

МОЖНО ЛИ ОБНАРУЖИТЬ АУТОХТОННУЮ МИКРОБИОТУ ЭНДОМЕТРИИ ПРИ ТРАНСЦЕРВИКАЛЬНОМ ВЗЯТИИ ПРОБ?

Д. Л. Зорников¹✉, В. М. Симарзина¹, Д. К. Исламиди^{1,2}, Н. С. Бельх¹, Д. О. Корнилов¹, Е. И. Абакумова², Л. В. Хаяутин², Е. Э. Плотко², Е. С. Ворошилина^{1,2}

¹ Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия

² Медицинский центр «Гармония», Екатеринбург, Россия

Трансцервикальный сбор образцов эндометрия традиционно используют для изучения микробиоты полости матки, однако неизбежный риск контаминации цервикальной микробиотой ставит под сомнение происхождение обнаруживаемых микроорганизмов. Цель исследования — определить, можно ли обнаружить аутохтонную микробиоту эндометрия в трансцервикально собранных образцах методом количественной ПЦР с учетом цервикальной контаминации. В одномоментное методологическое исследование включены 185 женщин репродуктивного возраста, у которых проводили забор парных цервикальных и эндометриальных образцов (для эндометриальных образцов использовали зонд Endobrush, Пайпель С2). Микробиоту оценивали методом ПЦР в реальном времени на 27 групп микроорганизмов. Сигнал в эндометрии считали истинным, если его количество превышало таковое в цервикальном образце с учетом порогов переноса 30% (ожидаемый) и 100% (консервативный). Микробные сигналы в эндометрии до поправки обнаружены у 144 (77,8%) пациенток; после поправки положительные сигналы сохранялись у 44,3% (порог 30%) и 37,3% (порог 100%) женщин. Большинство положительных проб на *Lactobacillus* spp. попадали в неинтерпретируемую «серую зону» (47,6 и 55,1% от всех пациенток при порогах 30 и 100% соответственно). Напротив, условно-патогенные микроорганизмы в большинстве случаев оставались истинно положительными после поправок. Аутохтонная микробиота эндометрия обнаруживалась у 37,3% женщин и была представлена 1–3 таксонами, преимущественно не лактобациллами. Таким образом, обнаружение условно-патогенных микроорганизмов в эндометрии можно интерпретировать как маркер их реального присутствия, тогда как лактобациллы в большинстве случаев неотличимы от цервикальной контаминации.

Ключевые слова: микробиота эндометрия, аутохтонная микробиота, цервикальная контаминация, трансцервикальный забор, количественная ПЦР

Благодарности: авторы благодарят генерального директора Медицинского центра «Гармония» (г. Екатеринбург) В. Н. Хаяутину за возможность выполнения исследования на базе центра.

Вклад авторов: Д. Л. Зорников — концепция, анализ, интерпретация и визуализация результатов, подготовка рукописи; В. М. Симарзина — проведение лабораторных исследований, интерпретация результатов, редактирование; Д. К. Исламиди — набор участников исследования, формирование клинических групп, сбор биоматериала, анамнестических и клинических данных, анализ и интерпретация данных, редактирование; Н. С. Бельх — набор участников исследования, сбор биоматериала, анамнестических и клинических данных; Д. О. Корнилов — проведение лабораторных исследований, интерпретация результатов, редактирование; Е. И. Абакумова — набор участников исследования, сбор анамнестических и клинических данных; Л. В. Хаяутин — сбор анамнестических и клинических данных, редактирование; Е. Э. Плотко — организация исследования, редактирование; Е. С. Ворошилина — научное руководство, дизайн исследования, анализ и интерпретация данных, редактирование.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России (протокол № 1 от 24 января 2020 г.; протокол № 4 от 26 мая 2023 г.); информированное согласие на участие в исследовании пациенток получено.

✉ **Для корреспонденции:** Данила Леонидович Зорников
ул. Ключевская, д. 17, г. Екатеринбург, 620109, Россия; zornikovdl@yandex.ru

Статья получена: 28.05.2026 **Статья принята к печати:** 14.06.2026 **Опубликована онлайн:** 05.07.2026

DOI: 10.24075/vrgmu.2026.039

Авторские права: © 2026 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

CAN AUTOCHTHONOUS ENDOMETRIAL MICROBIOTA BE DETECTED BY TRANSCERVICAL SAMPLING?

Zornikov DL¹✉, Simarzina VM¹, Islamidi DK^{1,2}, Belykh NS², Kornilov DO¹, Abakumova EI², Khayutin LV², Plotko EE², Voroshilina ES^{1,2}

¹ Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia

² Medical Center "Garmonia", Yekaterinburg, Russia

Transcervical endometrial sampling is widely used to study the uterine microbiota, but the risk of cervical contamination raises doubts about whether detected microorganisms genuinely originate from the endometrium. This study aimed to determine whether autochthonous endometrial microbiota can be detected in transcervically collected samples by quantitative PCR after accounting for cervical contamination. Paired cervical and endometrial samples were collected from 185 reproductive-age women using an Endobrush catheter for endometrial sampling. Microbiota composition was assessed by real-time PCR targeting 27 microbial groups. An endometrial signal was considered true if its quantity exceeded that in the paired cervical sample, adjusted for transfer thresholds of 30% (expected, based on prior *in vitro* data) and 100% (conservative). Before correction, microbial signals were detected in endometrial samples from 144 (77.8%) women. After correction, positive signals remained in 44.3% (30% threshold) and 37.3% (100% threshold) of women. Most *Lactobacillus* spp. positives fell into an uninterpretable gray zone (47.6% and 55.1% at the 30% and 100% thresholds, respectively). In contrast, opportunistic microorganisms largely remained true positives after correction. Autochthonous endometrial microbiota was detected in approximately 37% of women, typically comprising 1–3 predominantly non-lactobacillus taxa. Detection of opportunistic microorganisms in the endometrium therefore likely reflects their genuine presence, whereas *Lactobacillus* detection is, in most cases, indistinguishable from cervical contamination.

Keywords: endometrial microbiota, autochthonous microbiota, cervical contamination, transcervical sampling, quantitative PCR.

Acknowledgments: the authors thank V. N. Khayutin, General Director of the Harmony Medical Center (Yekaterinburg), for the opportunity to conduct the study at the center.

Author contribution: Zornikov DL — conceptualization, visualization, formal analysis, writing — manuscript preparation; Simarzina VM — laboratory investigations, interpretation of laboratory results, writing — review and editing; Islamidi DK — participant enrollment, formation of clinical groups, collection of biomaterial, anamnestic and clinical data, analysis and interpretation of clinical data, writing — review and editing; Belykh NS — participant enrollment, collection of biomaterial, anamnestic and clinical data; Kornilov DO — laboratory investigations, interpretation of laboratory results, writing — review and editing; Abakumova EI — participant enrollment, collection of anamnestic and clinical data; Khayutin LV — collection of anamnestic and clinical data, writing — review and editing; Plotko EE — project administration, writing — review and editing; Voroshilina ES — supervision, study design, data analysis and interpretation, writing — review and editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of Ural State Medical University (Protocol No. 1 dated January 24, 2020; Protocol No. 4 dated May 26, 2023). Informed consent was obtained from all study participants.

✉ **Correspondence should be addressed:** Danila L. Zornikov
Klyuchevskaya, 17, Yekaterinburg, 620109, Russia; zornikovdl@gmail.com

Received: 28.05.2026 **Accepted:** 14.06.2026 **Published online:** 05.07.2026

DOI: 10.24075/brsmu.2026.039

Copyright: © 2026 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

В 2015 г. с помощью культурального метода и количественной ПЦР обнаружили микробиоту в полости матки после гистерэктомии [1]. Использование материала после гистерэктомии позволило исключить риск контаминации образцов из полости матки вагинальной и цервикальной микробиотой. Последующее исследование, также проведенное на гистерэктомическом материале, но со строгими отрицательными контролями, убедительно ответило на фундаментальный вопрос, обладает ли полость матки собственной микробиотой, обнаруживаемой молекулярно-генетическими методами [2]. Результатом стало изменение парадигмы о стерильности полости матки: сегодня считается, что в эндометрии существует собственное низкокопийное микробное сообщество. Это сделало изучение микробиоты эндометрия одним из приоритетных направлений в исследованиях микробиома человека [3, 4].

Однако клинические исследования не могут опираться на гистерэктомический материал. Практически все работы, посвященные микробиоте эндометрия и ее связи с репродуктивными исходами, основаны на трансцервикальном заборе проб — часто с использованием зондов типа Пайпель С1 (Пайпель-биопсия) или Пайпель С2 (Эндобраш) [5–13], которые проходят через колонизированный микроорганизмами цервикальный канал. В исследованиях на трансцервикально собранных образцах сообщалось о связи микробиоты эндометрия с невынашиванием беременности [14], хроническим эндометритом [15], полипами эндометрия [5, 16, 17], гиперплазией эндометрия [12], эндометриозом [18]. Однако вопрос о том, действительно ли эти ассоциации отражают изменения именно эндометриальной, а не цервикальной микробиоты, остается открытым. Данная неопределенность вызвана тем, что любой инструмент, проходящий через цервикальный канал, неизбежно несет риск контаминации эндометриального образца цервикальными микроорганизмами.

Это опасение особенно актуально ввиду того, что бактериальная нагрузка в полости матки может быть существенно ниже, чем в цервикальном канале [19]. В этом случае даже незначительная контаминация может замаскировать любой истинный эндометриальный сигнал или, наоборот, контаминация цервикальными микроорганизмами может быть интерпретирована как наличие данных микроорганизмов в полости матки. В большинстве опубликованных исследований авторы пытаются снизить этот риск с помощью предварительной обработки влагалища и цервикса физиологическим раствором или антисептиками, а также используют сравнение микробиоты эндометрия с микробиотой влагалища или цервикального канала в качестве контроля [5–10, 12, 13, 15–17, 20, 21]. Однако это не позволяет полностью исключить риск контаминации и достоверно оценить ее наличие.

В недавнем исследовании с помощью *in vitro* модели цервикального канала мы провели экспериментальную количественную оценку уровня контаминации образцов цервикальной микробиотой при использовании зондов Пайпель С1 и С2 [22]. Было продемонстрировано, что и зонды Пайпель С1, и зонды Пайпель С2 переносят значительное количество микробиоты из цервикальной слизи в модельные эндометриальные образцы — медианный перенос составил 81,6% для С1 и 29,8% для С2. Эти результаты поставили под сомнение происхождение микробиоты, обнаруживаемой в трансцервикально

собранных образцах эндометрия. Однако *in vitro* модели не могут полностью воспроизвести сложность клинических условий, и истинная степень контаминации в реальных образцах пациенток остается неизвестной.

Это подводит нас к вопросу: можно ли обнаружить аутохтонную микробиоту эндометрия в трансцервикально собранных образцах? Иными словами, сохраняется ли истинный эндометриальный микробный сигнал — продемонстрированный на гистерэктомическом материале [1, 2] — при прохождении через неизбежную «контаминационную завесу» цервикальной микробиоты во время реального клинического забора? В настоящем исследовании мы определяем эндометриальный сигнал как «аутохтонный» (истинный) только в том случае, если концентрация бактериальной ДНК в эндометриальном образце превышает уровень, который может быть объяснен цервикальным переносом.

Цель исследования — определить, можно ли обнаружить аутохтонную микробиоту эндометрия в трансцервикально собранных образцах методом количественной ПЦР с учетом цервикальной контаминации.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Пациенты

В исследовании приняли участие 185 женщин репродуктивного возраста (медиана — 32,9, Q_1 – Q_3 [29,9–37] лет). Все пациентки проходили обследование в связи с нарушением репродуктивной функции в анамнезе либо с подозрением на патологию эндометрия в медицинском центре «Гармония» (г. Екатеринбург) в период с января 2020 по август 2023 г.

Критерии включения в исследование: репродуктивный возраст (18–45 лет); интервальный период (вне беременности); сохраненный менструальный цикл; наличие клинических или ультразвуковых признаков патологии эндометрия либо бесплодие; возможность одномоментного получения парных клинических образцов (цервикального содержимого и образца эндометрия); согласие пациенток на участие в исследовании.

Критерии невключения: гормональная и внутриматочная контрацепция на момент обследования и в течение предшествующих 6 месяцев; онкологические заболевания любой локализации; острые воспалительные заболевания нижних отделов репродуктивного тракта и органов малого таза на момент обследования; антибактериальная терапия в течение четырех недель до обследования; отказ от участия в исследовании.

Критерии исключения: наличие инфекций, передаваемых половым путем, вызванных облигатными патогенами — *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium* (ранее *Mycoplasma genitalium*), *Trichomonas vaginalis* — по результатам теста Андроплор («ДНК-технология», Россия).

Для оценки микробиоты в цервикальном и эндометриальном образцах проводили ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) на 27 групп микроорганизмов.

Сбор образцов

Исследование проводили на 8–12-й день менструального цикла. Для минимизации риска контаминации образцы брали в восходящем порядке (влагалище → цервикальный канал → полость матки).

Вагинальный образец

Вагинальный образец брали из задне-бокового свода влагалища до обработки антисептиком с помощью стерильного одноразового урогенитального зонда типа А-2. Биоматериал переносили в пробирку типа Эппендорф, содержащую стерильный физиологический раствор (0,9% NaCl). В настоящем исследовании вагинальные образцы не анализировали.

Обработка влагалища

После взятия вагинального образца проводили обработку влагалища кавитированным низкочастотным ультразвуком 0,05%-м раствором хлоргексидина биглюконата с помощью аппарата АУЗХ-100 («Фотек», Россия) в соответствии с руководством [23]: время воздействия — 1–2 мин, мощность — 6–8 единиц, объем используемого раствора — 150–200 мл. Данная процедура служила мерой профилактики инфекционно-воспалительных осложнений перед последующим взятием материала из полости матки [24].

Цервикальный образец

После обработки влагалища брали образец цервикальной слизи новым стерильным зондом типа А-2, вводя его в цервикальный канал на глубину 1–1,5 см. Биоматериал переносили в пробирку типа Эппендорф, содержащую стерильный физиологический раствор.

Эндометриальный образец

Для взятия образца из полости матки использовали устройство Endobrush Standard for Endometrial Cytology (Laboratoire C.C.D., Франция) — зонд типа С «Пайпель», модель 2 (Пайпель С2). Устройство снабжено защитным проводником, который предохраняет расположенную внутри щетку от контакта со слизистой цервикального канала: щетка раскрывается только после введения в полость матки, а перед извлечением задвигается внутрь проводника. Предварительно шейку матки выводили в зеркалах, повторно очищали тампоном, смоченным 0,05%-м раствором хлоргексидина, затем вводили устройство в полость матки трансцервикально, не касаясь стенок влагалища. После достижения полости матки защитный проводник отодвигали, обнажая щетку, и выполняли 3–5 вращательных движений для сбора биоматериала. Затем щетку втягивали обратно в защитный проводник и извлекали устройство. Наружную поверхность проводника тщательно протирали стерильным тампоном, смоченным 96%-м этиловым спиртом, для удаления остатков цервикальной слизи и предотвращения контаминации пробы. После этого щетку выдвигали и переносили биоматериал в пробирку, содержащую стерильный физиологический раствор.

Выделение ДНК

Для выделения ДНК использовали набор «Проба-НК-ПЛЮС» («ДНК-технология», Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Образцы эндометрия подвергали предварительной депротеинизации: пробирки с образцом эндометрия центрифугировали 10 мин при 13 000 об./мин на центрифуге MiniSpin (Eppendorf,

Германия), удаляли надосадочную жидкость, осадок ресуспендировали в 100 мкл лизирующего раствора из набора «Проба-НК-ПЛЮС» и тщательно перемешивали на вортексе до гомогенного состояния. Затем 50 мкл полученного гомогенизата переносили в чистую пробирку, содержащую смесь из 25 мкл лизирующего раствора, 5 мкл протеиназы К (20 мг/мл; WVR Life Science, США) и 120 мкл стерильного физиологического раствора. После перемешивания образцы инкубировали при 60 °C в течение 30 мин, затем при 95 °C в течение 10 мин. По окончании инкубации пробирки центрифугировали 60 с при 13 000 об./мин. Надосадочную жидкость в объеме 100 мкл использовали для выделения ДНК согласно инструкции набора «Проба-НК-ПЛЮС». Необходимость предварительной депротеинизации эндометриальных образцов была обусловлена их высокой вязкостью, связанной с присутствием большого количества белка и слизи, что могло снижать эффективность экстракции ДНК. Цервикальные образцы не требовали данной стадии ввиду иной консистенции материала. Отрицательные контроли (стерильный физиологический раствор) включали в каждую постановку выделения ДНК и ПЦР для исключения реагентной контаминации.

Исследование микрофлоры

В каждом образце методом ПЦР-РВ оценивали количества 27 групп микроорганизмов: *Lactobacillus* spp., *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus vaginalis*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Gardnerella vaginalis*, *Megasphaera* spp. / *Veillonella* spp. / *Dialister* spp. (группа MVD), *Sneathia* spp. / *Leptotrichia* spp. / *Fusobacterium* spp. (группа SLF), *Atopobium* cluster, *Bacteroides* spp. / *Porphyromonas* spp. / *Prevotella* spp. (группа BPP), *Anaerococcus* spp., *Peptostreptococcus* spp. / *Parvimonas* spp. (группа PP), *Eubacterium* spp., *Haemophilus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* / *Ralstonia* spp. / *Burkholderia* spp. (группа PRB), *Enterobacteriaceae* / *Enterococcus* spp., *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Metamycoplasma hominis*, *Candida* spp.

ПЦР-РВ проводили с помощью набора «Андрофлор» и набора для видовой оценки вагинальных лактобацилл (оба производства «ДНК-технология», Россия) на амплификаторах «ДТ-Прайм» и «ДТ-96» с использованием штатного программного обеспечения и программ амплификации к наборам («ДНК-технология», Россия). В соответствии с инструкциями к используемым наборам, пробы по группам *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Metamycoplasma hominis* считали положительными при любом отличном от нуля количестве, для остальных групп микроорганизмов минимальным порогом обнаружения было количество в 10^3 геном-эквивалентов на образец (ГЭ/образец).

Статистический анализ

Статистическую обработку и визуализацию данных проводили в среде R версия 4.6.0 (R Foundation for Statistical Computing; Вена, Австрия). В качестве меры центральной тенденции при описании переменных указывали медиану со значениями 1-го и 3-го квартилей (Q_1 и Q_3). Статистическую значимость различий между частотными показателями оценивали двусторонним точным тестом

Таблица 1. Клиническая характеристика пациенток

Параметр	Значение
Возраст, лет	32,9 (29,9–37)
Индекс массы тела, кг/м ²	22,1 (20,2–24,4)
Акушерско-гинекологический анамнез	
Возраст менархе, лет	13 (12–14)
Длительность менструального цикла, дни	29 (28–30)
Продолжительность менструаций, дни	5 (5–7)
Всего беременностей	1 (0–2)
Паритет (роды)	78 (42,4%)
Аборты в анамнезе	44 (23,8%)
Потери беременности в анамнезе	40 (21,6%)
Акушерско-гинекологическая патология*	
Бесплодие	77 (41,6%)
Эндометриоз	32 (17,3%)
Миома матки	17 (9,2%)
Гиперплазия эндометрия	13 (7%)
Воспалительные заболевания органов малого таза	10 (5,4%)
ВПЧ-носительство	7 (3,8%)
Гиперпролактинемия	7 (3,8%)
Невынашивание беременности	6 (3,2%)
Обильные маточные кровотечения	6 (3,2%)
Хронический цервицит	6 (3,2%)
Дисплазия шейки матки	4 (2,2%)
Полип эндометрия	4 (2,2%)
Синдром поликистозных яичников	2 (1,1%)
Тератома	1 (0,5%)
Хронический эндометрит	1 (0,5%)
Нет патологии в анамнезе	17 (9,2%)

Примечание: * — сумма по акушерско-гинекологической патологии превышает 100%, так как у ряда пациенток имелось более одного диагноза.

Фишера, между количественными показателями — тестом Манна-Уитни. Все различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиническая характеристика пациенток

На момент исследования пациентки предъявляли жалобы на изменение характера менструаций, имели ультразвуковые признаки патологии эндометрия либо проходили обследование по поводу бесплодия. Данные состояния служили показанием для обследования, в том числе взятия материала из полости матки для исследования микробиоты. Большинство пациенток в анамнезе имели акушерско-гинекологическую патологию; у 17 (9,2%) женщин анамнез был неотягощен (табл. 1).

Сравнение микробиоты в цервикальных и эндометриальных образцах

Микробные сигналы из образцов эндометрия обнаруживали у 144 (77,8%) пациенток. Для большинства групп микроорганизмов частота обнаружения в цервикальных образцах в 1,3–3 раза превышала таковую для образцов эндометрия (рис. 1). В том числе статистически значимо чаще в цервикальных образцах выявляли группы: *Lactobacillus* spp. (88,6 против 68,1%),

L. crispatus (39,5 против 15,7%), *L. iners* (41,6 против 28,1%), *L. jensenii* (31,9 против 10,8%), *L. gasseri* (16,8 против 8,1%), *L. johnsonii* (3,2 против 0%), *L. vaginalis* (23,8 против 2,7%), *Anaerococcus* spp. (10,8 против 2,2%), *Eubacterium* spp. (31,9 против 20%), *Enterobacteriaceae/Enterococcus* spp. (13 против 5,9%), *U. parvum* (6,5 против 0%).

Статистически значимые различия в количествах микроорганизмов между цервикальными и эндометриальными образцами обнаружили для 13 групп микроорганизмов: *Lactobacillus* spp., *L. crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. vaginalis*, *G. vaginalis*, *Anaerococcus* spp., группа PP, *Eubacterium* spp., *Enterobacteriaceae/Enterococcus* spp., *U. parvum* (рис. 1). Наибольшие количества в обоих биотопах были характерны для *Lactobacillus* spp.: $10^{4,9}$ ($10^{3,8}$ – $10^{6,1}$) ГЭ/образец в цервикальных пробах против $10^{3,5}$ (0 – $10^{4,2}$) ГЭ/образец в пробах эндометрия ($p < 0,001$). Медианные количества остальных групп микроорганизмов в обоих биотопах равнялись нулю; статистически значимые различия при этом были обусловлены более высокими концентрациями в верхних квартилях распределения цервикальных образцов.

Эндометриальные сигналы после поправки на возможную контаминацию

Для каждого положительного сигнала в образце эндометрия рассчитывали отношение количества микроорганизма в эндометрии к его количеству в цервикальном образце той

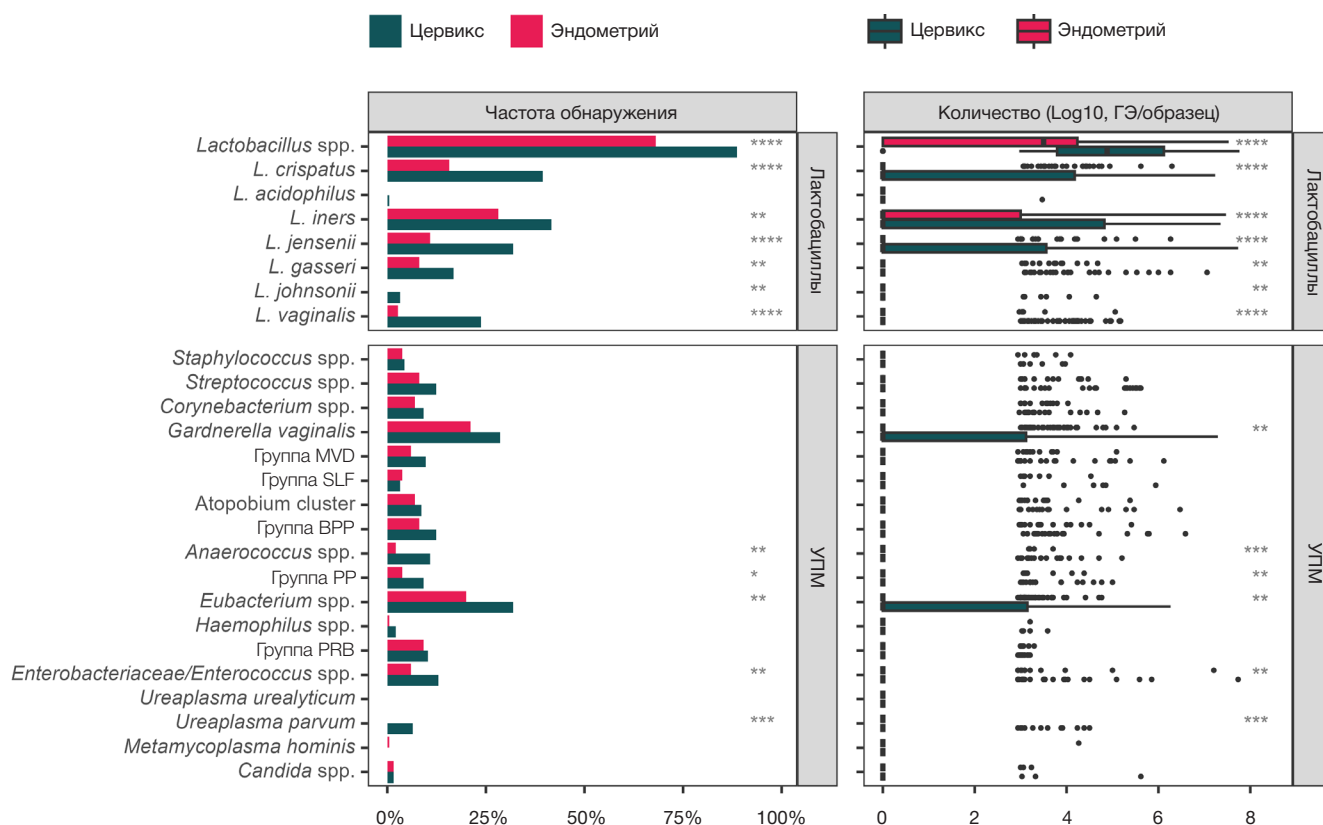


Рис. 1. Микробиота цервикальных и эндометриальных образцов. Частота обнаружения (левая панель) и количества (правая панель) целевых групп микроорганизмов. УПМ — условно-патогенные микроорганизмы; MVD — *Megasphaera* spp. / *Veillonella* spp. / *Dialister* spp.; SLF — *Sneathia* spp. / *Leptotrichia* spp. / *Fusobacterium* spp.; BPP — *Bacteroides* spp. / *Porphyromonas* spp. / *Prevotella* spp.; PP — *Peptostreptococcus* spp. / *Parvimonas* spp.; PRB — *Pseudomonas aeruginosa* / *Ralstonia* spp. / *Burkholderia* spp. Уровни статистической значимости: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$, **** — $p < 0,0001$

же пациентки. Сигнал считали истинно эндометриальным, если это отношение превышало допущенный уровень цервикального переноса. В качестве допустимого цервикального переноса принимали 30% (ожидаемый порог — по результатам предыдущего *in vitro* эксперимента [22]) и 100% (консервативный порог — количество микроорганизма в эндометрии превышает таковое в цервиксе). При отсутствии целевого микроорганизма в

цервикальном образце любой положительный сигнал в эндометрии считали превышающим порог переноса, поскольку он не может быть объяснен цервикальной контаминацией.

После применения указанных порогов микроорганизмы обнаруживали в 82 (44,3%) пробах (порог — 30%) и в 69 (37,3%) пробах (порог — 100%) (рис. 2). В большинстве положительных проб обнаруживали не более трех групп



Рис. 2. Образцы с микробиотой эндометриального происхождения при допущении 30% (левая панель) и 100% (правая панель) переноса цервикальной микробной ДНК. О наличии микробиоты в образце эндометрия судили при наличии хотя бы одной целевой группы микроорганизмов в количестве выше допущенного уровня переноса

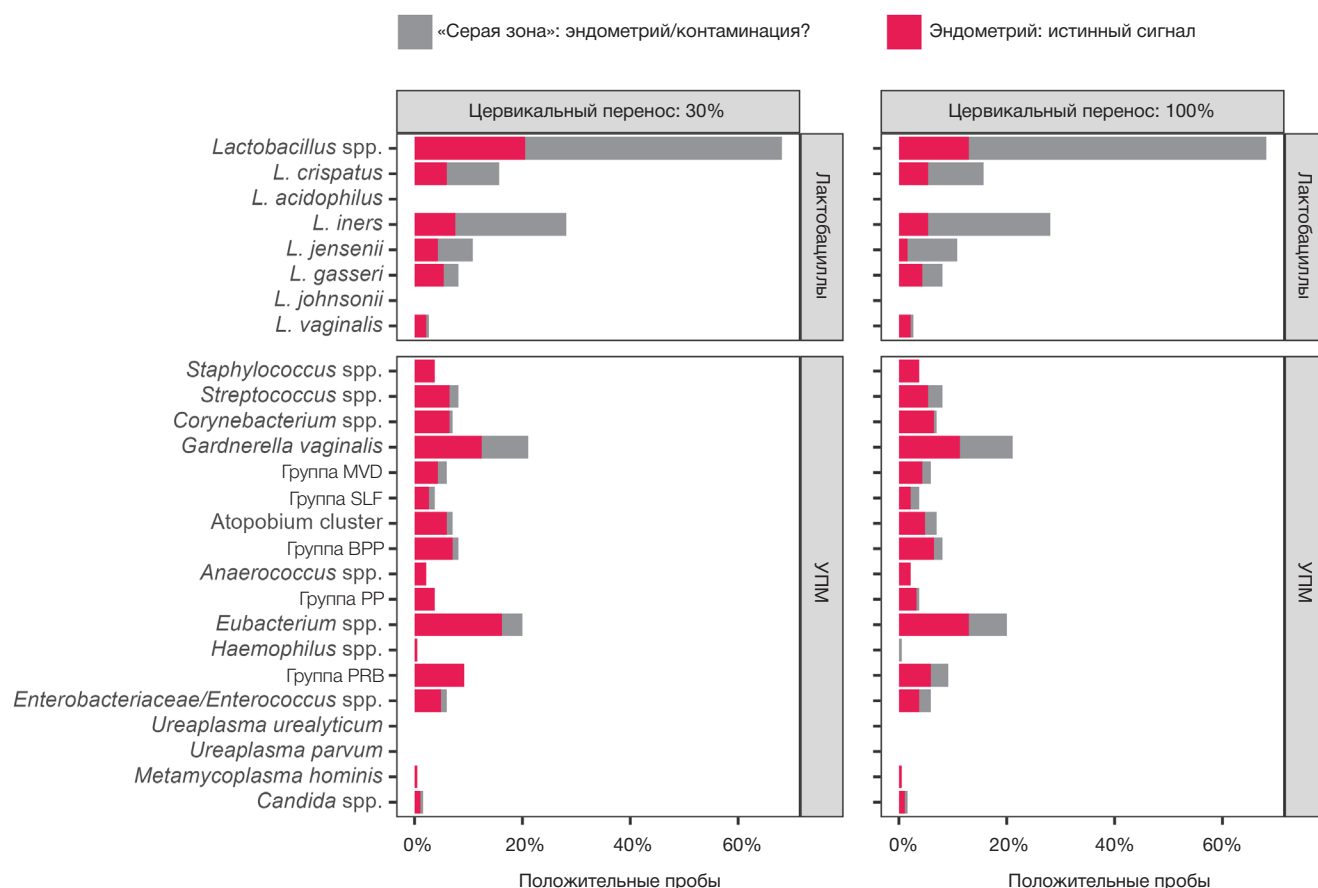


Рис. 3. Частота обнаружения целевых групп микроорганизмов в пробах эндометрия после поправок на возможный перенос 30% (левая панель) и 100% (правая панель) цервикальной ДНК матрицы. УПМ — условно-патогенные микроорганизмы; MVD — *Megasphaera* spp. / *Veillonella* spp. / *Dialister* spp.; SLF — *Sneathia* spp. / *Leptotrichia* spp. / *Fusobacterium* spp.; BPP — *Bacteroides* spp. / *Porphyromonas* spp. / *Prevotella* spp.; PP — *Peptostreptococcus* spp. / *Parvimonas* spp.; PRB — *Pseudomonas aeruginosa* / *Ralstonia* spp. / *Burkholderia* spp.

микроорганизмов. При пороге в 30% выявляли одну группу — в 31 (16,8%), две группы — в 13 (7%), три группы — в 15 (8,1%) случаях; при пороге в 100% выявляли одну группу — в 28 (15,1%), две группы — в 12 (6,5%), три группы — в 12 (6,5%) случаях. В единичных образцах присутствовали до 11 групп микроорганизмов при пороге 30% и до 10 групп при пороге 100%.

Далее оценивали частоту обнаружения каждой группы микроорганизмов в образцах эндометрия после применения поправки на возможную контаминацию цервикальной микрофлорой. В зависимости от результата каждую пробу относили к одной из трех категорий: отрицательный результат (сигнал отсутствует), «серая зона» (сигнал обнаружен, но не превышает установленного порога переноса), истинный эндометриальный сигнал (превышает порог и не может быть объяснен только контаминацией) (рис. 3):

$$x = \frac{\text{Количество целевого МО}_{(\text{полость матки})}}{\text{Количество целевого МО}_{(\text{цервикальный канал})} \times \text{Порог переноса}}$$

где $x > 1$ — истинный сигнал, $x \leq 1$ — «серая зона». В качестве порога переноса принимали 0,3 (30% переноса) и 1 (100% переноса).

При пороге переноса 30% в «серую зону» попадали 88 (47,6% от всех анализируемых пациенток) проб на *Lactobacillus* spp., 18 (9,7%) — на *L. crispatus*, 38 (20,5%) — на *L. iners*, 12 (6,5%) — на *L. jensenii* и 1 (0,5%) — на *L. vaginalis*. Для условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) наибольшее количество проб в «серой зоне» отмечали

для *G. vaginalis* и *Eubacterium* spp. — 16 (8,6%) и 7 (3,8%) соответственно. Для остальных УПМ в «серую зону» попадали 0–1,6% проб.

При пороге переноса 100% в «серую зону» попадали 102 (55,1% от всех анализируемых пациенток) проб на *Lactobacillus* spp., 19 (10,3%) — на *L. crispatus*, 42 (22,7%) — на *L. iners*, 17 (9,2%) — на *L. jensenii* и 1 (0,5%) — на *L. vaginalis*. Для УПМ наибольшее количество проб в «серой зоне» отмечали для *G. vaginalis* и *Eubacterium* spp. — 18 (9,7%) и 13 (7%) соответственно. Для остальных УПМ в «серую зону» попадали 0–3,2% проб.

После применения поправки частота наиболее представленной группы *Lactobacillus* spp. снизилась с 126 (68,1%, до поправки) до 38 (20,5%, 30% порог) и 24 (13%, 100% порог). Отдельные виды лактобацилл и группы УПМ после применения поправок обнаруживали в 0,5–16,2% случаев при 30% пороге и в 0,5–13% при 100% пороге; сигналы по *L. acidophilus*, *L. johnsonii*, *U. urealyticum*, *U. parvum* отсутствовали в образцах эндометрия после коррекции вне зависимости от использованного порога (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В образцах эндометрия исследованных пациенток выявили 22 из 27 целевых групп микроорганизмов (рис. 1). *Lactobacillus* spp. обнаружили в 68,1% проб с медианным количеством $10^{3.5}$ ГЭ/образец, тогда как остальные группы идентифицировали менее чем у трети пациенток, что согласуется с известными данными о

Таблица 2. Частота обнаружения микроорганизмов в образцах эндометрия после применения поправок на возможную контаминацию. Микроорганизмы ранжированы по частоте обнаружения при пороге в 30%

Группа микроорганизмов	Частота при пороге 30%	Частота при пороге 100%
<i>Lactobacillus</i> spp.	38 (20,5%)	24 (13%)
<i>Eubacterium</i> spp.	30 (16,2%)	24 (13%)
<i>Gardnerella vaginalis</i>	23 (12,4%)	21 (11,4%)
Группа PRB	17 (9,2%)	11 (5,9%)
<i>L. iners</i>	14 (7,6%)	10 (5,4%)
Группа BPP	13 (7%)	12 (6,5%)
<i>Streptococcus</i> spp.	12 (6,5%)	12 (6,5%)
<i>Corynebacterium</i> spp.	12 (6,5%)	10 (5,4%)
<i>L. crispatus</i>	11 (5,9%)	10 (5,4%)
<i>L. gasseri</i>	11 (5,9%)	9 (4,9%)
<i>Atopobium cluster</i>	10 (5,4%)	8 (4,3%)
<i>Enterobacteriaceae/Enterococcus</i> spp.	9 (4,9%)	7 (3,8%)
<i>L. jensenii</i>	8 (4,3%)	3 (1,6%)
Группа MVD	8 (4,3%)	8 (4,3%)
Группа PP	7 (3,8%)	6 (3,2%)
<i>Staphylococcus</i> spp.	7 (3,8%)	7 (3,8%)
Группа SLF	5 (2,7%)	4 (2,2%)
<i>L. vaginalis</i>	4 (2,2%)	4 (2,2%)
<i>Anaerococcus</i> spp.	4 (2,2%)	4 (2,2%)
<i>Candida</i> spp.	2 (1,1%)	2 (1,1%)
<i>Haemophilus</i> spp.	1 (0,5%)	0 (0%)
<i>Metamycoplasma hominis</i>	1 (0,5%)	1 (0,5%)
<i>L. acidophilus</i>	0 (0%)	0 (0%)
<i>L. johnsonii</i>	0 (0%)	0 (0%)
<i>Ureaplasma parvum</i>	0 (0%)	0 (0%)
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	0 (0%)	0 (0%)

Примечание: PRB — *Pseudomonas aeruginosa* / *Ralstonia* spp./ *Burkholderia* spp. BPP — *Bacteroides* spp. / *Porphyromonas* spp. / *Prevotella* spp.; MVD — *Megasphaera* spp. / *Veillonella* spp. / *Dialister* spp.; PP — *Peptostreptococcus* spp. / *Parvimonas* spp.; SLF — *Sneathia* spp. / *Leptotrichia* spp. / *Fusobacterium* spp.

низком альфа-разнообразии и копийности микробиоты эндометрия [1, 2, 21]. Значения частоты обнаружения всех 22 групп были выше в цервикальных образцах, чем в образцах эндометрия. Так, *Lactobacillus* spp. выявляли в 88,6% цервикальных образцов с медианным количеством $10^{4,9}$ ГЭ/образец ($p < 0,0001$ как для частоты, так и для количества). Данное наблюдение в сочетании с ранее полученным *in vitro* результатом о 30%-м переносе бактериальной ДНК из цервикальной слизи в пробу эндометрия при использовании зонда Пайпель C2 [22] указывает на то, что часть положительных сигналов в образцах эндометрия может быть обусловлена цервикальной контаминацией.

Для дифференцирования истинно эндометриальных сигналов от цервикальной контаминации мы сравнили количество ДНК каждого микроорганизма в эндометриальном образце с его количеством в цервикальном образце той же пациентки. Использовали два порога допустимого переноса: 30% (ожидаемый, основанный на *in vitro* эксперименте [22]) и 100% (консервативный, при котором количество микроорганизма в эндометрии превышает его количество в цервиксе и не может быть объяснено контаминацией). При обоих порогах более половины образцов эндометрия не содержали положительных сигналов в надпороговых значениях (рис. 2), что не позволяет рассматривать эти пробы как истинно положительные — присутствие микроорганизмов

в них могло быть полностью объяснено цервикальным переносом. Среди положительных проб (44,3% при пороге 30%, 37,3% при пороге 100%) большинство содержали не более 3 групп микроорганизмов. Таким образом, после применения поправки на контаминацию из 144 (77,8%) изначально положительных проб эндометрия почти половина были переклассифицированы как неинтерпретируемые, а в сохранившихся положительных пробах присутствовали единичные таксоны.

Следующим шагом мы оценили результаты по каждой целевой группе микроорганизмов с учетом введенных поправок на возможную контаминацию. В зависимости от результата каждую пробу относили к одной из трех категорий: отрицательный результат (сигнал отсутствует), «серая зона» (сигнал обнаружен, но не превышает установленного порога переноса), истинный эндометриальный сигнал (превышает порог и не может быть объяснен только контаминацией). Для *Lactobacillus* spp. и отдельных видов лактобацилл большинство проб — от 2/3 до 3/4 изначально положительных — попадали в «серую зону» (рис. 3). Так, до поправки *Lactobacillus* spp. выявили у 126 (68,1%) пациенток; после применения порога 30% — у 38 (20,5%), порога 100% — у 24 (13%). Аналогичные паттерны наблюдали для трех основных видов лактобацилл — *L. crispatus*, *L. iners* и *L. jensenii*. Для УПМ доля проб, попадавших в «серую зону», была ниже, чем для лактобацилл: 8,6 и 9,7% для *G. vaginalis*,

3,8 и 7% для *Eubacterium* spp. при порогах 30 и 100% соответственно; для остальных УПМ — 0–1,6% и 0–3,2%. Таким образом, среди положительных проб на УПМ большинство оставались истинно положительными и после применения поправок, хотя частота их обнаружения не превышала 16,2% при пороге 30% и 13% при пороге 100%.

Полученные результаты согласуются с осторожной позицией авторов исследования [2], предположивших, что преобладание лактобацилл в микробиоте трансцервикально собранных проб эндометрия [5, 18, 25–27] может быть обусловлено цервикальной или вагинальной контаминацией. В пользу этого предположения свидетельствуют и более ранние культуральные исследования, продемонстрировавшие более высокую частоту выделения бактерий из образцов эндометрия, полученных трансцервикально, по сравнению с трансабдоминальным доступом [28]. В нашем исследовании мы напрямую оценили вклад цервикальной контаминации при трансцервикальном заборе: использование парных цервикальных образцов и пороговой модели переноса ДНК продемонстрировало, что цервикальная контаминация способна объяснить большинство положительных сигналов в эндометрии. Тот факт, что *Lactobacillus* spp. в данной работе демонстрировал наибольшую долю проб в «серой зоне», подтверждает высказанное Winters и соавторами предположение о том, что *Lactobacillus*-доминирование эндометрия может быть артефактом забора материала [2]. Более того, после введенных поправок на возможную контаминацию *G. vaginalis* и *Eubacterium* spp. оказались самыми часто встречающимися микроорганизмами в образцах эндометрия наряду с *Lactobacillus* spp. и опережали все отдельные виды лактобацилл (табл. 2).

Обнаружение целевого микроорганизма в эндометрии в количествах выше установленного порога цервикального переноса не является абсолютным доказательством его эндометриального происхождения, однако с высокой вероятностью отражает истинное присутствие микроорганизма в полости матки, поскольку такой сигнал не может быть объяснен цервикальной контаминацией в рамках использованной модели. В настоящем исследовании у 37,3% пациенток микробные сигналы в образцах эндометрия сохранялись даже при консервативном пороге 100%, что не может быть полностью объяснено цервикальной контаминацией и указывает на присутствие аутохтонной микробиоты эндометрия. Однако в большинстве случаев она была представлена 1–3 группами нелактобациллярных микроорганизмов, а частота обнаружения самой распространенной группы не превышала 13%.

Преимущественное попадание лактобацилл в «серую зону» не обязательно означает их отсутствие в эндометрии. Не исключено, что в части проб лактобациллы присутствовали, но в количествах, недостаточных для уверенного отличия от цервикального переноса. Анатомическая близость шейки и полости матки может обуславливать объективное сходство микробных сообществ этих биотопов. Показательно, что при использовании материала после гистерэктомии и секвенирования гена 16S рПНК не было выявлено значимых различий между микробиотой цервикса и эндометрия [2].

Примечательно, что большинство УПМ, обнаруженных в эндометрии, сохранялись в качестве истинно положительных сигналов даже после применения консервативного порога контаминации 100% (рис. 3). Причины данного явления остаются неясными, однако этот факт имеет практическое значение. В отличие от

лактобацилл, которые в большинстве случаев попадали в «серую зону», детекция УПМ в образце эндометрия с высокой вероятностью отражает их действительное присутствие в полости матки, а не артефакт забора материала. Это особенно важно в клиническом контексте, поскольку именно УПМ традиционно ассоциируются с патологией эндометрия и являются основной целью микробиологического исследования образцов из полости матки.

Сильной стороной настоящего исследования является дизайн с парными образцами (цервикс–эндометрий), полученными от одной пациентки в ходе одной процедуры. Такой подход позволил использовать индивидуальный уровень цервикальной микробной нагрузки в качестве референсного для оценки контаминации, а не полагаться на усредненные групповые значения, что полностью исключает влияние клинической разнородности пациенток на оценку контаминации. Использование двух порогов переноса — 30% (ожидаемый, основанный на *in vitro* модели [22]) и 100% (консервативный, полностью исключающий возможность контаминации) — позволило оценить устойчивость полученных результатов к выбору порога. Применение количественной ПЦР с детекцией 27 групп микроорганизмов обеспечило высокую аналитическую чувствительность и позволило оценить как частоту, так и абсолютное количество каждой целевой группы микроорганизмов, что выгодно отличает данную работу от исследований, основанных исключительно на секвенировании гена 16S рПНК.

Практическим следствием полученных результатов является необходимость пересмотра подходов к исследованию микробиоты эндометрия. Использование зондов с защитным проводником (Пайпель С2), даже в сочетании с антисептической обработкой, не позволяет надежно дифференцировать эндометриальные и цервикальные микроорганизмы. В краткосрочной перспективе целесообразным представляется изучение совокупной цервикс-эндометриальной микробиоты в общем образце, полученном при трансцервикальном заборе, — такой подход, по крайней мере, не создает иллюзии селективного исследования эндометрия. В долгосрочной перспективе необходима разработка методов, позволяющих минимизировать цервикальную контаминацию.

Ограничения исследования

Настоящее исследование имеет ряд ограничений. Во-первых, модель контаминации предполагала, что единственный цервикальный образец адекватно отражает микробную нагрузку по всей длине цервикального канала; однако возможна региональная вариабельность концентрации микроорганизмов, что могло приводить к недооценке или переоценке уровня переноса. Во-вторых, протокол выделения ДНК различался для цервикальных и эндометриальных образцов: эндометриальные пробы подвергались предварительной депротеинизации, что могло повлиять на эффективность экстракции ДНК и соотношение количеств микроорганизмов между биотопами. В-третьих, использованные ПЦР-панели были ограничены 27 целевыми группами микроорганизмов; в отличие от секвенирования гена 16S рПНК, такой подход не позволяет оценить полный таксономический состав микробиоты и выявить микроорганизмы, не включенные в панели. В-четвертых, количественная ПЦР не позволяет отличить живые микроорганизмы от внеклеточной

ДНК, поэтому часть детектируемых сигналов могла быть обусловлена нежизнеспособными бактериями или свободной ДНК, попавшей в полость матки из нижних отделов репродуктивного тракта, что должно учитываться при клинической интерпретации результатов. В-пятых, вагинальные образцы были собраны, но не проанализированы в рамках настоящей работы. Хотя риск контаминации эндометрия влагалищной микробиотой считается низким при визуальном контроле введения зонда, отсутствие этих данных ограничивает возможность оценки полного континуума микробных сообществ нижних отделов репродуктивного тракта. Наконец, исследование выполнено в одном центре, и его результаты требуют независимого воспроизведения.

ВЫВОДЫ

Проведенное исследование демонстрирует, что трансцервикальное взятие эндометрия с помощью зондов Пайпель C2 (Эндобраш) не позволяет надежно

отличить эндометриальную микробиоту от цервикальной у большинства пациенток. Истинные эндометриальные сигналы методом количественной ПЦР обнаруживали примерно у 40% женщин и, как правило, всего по 1–3 таксонам. Большая часть положительных эндометриальных проб на лактобациллы (например, около 2/3 от изначально положительных на *Lactobacillus* spp.) попадала в «серую зону» и могла быть обусловлена как присутствием микроорганизмов в эндометрии, так и контаминацией образца цервикальной микробиотой. Напротив, обнаружение УПМ в эндометрии можно интерпретировать как маркер их реального присутствия, поскольку их количества в большинстве случаев превышали установленные пороги цервикального переноса. Полученные результаты указывают на необходимость разработки новых методов взятия образцов эндометрия, позволяющих эффективно исключать контаминацию цервикальной микробиотой, либо интерпретировать результаты исследования такого биоматериала как совокупную цервико-эндометриальную микробиоту.

Литература

- Mitchell CM, Haick A, Nkwopara E, Garcia R, Rendi M, Agnew K, et al. Colonization of the upper genital tract by vaginal bacterial species in nonpregnant women. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2015; 212 (5): 611–e1. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2014.11.043>.
- Winters AD, Romero R, Gervasi M, Gomez-Lopez N, Tran MR, Garcia-Flores V, et al. Does the endometrial cavity have a molecular microbial signature? *Scientific Reports*. 2019; 9: 9905. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46173-0>.
- Polifke A, Schwedler A von, Gulba R, Bensmann R, Diltthey A, Nassar NN, et al. Differential characteristics of vaginal versus endometrial microbiota in IVF patients. *Scientific Reports*. 2024; 14 (1): 1–16. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-82466-9>.
- Franasiak JM, Scott RT. Endometrial microbiome. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*. 2017; 29 (3): 146–52. Available from: <https://doi.org/10.1097/GCO.0000000000000357>.
- Fang RL, Chen LX, Shu WS, Yao SZ, Wang SW, Chen YQ. Barcoded sequencing reveals diverse intrauterine microbiomes in patients suffering with endometrial polyps. *American journal of translational research*. 2016; 8 (3): 1581.
- Verstraelen H, Vilchez-Vargas R, Desimpel F, Jauregui R, Vankeirsbilck N, Weyers S, et al. Characterisation of the human uterine microbiome in non-pregnant women through deep sequencing of the V1-2 region of the 16S rRNA gene. *PeerJ*. 2016; 4: e1602. Available from: <https://doi.org/10.7717/peerj.1602>.
- Курцер М. А., Егикян Н. М., Савельева Н. А., Сеницына О. В., Ватагина М. А., Кутакова Ю. Ю. Сравнительная характеристика вагинального и эндометриального микробиома у пациенток со вторичным бесплодием, ассоциированным с нишей рубца на матке после кесарева сечения. *Гинекология*. 2021; 23 (6): 499–503. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.26442/20795696.2021.6.201300>.
- Карахалис Л. Ю., Кононенко Т. С. Таксономический профиль микробиома эндометрия при хроническом эндометрите. *Акушерство и гинекология: Новости Мнения Обучения*. 2022; 10 (4): 23–30. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.33029/2303-9698-2022-10-4-23-30>.
- Bui BN, Hoogenhuijze N van, Viveen M, Mol F, Teklenburg G, Bruin JP de, et al. The endometrial microbiota of women with or without a live birth within 12 months after a first failed IVF/ICSI cycle. *Scientific reports*. 2023; 13 (1): 3444. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30591-2>.
- Jain M, Mladova E, Dobychina A, Kirilova K, Shichanina A, Anokhin D, et al. Comparison of microbial profiles and viral status along the vagina-cervix-endometrium continuum of infertile patients. *Systems Biology in Reproductive Medicine*. 2023; 69 (4): 310–9. Available from: <https://doi.org/10.1080/19396368.2023.2195040>.
- Masucci L, D'Ippolito S, De Maio F, Quaranta G, Mazzarella R, Bianco DM, et al. Celiac disease predisposition and genital tract microbiota in women affected by recurrent pregnancy loss. *Nutrients*. 2023; 15 (1): 221.
- Ying X, Xu G, Wang H, Wang Y. An altered uterine microbiota with endometrial hyperplasia. *BMC microbiology*. 2024; 24 (1): 258. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03379-1>.
- Крысанова А. А., Сторожева К. В., Будилковская О. В., Хуснутдинова Т. А., Шалеев К. В., Тапильская Н. И., и др. Архитектоника микробиоты эндометрия у женщин с бесплодием различного генеза. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (9): 478–86. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-9-478-486>.
- Moreno I, Garcia-Grau I, Bau D, Perez-Villaroya D, Gonzalez-Monfort M, Vilella F, et al. The first glimpse of the endometrial microbiota in early pregnancy. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2020; 222 (4): 296–305. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.01.031>.
- Zhang H, Zou H, Zhang C, Li X, Wang Z, Liu C, et al. Chronic endometritis and the endometrial microbiota: implications for reproductive success in patients with recurrent implantation failure. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2024; 23: 49. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12941-024-00710-6>.
- Zhao Y, Liao Y, Xu G, Wang Y. Endometrial microbiota alteration in female patients with endometrial polyps based on 16S rRNA gene sequencing analysis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2024; 14: 1351329. Available from: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1351329>.
- Ванакова А. И., Долгушина Н. В., Денисов П. А., Гончарук О. Д., Муравьева В. В., Припутневич Т. В. Особенности микробиоты полости матки у пациенток с полипами эндометрия. *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2025; 1 (6): 6. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.24075/vrgmu.2025.007>.
- Khan KN, Fujishita A, Masumoto H, Muto H, Kitajima M, Masuzaki H, et al. Molecular detection of intrauterine microbial colonization in women with endometriosis. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2016; 199: 69–75. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2016.01.040>.
- Chen C, Song X, Wei W, Zhong H, Dai J, Lan Z, et al. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to

- uterine-related diseases. *Nature Communications*. 2017; 8: 875. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00901-0>.
20. Riganelli L, Iebba V, Piccioni M, Illuminati I, Bonfiglio G, Neroni B, et al. Structural Variations of Vaginal and Endometrial Microbiota: Hints on Female Infertility. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2020; 10: 350. Available from: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00350>.
 21. Ворошилина Е. С., Зорников Д. Л., Колосова О. В., Исламиди Д. К., Игнатова К. Ю., Абакумова Е. И., и др. Возможности оценки микробиоты полости матки с использованием ПЦР в реальном времени. *Вестник РГМУ*. 2020; (1): 14–21. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.24075/brsmu.2020.012>.
 22. Зорников Д. Л., Бехтер А. А., Корнилов Д. О., Симарзина В. М., Нечаева Д. М., Карякина А. Е., и др. Урогенитальные зонды типа Пайпель-С не предотвращают контаминацию эндометриальных образцов цервикальной микробиотой. *Вестник РГМУ*. 2025; 6: 95–102. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.24075/vrgmu.2025.073>.
 23. Обоскалова Т., Глухов Е., Лаврентьева И., Богданова А., Козырева Е., Нефф Е., и др. Профилактика и лечение воспалительных заболеваний в акушерстве и гинекологии с использованием метода ультразвуковой кавитации лекарственных растворов. *Практическое руководство для врачей*. Екатеринбург: Vip-Ural, 2014.
 24. Плотнок Е. Э. Прогнозирование, профилактика, диагностика и лечение осложнений искусственного прерывания беременности. Москва, 2013.
 25. Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, Valbuena D, Martinez-Blanch JF, Jimenez-Almazán J, et al. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2016; 215 (6): 684–703. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.09.075>.
 26. Wee BA, Thomas M, Sweeney EL, Frentiu FD, Samios M, Ravel J, et al. A retrospective pilot study to determine whether the reproductive tract microbiota differs between women with a history of infertility and fertile women. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2018; 58 (3): 341–8. Available from: <https://doi.org/10.1111/ajo.12754>.
 27. Pelzer ES, Willner D, Buttini M, Huygens F. A role for the endometrial microbiome in dysfunctional menstrual bleeding. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2018; 111 (6): 933–43. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10482-017-0992-6>.
 28. Duff P, Gibbs RS, Blanco JD, Clair PJS. Endometrial culture techniques in puerperal patients. *Obstetrics & Gynecology*. 1983; 61 (2): 217–22.
 1. Mitchell CM, Haick A, Nkwopara E, Garcia R, Rendi M, Agnew K, et al. Colonization of the upper genital tract by vaginal bacterial species in nonpregnant women. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2015; 212 (5): 611–e1. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2014.11.043>.
 2. Winters AD, Romero R, Gervasi M, Gomez-Lopez N, Tran MR, Garcia-Flores V, et al. Does the endometrial cavity have a molecular microbial signature? *Scientific Reports*. 2019; 9: 9905. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46173-0>.
 3. Polifke A, Schwedler A von, Gulba R, Bensmann R, Diltz A, Nassar NN, et al. Differential characteristics of vaginal versus endometrial microbiota in IVF patients. *Scientific Reports*. 2024; 14 (1): 1–16. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-82466-9>.
 4. Franasjak JM, Scott RT. Endometrial microbiome. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*. 2017; 29 (3): 146–52. Available from: <https://doi.org/10.1097/GCO.0000000000000357>.
 5. Fang RL, Chen LX, Shu WS, Yao SZ, Wang SW, Chen YQ. Barcoded sequencing reveals diverse intrauterine microbiomes in patients suffering with endometrial polyps. *American journal of translational research*. 2016; 8 (3): 1581.
 6. Verstraelen H, Vilchez-Vargas R, Desimpel F, Jauregui R, Vankeirsbilck N, Weyers S, et al. Characterisation of the human uterine microbiome in non-pregnant women through deep sequencing of the V1-2 region of the 16S rRNA gene. *PeerJ*. 2016; 4: e1602. Available from: <https://doi.org/10.7717/peerj.1602>.
 7. Kurcer MA, Egikyan NM, Saveleva NA, Sinicyna OV, Vatagina MA, Kutakova YuYu. Sravnitel'naya harakteristika vaginal'nogo i endometrial'nogo mikrobioma u pacientok so vtorichnym besplodiem, associirovannym s nishej rubca na matke posle kesareva secheniya. *Ginekologiya*. 2021; 23 (6): 499–503. Dostupno po ssylke: <https://doi.org/10.26442/20795696.2021.6.201300>. Russian.
 8. Karahalil'sYu, Kononenko TS. Taksonomicheskij profil' mikrobioma endometriya pri hronicheskom endometrite. *Akusherstvo i ginekologiya: Novosti Mneniya Obucheniya*. 2022; 10 (4): 23–30. Dostupno po ssylke: <https://doi.org/10.33029/2303-9698-2022-10-4-23-30>. Russian.
 9. Bui BN, Hoogenhuijze N van, Viveen M, Mol F, Teklenburg G, Bruin JP de, et al. The endometrial microbiota of women with or without a live birth within 12 months after a first failed IVF/ICSI cycle. *Scientific reports*. 2023; 13 (1): 3444. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30591-2>.
 10. Jain M, Mladova E, Dobychina A, Kirilova K, Shicharina A, Anokhin D, et al. Comparison of microbial profiles and viral status along the vagina-cervix-endometrium continuum of infertile patients. *Systems Biology in Reproductive Medicine*. 2023; 69 (4): 310–9. Available from: <https://doi.org/10.1080/19396368.2023.2195040>.
 11. Masucci L, D'Ippolito S, De Maio F, Quaranta G, Mazzarella R, Bianco DM, et al. Celiac disease predisposition and genital tract microbiota in women affected by recurrent pregnancy loss. *Nutrients*. 2023; 15 (1): 221.
 12. Ying X, Xu G, Wang H, Wang Y. An altered uterine microbiota with endometrial hyperplasia. *BMC microbiology*. 2024; 24 (1): 258. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03379-1>.
 13. Kysanova AA, Storozheva KV, Budilovskaya OV, Husnutdinova TA, Shalepo KV, Tapilskaya NI, i dr. Arhitektonika mikrobioty endometriya u zhenshchin s besplodiem razlichnogo geneza. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2024; 69 (9): 478–86. Dostupno po ssylke: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-9-478-486>. Russian.
 14. Moreno I, Garcia-Grau I, Bau D, Perez-Villaroya D, Gonzalez-Monfort M, Vilella F, et al. The first glimpse of the endometrial microbiota in early pregnancy. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2020; 222 (4): 296–305. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.01.031>.
 15. Zhang H, Zou H, Zhang C, Li X, Wang Z, Liu C, et al. Chronic endometritis and the endometrial microbiota: implications for reproductive success in patients with recurrent implantation failure. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2024; 23: 49. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12941-024-00710-6>.
 16. Zhao Y, Liao Y, Xu G, Wang Y. Endometrial microbiota alteration in female patients with endometrial polyps based on 16S rRNA gene sequencing analysis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2024; 14: 1351329. Available from: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1351329>.
 17. Vanakova AI, Dolgushina NV, Denisov PA, Goncharuk OD, Muraveva VV, Priputnevich TV. Osobennosti mikrobioty polosti matki u pacientok s polipami endometriya. *Vestnik Rossijskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*. 2025; 1 (6): 6. Dostupno po ssylke: <https://doi.org/10.24075/vrgmu.2025.007>. Russian.
 18. Khan KN, Fujishita A, Masumoto H, Muto H, Kitajima M, Masuzaki H, et al. Molecular detection of intrauterine microbial colonization in women with endometriosis. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2016; 199: 69–75. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2016.01.040>.
 19. Chen C, Song X, Wei W, Zhong H, Dai J, Lan Z, et al. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. *Nature Communications*. 2017; 8: 875. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00901-0>.
 20. Riganelli L, Iebba V, Piccioni M, Illuminati I, Bonfiglio G, Neroni B, et al. Structural Variations of Vaginal and Endometrial Microbiota: Hints on Female Infertility. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2020;

- 10: 350. Available from: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00350>.
21. Voroshilina ES, Zornikov DL, Kuposova OV, Islamidi DK, Ignatova KY, Abakumova EI, et al. The use of real-time PCR for evaluation of endometrial microbiota. *Bulletin of RSMU*. 2020; 1: 14–20. DOI: 10.24075/brsmu.2020.012.
 22. Zornikov DL, Bekhter AA, Kornilov DO, Simarzina VM, Nechaeva DM, Karyakina AE, et al. Pipelle and endobrush catheters do not prevent contamination of endometrial samples by cervical microbiota. *Bulletin of RSMU*. 2025; (6): 89–95. DOI: 10.24075/brsmu.2025.073
 23. Oboskalova T, Gluhov E, Lavrenteva I, Bogdanova A, Kozyreva E, Neff E, i dr. Profilaktika i lechenie vospalitel'nyh zabolevanij v akusherstve i ginekologii s ispol'zovaniem metoda ul'trazvukovoj kavitacii lekarstvennyh rastvorov. *Prakticheskoe rukovodstvo dlya vrachej*. Ekaterinburg: Vip-Ural, 2014. Russian.
 24. Plotko EE. Prognozirovanie, profilaktika, diagnostika i lechenie oslozhnenij iskusstvennogo preryvaniya beremennosti. Moskva, 2013. Russian.
 25. Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, Valbuena D, Martinez-Blanch JF, Jimenez-Almazán J, et al. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2016; 215 (6): 684–703. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.09.075>.
 26. Wee BA, Thomas M, Sweeney EL, Frentiu FD, Samios M, Ravel J, et al. A retrospective pilot study to determine whether the reproductive tract microbiota differs between women with a history of infertility and fertile women. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2018; 58 (3): 341–8. Available from: <https://doi.org/10.1111/ajo.12754>.
 27. Pelzer ES, Willner D, Buttini M, Huygens F. A role for the endometrial microbiome in dysfunctional menstrual bleeding. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2018; 111 (6): 933–43. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10482-017-0992-6>.
 28. Duff P, Gibbs RS, Blanco JD, Clair PJS. Endometrial culture techniques in puerperal patients. *Obstetrics & Gynecology*. 1983; 61 (2): 217–22.