2017. - Dec 27, Vol.15., N1. - P.127.
115. The role of infection in miscarriage / S. Giakoumelou, N. Wheelhouse, K. Cuschieri [et al.] // *Human Reproduction Update*. - 2016. - Vol. 22., N 1. - P.116 - 133.
116. Tomoko, Hashimoto Does dysbiotic endometrium affect blastocyst implantation in IVF patients? / Tomoko Hashimoto, Koichi Kyono // *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. - 2019. -Vol. 36. - P.2471 - 2479.
117. Uterine Immunity and Microbiota: A Shifting Paradigm / C. Agostinis, A. Mangogna, F. Bossi [et al.] // *Front Immunology*. - 2019. - Vol. 17., N10. - P.2387.
118. Uterine microbiome and endometrial receptivity // I. Crha, P. Ventruba, J. Žáková [et al.] // *Ceska Gynekology*. - 2019. - Vol. 84., N1. - P. 49 - 54.
119. Vaginal Microbiomes Associated With Aerobic Vaginitis and Bacterial Vaginosis / E. Kaambo, C. Africa, R. Chambuso [et al.] // *Front Public Health*. - 2018. - Vol. 26., N 6. - P. 78.
120. Varinos, Inc. Innovate Reproductive Health by Genomic Testing. Available online: <https://www.varinos.com/english> (accessed on 23 February 2020).
121. Women and Their Microbes: The Unexpected Friendship / JA. Younes, E. Lievens, R. Hummelen [et al.] // *Trends Microbiology*. - 2018. - Vol. 26., N 1. - P.16 - 32.



Продолжение Таблицы 11

<i>Staphylococcus hominis</i>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	5,3% (1)	3,7% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
До 10 <sup>3</sup>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	5,3% (1)	3,7% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
<b><i>Staphylococcus spp.</i></b>	25,0% (5)	21,0% (4)	23,1% (9)	0% (0)	10,5% (2)	7,4% (2)	4,3% (1)	17,1% (7)	12,5% (8)	0% (0)
До 10 <sup>3</sup>	20,0% (4)	21,0% (4)	20,5% (8)	0% (0)	10,5% (2)	7,4% (2)	4,3% (1)	17,1% (7)	12,5% (8)	0% (0)
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	5,0% (1)	0% (0)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
<i>Enterococcus faecalis</i>	10,0% (2)	10,5% (2)	10,3% (4)	12,5% (1)	21,0% (4)	18,5% (5)	8,7% (2)	12,2% (5)	10,9% (7)	0% (0)
До 10 <sup>3</sup>	10,0% (2)	10,5% (2)	10,3% (4)	12,5% (1)	21,0% (4)	18,5% (5)	8,7% (2)	9,8% (4)	9,3% (6)	0% (0)
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)	0% (0)
<b><i>Enterococcus spp.</i></b>	10,0% (2)	10,5% (2)	10,3% (4)	12,5% (1)	21,0% (4)	18,5% (5)	8,7% (2)	12,2% (5)	10,9% (7)	0% (0)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	5,0% (1)	10,5% (2)	7,7% (3)	0% (0)	5,3% (1)	3,7% (1)	0% (0)	7,3% (3)	4,7% (3)	0% (0)
До 10 <sup>3</sup>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)	0% (0)
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	5,0% (1)	5,3% (1)	5,1% (2)	0% (0)	5,3% (1)	3,7% (1)	0% (0)	4,9% (2)	3,1% (2)	0% (0)
<i>Streptococcus anginosus</i>	15,0% (3)	5,3% (1)	10,3% (4)	12,5% (1)	15,8% (3)	14,8% (4)	8,7% (2)	4,9% (2)	6,3% (4)	0% (0)
До 10 <sup>3</sup>	10,0% (2)	5,3% (1)	7,7% (3)	0% (0)	10,5% (2)	7,4% (2)	8,7% (2)	2,4% (1)	4,7% (3)	0% (0)
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	15,0% (1)	0% (0)	2,6% (1)	12,5% (1)	5,3% (1)	7,4% (2)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)	0% (0)
<i>Streptococcus salivarius</i>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	12,5% (1)	0% (0)	3,7% (1)	0% (0)	4,9% (2)	3,1% (2)	0% (0)
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	12,5% (1)	0% (0)	3,7% (1)	0% (0)	4,9% (2)	3,1% (2)	0% (0)
<i>Streptococcus mitis</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	8,7% (2)	2,4% (1)	4,7% (3)	0% (0)
До 10 <sup>3</sup>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	8,7% (2)	0% (0)	3,1% (2)	0% (0)
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)	0% (0)
<i>Streptococcus oralis</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,9% (2)	3,1% (2)	0% (0)
До 10 <sup>3</sup>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)	0% (0)



Продолжение Таблицы 11

До 10 <sup>3</sup>	0% (0)	10,5% (2)	5,1% (2)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	8,7% (2)	2,4% (1)	4,7% (3)
<i>Gardnerella vaginalis</i>	15,0% (3)	26,3% (5)	20,5% (8)	12,5% (1)	26,3% (5)	22,2% (6)	4,3% (1)	7,3% (3)	6,3% (4)				
До 10 <sup>3</sup>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)				
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	15,0% (3)	10,5% (2)	12,8% (5)	12,5% (1)	21,1% (4)	18,5% (5)	4,3% (1)	7,3% (3)	6,25% (4)				
10 <sup>6</sup> -10 <sup>7</sup>	0% (0)	10,5% (2)	5,1% (2)	0% (0)	5,3% (1)	3,7% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)				
<i>Atopobium vaginae</i>	5% (1)	0% (0)	2,6% (1)	12,5% (1)	5,3% (1)	7,4% (2)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)				
До 10 <sup>3</sup>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	12,5% (1)	0% (0)	3,7% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)				
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	5% (1)	0% (0)	2,6% (1)	0% (0)	5,3% (1)	3,7% (1)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)				
<i>Veillonella atypica</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	7,3% (3)	4,7% (3)				
До 10 <sup>3</sup>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,9% (2)	3,1% (2)				
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)				
<i>Veillonella parvula</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)				
До 10 <sup>3</sup>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)				
<i>Anaerococcus hydrogenalis</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)				
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)				
<i>Dialister microaerophilus</i>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	5,3% (1)	3,7% (1)	4,3% (1)	2,4% (1)	3,1% (2)				
До 10 <sup>3</sup>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,3% (1)	2,4% (1)	3,1% (2)				
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	5,3% (1)	3,7% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)				
<i>Finegoldia magna</i>	5,0% (1)	5,3% (1)	5,1% (2)	12,5% (1)	0% (0)	3,7% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)				
До 10 <sup>3</sup>	5,0% (1)	5,0% (1)	5,1% (2)	12,5% (1)	0% (0)	3,7% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)				
<i>Peptoniphilus harei</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,9% (2)	3,1% (2)				
До 10 <sup>3</sup>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,9% (2)	3,1% (2)				
<i>Propionibacterium acnes</i>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,9% (2)	3,1% (2)				

Продолжение Таблицы 11

До 10 <sup>3</sup>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,9% (2)	3,1% (2)
<i>Propionibacterium avidum</i>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
До 10 <sup>3</sup>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
<i>Clostridium perfringens</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,3% (1)	0% (0)	1,6% (1)
До 10 <sup>3</sup>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,3% (1)	0% (0)	1,6% (1)
<i>Prevotella bivia</i>	0% (0)	10,5% (2)	5,1% (2)	12,5% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	3,7% (1)	4,3% (1)	0% (0)	1,6% (1)
До 10 <sup>3</sup>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,3% (1)	0% (0)	1,6% (1)
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	0% (0)	10,5% (2)	10,5% (2)	12,5% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	3,7% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
<i>Prevotella amnii</i>	5% (1)	0% (0)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	5% (1)	0% (0)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
<b>Всего облигатно-анаэробных УИМ</b>	10% (2)	26,4% (5)	17,9% (7)	25% (2)	10,5% (2)	14,8% (4)	13,0% (3)	19,5% (8)	17,2% (11)				
До 10 <sup>3</sup>	5% (1)	15,8% (3)	10,2% (4)	12,5% (1)	0% (0)	3,7% (1)	13,0% (3)	9,75% (4)	10,9% (7)				
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	5% (1)	10,5% (2)	7,7% (3)	12,5% (1)	10,5% (2)	11,1% (3)	0% (0)	9,75% (4)	6,25% (4)				
<i>Alloscavdovia omnicozones</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	3,1% (2)				
До 10 <sup>3</sup>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	3,1% (2)				
<i>Bifidobacterium dentium</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	9,8% (4)	6,3% (4)				
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	9,8% (4)	6,3% (4)				
<i>Bifidobacterium longum</i>	10,0% (2)	10,5% (2)	10,3% (4)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,9% (2)	3,1% (2)				
До 10 <sup>3</sup>	10,0% (2)	10,5% (2)	10,3% (4)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)				
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,9% (2)	3,1% (2)				
<b><i>Bifidobacterium spp.</i></b>	10,0% (2)	10,5% (2)	10,3% (4)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	8,7% (2)	9,7% (4)	9,3% (6)				

Продолжение Таблицы 11

До 10 <sup>3</sup>	10,0% (2)	10,5% (2)	10,3% (4)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	8,7% (2)	0% (0)	3,1% (2)
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	9,7% (4)	6,25% (4)
<i>Lactobacillus jensenii</i>	50,0% (10)	57,9% (11)	53,8% (21)	37,5% (3)	52,6% (10)	48,1% (13)	39,1% (9)	46,3% (19)	43,8% (28)			
До 10 <sup>3</sup>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,3% (1)	7,3% (3)	6,25% (4)			
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	45,0% (9)	36,8% (7)	41,0% (16)	37,5% (3)	52,6% (10)	48,1% (13)	30,4% (7)	34,1% (14)	32,8% (21)			
10 <sup>6</sup> -10 <sup>7</sup>	5,0% (1)	21,0% (4)	12,8% (5)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,3% (1)	4,9% (2)	4,7% (3)			
<i>Lactobacillus crispatus</i>	45,0% (9)	57,9% (11)	51,3% (20)	50,0% (4)	68,4% (13)	63,0% (17)	39,1% (9)	46,3% (19)	43,8% (28)			
До 10 <sup>3</sup>	5,0% (1)	5,3% (1)	5,1% (2)	12,5% (1)	5,3% (1)	7,4% (2)	4,3% (1)	2,4% (1)	3,1% (2)			
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	40,0% (8)	36,8% (7)	38,5% (15)	25,0% (2)	63,2% (12)	51,9% (14)	30,4% (7)	41,5% (17)	37,5% (24)			
10 <sup>6</sup> -10 <sup>7</sup>	0% (0)	15,8% (3)	7,7% (3)	12,5% (1)	0% (0)	3,7% (1)	4,3% (1)	2,4% (1)	3,1% (2)			
<i>Lactobacillus gasseri</i>	30,0% (6)	21,0% (4)	25,6% (10)	12,5% (1)	26,3% (5)	22,2% (6)	17,4% (4)	17,1% (7)	17,2% (11)			
До 10 <sup>3</sup>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,3% (1)	4,9% (2)	4,7% (3)			
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	30,0% (6)	21,0% (4)	25,6% (10)	12,5% (1)	26,3% (5)	22,2% (6)	13,0% (3)	12,2% (5)	12,5% (8)			
10 <sup>6</sup> -10 <sup>7</sup>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)			
<i>Lactobacillus iners</i>	20,0% (4)	31,6% (6)	25,6% (10)	37,5% (3)	21,1% (4)	25,9% (7)	17,4% (4)	14,6% (6)	15,6% (10)			
До 10 <sup>3</sup>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	12,5% (1)	0% (0)	3,7% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)			
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	15,0% (3)	26,3% (5)	20,5% (8)	25,0% (2)	15,8% (3)	18,5% (5)	17,4% (4)	14,6% (6)	15,6% (10)			
10 <sup>6</sup> -10 <sup>7</sup>	5,0% (1)	5,3% (1)	5,1% (2)	0% (0)	5,3% (1)	3,7% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)			
<i>Lactobacillus vaginalis</i>	30,0% (6)	21,1% (4)	25,6% (10)	62,5% (5)**	10,5% (2)**	25,9% (7)	13,0% (3)	19,5% (8)	17,2% (11)			
До 10 <sup>3</sup>	20,0% (4)	10,5% (2)	15,4% (6)	12,5% (1)	0% (0)	3,7% (1)	4,3% (1)	12,2% (5)	9,4% (6)			
10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	10,0% (2)	10,5% (2)	10,3% (4)	50,0% (4)	10,5% (2)	22,2% (6)	8,7% (2)	7,3% (3)	7,8% (5)			
<i>Lactobacillus fermentum</i>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	5,3% (1)	3,7% (1)	4,3% (1)	0% (0)	1,6% (1)			
До 10 <sup>3</sup>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	5,3% (1)	3,7% (1)	4,3% (1)	0% (0)	1,6% (1)			



Продолжение Таблицы 11

$10^4-10^5$	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
<i>Lactobacillus saerimneri</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)
До $10^3$	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)
<b><i>Lactobacillus spp.</i></b>	95% (19)	94,7% (18)	94,9% (37)	87,5% (7)	94,8% (18)	92,6%(25)	82,6% (19)	21,7% (5)	52,2% (12)	46,3% (19)	4,9% (2)	53,7% (22)	52,2%(35)
До $10^3$	5% (1)	21% (4)	12,8% (5)	37,5% (3)	31,6% (6)	33,3% (9)	21,7% (5)	29,3% (12)	26,6%(17)	26,6%(17)	26,6%(17)	26,6%(17)	26,6%(17)
$10^4-10^5$	85% (17)	52,7% (10)	69,3% (27)	37,5% (3)	57,9% (11)	51,9%(14)	52,2% (12)	46,3% (19)	48,4%(31)	48,4%(31)	48,4%(31)	48,4%(31)	48,4%(31)
$10^6-10^7$	5% (1)	21% (4)	12,8% (5)	12,5% (1)	5,3% (1)	7,4% (2)	8,7% (2)	4,9% (2)	6,25% (4)	6,25% (4)	6,25% (4)	6,25% (4)	6,25% (4)
<i>Candida albicans</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)
До $10^3$	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)
<i>Candida tropicalis</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)
До $10^3$	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)
<b><i>Candida spp.</i></b>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,9% (2)	3,1% (2)
Всего УИМ	60,0% (12)	73,7% (14)	66,6% (26)	62,5% (5)	52,6% (10)	55,5%(15)	56,5% (13)	53,7% (22)	52,2%(35)	52,2%(35)	52,2%(35)	52,2%(35)	52,2%(35)

**Примечание:** \*\* значения представлены как статистически значимые в подгруппах сравнения внутри одной группы: Па-Пб *L. vaginalis* (p=0,02).

КОЕ – колониеобразующие единицы

Б «+» беременные; Б «-» небеременные

Таблица 12. Частота выделения различных микроорганизмов из полости матки у женщин, включенных в исследование

Микроорганизмы в эндометрии	I попытка ЭКО (n= 39)			ПНИ с ПЭ в цикле стимуляции (n=27)			ПНИ с ПЭ в криоцикле (n=64)		
	Б+ (n=20)	Б - (n=19)	Всего (n=39)	Б + (n=8)	Б - (n=19)	Всего (n=27)	Б + (n=23)	Б - (n=41)	Всего (n=64)
<i>Escherichia coli</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	12,5% (1)	0% (0)	3,7% (1)	13,5% (3)	2,4% (1)	6,3% (4)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,3% (1)	0% (0)	1,6% (1)
<i>Proteus mirabilis</i>	5,0% (1)	0% (0)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
<b>Семейство Enterobacteriaceae</b>	5,0% (1)	0% (0)	2,6% (1)	12,5% (1)	0% (0)	3,7% (1)	13,0% (3)	2,4% (1)	6,25% (4)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5,0% (1)	10,5% (2)	7,7% (3)	0% (0)	5,3% (1)	3,7% (1)	17,4% (4)	19,5% (8)	18,8% (12)
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	10,5% (2)	7,4% (2)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)
<i>Staphylococcus warneri</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)
<i>Staphylococcus hominis</i>	5,0% (1)	0% (0)	2,6% (1)	12,5% (1)	5,3% (1)	7,4% (2)	0% (0)	9,8% (4)	6,3% (4)
<i>Staphylococcus capitis</i>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)
<b>Staphylococcus spp.</b>	10,0% (2)	15,8% (3)	12,8% (5)	12,5% (1)	15,8% (3)	14,8% (4)	17,4% (4)	29,3% (12)	25,0% (16)
<i>Enterococcus faecalis</i>	15,0% (3)	10,5% (2)	12,8% (5)	0% (0)	10,5% (2)	7,4% (2)	8,7% (2)	7,3% (3)	7,8% (5)
<b>Enterococcus spp.</b>	15,0% (3)	10,5% (2)	12,8% (5)	0% (0)	10,5% (2)	7,4% (2)	8,7% (2)	7,3% (3)	7,8% (5)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	10,5% (2)	7,4% (2)	4,3% (1)	2,4% (1)	3,1% (2)

Продолжение Таблицы 12

<i>Streptococcus anginosus</i>	15,0% (3)	10,5% (2)	12,8% (5)	25,0% (2)	15,8% (3)	18,5% (5)	13,0% (3)	7,3% (3)	9,4% (6)
<i>Streptococcus salivarius</i>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)
<i>Streptococcus gallolyticus</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)
<i>Streptococcus mitis</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)
<i>Streptococcus oralis</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,9% (2)	3,1% (2)
<b><i>Streptococcus spp.</i></b>	15,0% (3)	15,8% (3)	15,4% (6)	25,0% (2)	21,0% (4)	22,2% (6)	17,4% (4)	21,95% (9)	20,3%(13)
<i>Neisseria sicca</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,3% (1)	1,6% (1)
<i>Micrococcus luteus</i>	5,0% (1)	5,3% (1)	5,1% (2)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)
<b><i>Haemophilus influenzae</i></b>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	5,3% (1)	3,7% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
<i>Actinomyces radingae</i>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
<i>Actinomyces neuii</i>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,3% (1)	2,4% (1)	3,1% (2)
<b><i>Actinomyces spp.</i></b>	0% (0)	10,6% (2)	5,2% (2)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,3% (1)	2,4% (1)	3,1% (2)
<b><i>Gardnerella vaginalis</i></b>	5,0% (1)	21,0% (4)	12,8% (5)*	12,5% (1)	10,5% (2)	11,1% (3)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)*
<i>Atopobium vaginae</i>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
<i>Veillonella atypica</i>	10,0% (2)	5,3% (1)	7,7% (3)	25,0% (2)	0% (0)	7,4% (2)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
<i>Dialister microaerophilus</i>	10,0% (2)	0% (0)	5,1% (2)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
<i>Propionibacterium avidum</i>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)

Продолжение Таблицы 12

<i>Propionibacterium acnes</i>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	12,5% (1)	0% (0)	3,7% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
<b>Всего облигатно-анаэробных УПМ</b>	10,0% (2)	21,0% (4)	15,4% (6)*	37,5% (3)**	0% (0)**	11,1% (3)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)*
<i>Alloscavdovia omnicozones</i>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	12,5% (1)	0% (0)	3,7% (1)	4,3% (1)	0% (0)	0% (0)	1,6% (1)
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)
<i>Bifidobacterium dentium</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,3% (1)	0% (0)	2,4% (1)	3,1% (2)
<i>Bifidobacterium longum</i>	5,0% (1)	0% (0)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,9% (2)	3,1% (2)
<b><i>Bifidobacterium</i> spp.</b>	5,0% (1)	10,65% (2)	7,7% (3)	12,5% (1)	0% (0)	3,7% (1)	8,6% (2)	0% (0)	9,7% (4)	9,4% (6)
<i>Lactobacillus fermentum</i>	0% (0)	5,3% (1)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)
<i>Lactobacillus crispatus</i>	45,0% (9)	26,3% (5)	35,9% (14)	12,5% (1)	31,6% (6)	25,9% (7)	21,7% (5)	36,6% (15)	31,3% (20)	6,3% (4)
<i>Lactobacillus gasseri</i>	10,0% (2)	0% (0)	5,1% (2)	12,5% (1)	5,3% (1)	7,4% (2)	8,7% (2)	4,9% (2)	4,9% (2)	3,1% (2)
<i>Lactobacillus iners</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	41,5% (17)	40,6% (26)
<i>Lactobacillus jensenii</i>	45,0% (9)	52,6% (10)	48,7% (19)	50,0% (4)	52,6% (10)	51,9% (14)	39,1% (9)	41,5% (17)	9,8% (4)	9,4% (6)
<i>Lactobacillus vaginalis</i>	5,0% (1)	0% (0)	2,6% (1)	25,0% (2)	5,3% (1)	11,1% (3)	8,7% (2)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	0% (0)	5,0% (1)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)

Продолжение Таблицы 12

<i>Lactobacillus paracasei</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	0% (0)	5,0% (1)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,3% (1)	0% (0)	1,6% (1)
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	12,5% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
<i>Lactobacillus reuteri</i>	0% (0)	5,0% (1)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	4,3% (1)	2,4% (1)	3,1% (2)
<i>Lactobacillus oris</i>	0% (0)	5,0% (1)	2,6% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
<i>Lactobacillus saerimneri</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)
<b><i>Lactobacillus spp.</i></b>	80,0% (16)	73,7% (14)	76,9% (30)	90,2% (7)	79,0% (15)	81,5% (22)	60,9% (14)	75,6% (31)	70,3% (45)			
<i>Candida tropicalis</i>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)
<b><i>Candida spp.</i></b>	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	2,4% (1)	1,6% (1)
Всего УПМ	45,0% (9)	47,4 % (9)	46,2% (18)	50,0% (4)	42,1% (8)	44,4% (12)	56,5% (13)	46,3% (19)	50,0%(32)			

**Примечание:** \* значения представлены как статистически значимые в группах сравнения: I-III *G.vaginalis* (p=0,05);

I-III облигатно-анаэробные УПМ (p=0,02)

\*\* значения представлены как статистически значимые в подгруппах сравнения внутри одной группы: IIa-IIb облигатно-анаэробные УМП (p=0,03)

Б «+» беременные; Б «-» небеременные