

Роль условно-патогенных микроорганизмов в этиологии хронического эндометрита у женщин репродуктивного возраста

В.В. Муравьева, Т.В. Припутневич, О.В. Якушевская, Г.Е. Чернуха,
Л.А. Марченко, А.С. Анкирская, Л.А. Любасовская, А.Р. Мелкумян

ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова»
Минздрава России, Москва, Россия

Цель. Оценить потенциальное значение условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) в этиологии хронического эндометрита (ХЭ) на основе сравнения состава микроценозов нижнего и верхнего отделов гениталий у женщин репродуктивного возраста с различными морфологическими признаками ХЭ и при полипах эндометрия (ПЭ).

Материал и методы. В исследование включены 164 женщины репродуктивного возраста, которые по результатам гистологического исследования эндометрия разделены на четыре группы: I — полный симптомокомплекс ХЭ ($n=38$), II — неполный симптомокомплекс (НХЭ) ($n=92$), III — ПЭ ($n=15$), IV — контрольная группа ($n=19$). Под гистероскопическим контролем у 60 женщин выполнена биопсия эндометрия и у 104 — аспирационная биопсия. У всех женщин проведено сравнительное изучение микрофлоры влагалища и биоптата эндометрия культуральным методом.

Результаты. При ХЭ колонизация эндометрия УПМ выявлена в 56,7% случаев. Наиболее

часто выделяли стрептококки (23,7%), среди которых лидировали *S.agalactiae* и *S.anginosus*; *Gardnerella vaginalis* (15,8%), энтеробактерии и энтерококки (по 13%). Реже обнаруживали строгие анаэробы и актиномицеты (по 5,2%). Установлено, что относительный риск колонизации эндометрия у женщин с измененными микроэкологическими параметрами вагинального биотопа в 3,5 раза выше, чем у пациенток с нормоценозом ($p<0,01$, ОР=3,5; ДИ 95%: 2,2–5,6). Максимальный относительный риск восходящей инфекции отмечен при нарушении микроценоза влагалища у женщин с ХЭ ($p<0,01$, ОР=10,4; ДИ 95%: 1,5–70,6).

Выводы. Установлена взаимосвязь между нарушением микроэкологии влагалища и колонизацией эндометрия УПМ: в большинстве случаев инфицирование эндометрия отмечено на фоне вагинальных инфекций, которые являются фактором риска восходящей инфекции.

Ключевые слова: хронический эндометрит, условно-патогенные микроорганизмы, эндометрий, микроценоз влагалища.

The Role of Opportunistic Microorganisms in the Etiology of Chronic Endometritis in Women of Reproductive Age

V.V. Muravyova, T.V. Pripitnevich, O.V. Yakushevskaya, G.E. Tchernukha, L.A. Marchenko, A.S. Ankirskaya, L.A. Lyubasovskaya, A.R. Melkumyan

Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after V.I. Kulakov, Moscow, Russia

Objective. To assess potential role of opportunistic microorganisms in the etiology of chronic endometritis by comparison of microbiota of upper and lower genital tract in women of reproductive age with different histopathologic findings of chronic endometritis and endometrial polyps.

Materials and Methods. A total of 164 women of reproductive age were enrolled in this study and assigned to four groups by histopathologic changes in endometrium: I — complete set of chronic endometritis findings ($n=38$); II — partial set of chronic endometritis findings ($n=92$); III — endometrial polyps ($n=15$); IV — control group ($n=19$). An endometrium biopsy and fine-needle aspiration biopsy was performed during the hysteroscopy in 60 and 104 female patients, respectively. Comparative analysis of vaginal microbiota and endometrial microorganisms was completed by culture.

Results. Endometrial colonization with opportunistic microorganisms was found in 56.7% of women with chronic endometritis. The most common microorganisms

isolated were streptococci (23.7%), primarily *S. agalactiae* and *S. anginosus* followed by *Gardnerella vaginalis* (15.8%), enterobacteria and enterococci (13% each). Anaerobes and actinomycetes were found less frequently (5.2% each). *Odds ratio* (OR) for endometrial colonization in women with altered vaginal microbiota was determined to be higher than in patients with normal vaginal microbiota (OR=3.5, $p<0.01$, 95% CI 2.2–5.6). Women with chronic endometritis and altered vaginal microbiota had the highest OR for endometrial colonization (OR=10.4, $p<0.01$, 95% CI 1.5–70.6).

Conclusions. The association between alterations in vaginal microbiota and endometrial colonization with opportunistic microorganisms has been determined. In most cases, endometrial infection occurred in women with vaginal infections being the risk factor of ascending infection.

Key words: chronic endometritis, opportunistic microorganisms, endometrium, vaginal microbiota.

Введение

Хронический эндометрит (ХЭ) относится к категории малоизученных заболеваний, что обусловлено не только отсутствием четких клинических критериев постановки диагноза, но и необходимостью использования высокочувствительных и специфических методов его лабораторного подтверждения. Распространенность ХЭ в зависимости от популяции обследуемых женщин варьирует от 0,2 до 66,0%, составляя в среднем 14% [1–4]. Часто ХЭ протекает бессимптомно и/или атипично, манифестируя различными проявлениями аномальных маточных кровотечений в сочетании с незначительными болями в нижних отделах живота. Диагноз ставится в основном случайно, при углубленном обследовании пациенток, страдающих бесплодием неясного генеза, привычным невынашиванием беременности или при уточнении причин многократных неудач переноса эмбрионов в программах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) [5–7]. Золотым стандартом диагностики ХЭ является проводимая на 7–10-й день менструального цикла биопсия эндометрия в сочетании с гистероскопией. При этом в эндометрии в фазу пролиферации обнаруживаются морфологические

и иммуногистохимические признаки воспаления (наличие в строме воспалительных инфильтратов с плазматическими клетками, фиброз стромы и склеротические изменения в спиральных артериях), которые гистероскопически представлены микрополипами слизистой матки, отеком стромы в сочетании с очаговой и диффузной гиперемией, что позволяет в 93,4% случаев верифицировать ХЭ, не используя биопсию эндометрия [8]. Считается, что этиопатогенетической причиной ХЭ является проникновение в эндометрий в основном условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) и редко — абсолютных патогенов. Инфекционные агенты связываются с *Toll-подобными рецепторами* (TLR), активируют клетки макрофагально-моноцитарного ряда, продуцируют провоспалительные цитокины, в результате чего формируется воспалительная реакция, направленная на эрадикацию чужеродного бактериального агента [9, 10]. Определение этиологического фактора ХЭ в значительной мере связано с трудностями получения материала (биоптата эндометрия) для бактериологического исследования и высокой вероятностью его контаминации вагинальной микрофлорой, что уменьшает ценность полученных результатов.

Цель исследования: оценить потенциальное значение УПМ в этиологии ХЭ на основе сравнения состава микроценозов нижнего и верхнего отделов гениталий у женщин репродуктивного возраста с различными морфологическими признаками ХЭ и при полипах эндометрия.

Материал и методы

В исследование включены 164 женщины репродуктивного возраста с жалобами на аномальные маточные кровотечения и бесплодие. Средний возраст пациенток составил $31,8 \pm 2,3$ года. На 7–10-й день менструального цикла под гистероскопическим контролем выполняли биопсию эндометрия ($n=60$) или в амбулаторных условиях аспирационную биопсию с помощью кюретки Pipelle de Cornie ($n=104$). Полученный материал направляли на гистологическое и микробиологическое исследование. Гистологическое исследование биоптатов эндометрия проводили после окраски гематоксилином и эозином.

Верификация ХЭ была основана на общепринятых критериях:

— наличие в строме эндометрия воспалительных инфильтратов, состоящих преимущественно из лимфоидных элементов с включением макрофагов и эозинофилов, расположенных чаще вокруг желез и кровеносных сосудов, реже диффузно;

— наличие в инфильтратах плазматических клеток;

— очаговое фиброзирование стромы эндометрия;

— склеротические изменения стенок спиральных артерий эндометрия.

Перечисленные морфологические признаки представляют полный симптомокомплекс ХЭ. При наличии одного из морфологических признаков, чаще только первого, используется термин неполная морфологическая картина ХЭ. По результатам гистологического исследования пациентки были разделены на четыре группы: I группа — полный симптомокомплекс ХЭ ($n=38/23,2\%$), II — *неполный симптомокомплекс* (НХЭ) ($n=92/56,0\%$), III — *полипы эндометрия* (ПЭ) ($n=15/9,2\%$), IV — контрольная группа — эндометрий ранней, средней и поздней стадии пролиферации ($n=19/11,6\%$).

Комплексное микробиологическое исследование включало оценку микроценоза влагалища по данным микроскопии мазка вагинального отделяемого, окрашенного по Граму и культурального исследования в соответствии с медицинской технологией «Интегральная оценка состояния микробиоты влагалища. Диагностика оппортунистических вагинитов» [11], а также изучение микрофлоры биоптата эндометрия в анаэробных и микроаэрофильных условиях культивирования.

Для исключения контаминации биоптата эндометрия микрофлорой нижних отделов гениталий последовательно проводили обработку различных локусов антисептиком (октенисептом) по следующей схеме:

— сбор вагинального содержимого по стандартной методике;

— обработка влагалища, шейки матки и цервикального канала дважды с интервалом в течение 5 минут с антисептиком октенисепт.

Вагинальное отделяемое и гомогенат биоптата эндометрия заседали на стандартные питательные среды. Для выделения факультативно-анаэробных микроорганизмов использовали: колумбийский агар, маннит-солевой агар (Conda, Испания), среду Эндо и агар Сабуро (ФГУН «ГИЦПМ и Б», Оболенск, Россия). Лактобациллы культивировали на среде Лактобакагар (ФГУН «ГИЦПМ и Б», Оболенск, Россия), строгие анаэробы — на прeredуцированном агаре Schaedler с добавками (Conda, Испания). Инкубировали посеы в условиях CO_2 инкубатора (Joan, Франция). Строгие анаэробы и лактобациллы культивировали в анаэробном боксе (Joan, Франция) в атмосфере трехкомпонентной газовой смеси ($N_2 - 80\%$, $CO_2 - 10\%$, $H_2 - 10\%$). Видовую идентификацию микроорганизмов проводили методом *времяпролетной масс-спектрометрии* (MALDI TOF MS) с помощью масс-спектрометра AutoFlex III с программным обеспечением Maldi BioTyper (Bruker Daltonics, Германия).

При статистической обработке полученных результатов для оценки достоверности различий между группами использовали непараметрический критерий Манна-Уитни для количественных признаков и метод Хи-квадрат для сравнения дискретных величин, а также корреляционный анализ методом Спирмена. Для всех видов анализа статистически значимым считали значения $p < 0,05$. Статистическая обработка проведена с применением пакета прикладных программ Statistica 7.0.

Результаты исследований

Проведен детальный анализ клинических и анамнестических данных пациенток, включенных в исследование. Основные жалобы пациенток, предъявляемые при обращении, представлены в табл. 1. При оценке характера жалоб больных из основных групп и контрольной группы показано, что для различных вариантов патологии эндометрия характерны аномальные маточные кровотечения. При этом обильные менструальные кровотечения достоверно чаще встречались при полипах эндометрия. В частоте межгрупповой представленности межменструальных маточных кровотечений

Таблица 1. Основные жалобы наблюдаемых женщин (абс./%)

Жалобы	Группы женщин			
	I (n=38)	II (n=92)	III (n=15)	IV (n=19)
Обильные менструальные кровотечения	10(26,3%)*	17(18,4%)	6(40,0%)	1(5,2%)
Межменструальные маточные кровотечения	7(18,4%)	25(27,1%)	4(26,7%)	3(15,7%)
Скудные менструации	2(5,2%)	9(9,8%)	–	1(5,2%)
Привычные потери беременности	5(13,1%)	12(13,0%)	–	5(26,3%)
Бесплодие	30(79,0%)	53(57,6%)	9(60,0%)	14(73,7%)
Сочетание жалоб	8(21,0%)	17(18,4%)	4(26,7%)	3(15,7%)

Примечание: * – $p < 0,05$ между I, II и IV группами.

Таблица 2. Состояние микроценоза влагалища у наблюдаемых женщин

Состояние микроценоза	Группы женщин							
	I (n=38)		II (n=92)		III (n=15)		IV (n=19)	
	частота различных вариантов вагинального микроценоза							
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Нормоценоз	15	39,5	50	54,3	8	53,3	12	63,2
Бактериальный вагиноз	1	2,6	1	1,1	1	6,7	–	–
Мезоценоз	10	26,3	11	11,9	2	13,3	3	15,8
Аэробный вагинит	11	29,0	22	23,9	3	20,0	3	15,8
Кандидозный вагинит	1	2,6	3	3,3	1	6,7	1	5,2
AB+KB	–	–	4	4,4	–	–	–	–
«Стерильный биотоп»	–	–	1	1,1	–	–	–	–
Вагинальные инфекции (суммарно)	23	60,5	41	44,6	7	46,7	7	36,8

Примечание. AB+KB—сочетание аэробного и кандидозного вагинита.

и скудных менструаций достоверных различий не выявлено. Отсутствие какой-либо патологии эндометрия (IV группа) в 89,0% случаев ассоциировалось с жалобами на привычные потери беременности и бесплодие. Следует отметить, что две и более попыток ЭКО отмечены в 5 раз чаще при ХЭ (17,5%) в сравнении с НХЭ (3,1%) и контрольной группой (4,7%) ($p < 0,05$).

Дизайн микробиологического исследования определялся принципом последовательного изучения микрофлоры по биотопам: влагалище, полость матки (эндометрий). Особенности микроценоза влагалища в группах сравнения представлены в табл. 2.

Установлено, что у 15 из 38 женщин (39,5%) с ХЭ микробиологические параметры вагинального биотопа соответствовали критериям нормы репродуктивного возраста. У 23 женщин (60,5%) состояние вагинального микроценоза ассоциировалось с вагинальными инфекциями: аэробным вагинитом (AB) (29,0%), мезоценозом (M) (26,3%), бактери-

альным вагинозом (BB) (2,6%); у одной пациентки (2,6%) выявлен кандидозный вагинит (KB).

В группе пациенток с НХЭ нормоценоз (H) диагностирован в 54,3% случаев, у 44,6% женщин выявлены вагинальные инфекции: M (11,9%), BB (1,1%), AB (23,9%), KB (3,3%), а также сочетание AB с KB (4,4%). У одной пациентки (1,1%), по данным микроскопии и культурального исследования, микроорганизмы не обнаружены, что позволило нам условно обозначить это состояние как «стерильный биотоп».

Среди пациенток с ПЭ состояние H отмечено в 53,3% случаев, в 46,7% — обнаружено нарушение вагинального микроценоза: M (13,2%), BB (6,7%), AB (20,0%), KB (6,7%).

В контрольной группе у 12 (63%) женщин выявлен H и у 7 (36,8%) — микробиологические нарушения: с одинаковой частотой диагностировали M и AB (15,8%) и в 1 случае (5,2%) — KB.

Анализ частоты выявления H и вагинальных инфекций у наблюдаемых женщин показал, что

Таблица 3. Частота выделения нормофлоры и УПМ из биоптата эндометрия у наблюдаемых женщин

Выделенная микрофлора	Группы женщин			
	I (n=38)	II (n=92)	III (n=15)	IV (n=19)
	частота выделения микроорганизмов, абс./%			
Роста нет	8/21,1	10/10,9	4/26,7	1/5,3
Обнаружены микроорганизмы	30/78,9	82/89,1	11/73,3	18/94,7
Только лактобациллы	10/33,3	44/53,6	5/45,5	9/50,0
Лактобациллы + бифидобактерии	3/10,0	1/1,2	0	0
Суммарно нормофлора	13/43,3	45/54,9	5/45,5	9/50,0
Только УПМ	5/16,7	9/10,9	0	1/5,5
УПМ + лактобациллы	12/40,0	27/32,9	6/54,5	8/44,4
УПМ + бифидобактерии	0	1/1,2	0	0
Суммарно УПМ	17/56,7	37/45,1	6/40,0	9/50,0
Суммарно лактобациллы, в т.ч. в ассоциации с УПМ	25/83,3	72/87,8	11/100,0	17/94,4

в группе с ХЭ нарушение микроценоза наблюдалось в 1,6 раза чаще в сравнении с контрольной группой (60,5 и 36,8% соответственно). Нарастание инфекционной патологии касалось в основном состояний, ассоциированных со строгими анаэробами и гарднереллой (БВ и М) и факультативными анаэробами (АВ), которые в 1,8 раза чаще встречались при ХЭ.

Частота выделения УПМ и представителей нормофлоры в биоптате эндометрия обследованных женщин показаны в табл. 3.

Частота стерильных образцов эндометрия в I–IV группах составила 21,1; 10,9; 26,7 и 5,3% соответственно. Только нормофлора (лактобациллы и бифидобактерии) обнаружены в I–IV группах у 43,3; 54,9; 45,5 и 50,0% женщин соответственно. Колонизация эндометрия УПМ в I–IV группах составила: 56,7; 45,1; 40,0 и 50,0% соответственно. При большей частоте высеваемости УПМ в I группе достоверного различия с другими группами не получено. В то же время при ХЭ и НХЭ только УПМ высевали соответственно в 16,7 и 10,9% случаев, что соответственно в 3 и 2 раза чаще в сравнении с контрольной группой (5,5%), однако вследствие малой выборки различие недостоверно ($p > 0,05$).

Для выяснения этиологической роли УПМ при ХЭ и НХЭ мы оценили частоту выделения отдельных видов и степень обсемененности ими биоптата эндометрия (табл. 4). Видовой спектр микроорганизмов, колонизирующих эндометрий у обследованных женщин, отличался широким разнообразием: выявлена большая группа УПМ и микроорганизмов, в норме населяющих нижние отделы гениталий. УПМ факультативно-анаэробного происхождения были пред-

ставлены энтеробактериями (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*), стафилококками (*Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. capitis*), энтерококком (*Enterococcus faecalis*), стрептококками (*Streptococcus agalactiae*, *S. anginosus*, *S. oralis*, *S. lutetensis*, *S. gallolyticus*, *S. salivarius*, *S. equinus*), коринебактериями (*Corynebacterium amycolatum*, *C. glucuronolyticus*), актиномицетами (*Actinomyces radingae*, *A. odontolyticus*, *A. neuii*), дрожжевыми грибами рода *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. lusitaniae*). Группа облигатно-анаэробных УПМ включала *Anaerococcus vaginalis*, *Dialister microaerophilus*, *Fingoldia magna*, *Peptoniphilus harei*, *Propionibacterium acnes*, *Atopobium vaginae*. УПМ микроаэрофильной природы представлены *Gardnerella vaginalis*. Микроорганизмы, ассоциируемые с облигатной составляющей нормофлоры нижних отделов половых путей, были представлены в биоптате эндометрия лактобациллами (*Lactobacillus crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii*, *L. gasseri*, *L. vaginalis*, *L. mucosae*, *L. salivarius*, *L. paracasei*, *L. delbrueckii*), бифидобактериями (*B. longum*, *B. breve*) и *Alloscardovia omnicolens*.

При ХЭ доминировали микроорганизмы факультативно-анаэробного происхождения. Наиболее часто выделялись стрептококки (23,7%), среди которых лидирующее положение занимали *S. agalactiae* и *S. anginosus*. С одинаковой частотой колонизировали эндометрий энтеробактерии (преимущественно *E. coli*) и энтерококки (по 13%). Стафилококки — *S. aureus* и коагулазонегативные стафилококки (КНС) встречались редко (по 2,6%). Важное место занимала *G. vaginalis* (15,8%) и значительно реже обнаруживали строгие анаэробы и актиномицеты (по 5,2%).

Таблица 4. Видовой состав микроорганизмов, выделенных из биоптата эндометрия в группах наблюдаемых женщин

Виды микроорганизмов	Частота выделения микроорганизмов из биоптата эндометрия							
	I группа (n=38)		II группа (n=92)		III группа (n=15)		IV группа (n=19)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
<i>Энтеробактерии:</i>	5	13,2	9	9,8	1	6,7	0	0
<i>Escherichia coli</i>	4	10,5	6	6,5	1	6,7	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	2	2,2	0	0	0	0
<i>Стафилококки:</i>	2	5,3	3	3,3	3	20,0	2	10,5
<i>S. aureus</i>	1	2,6	0	0	0	0	0	0
КНС	1	2,6	3	3,3	3	20,0	3	10,5
<i>Enterococcus faecalis</i>	5	13,2	6	6,5	1	6,7	3	15,8
<i>Стрептококки:</i>	9	23,8	14	15,2	4	26,6	5	26,3
<i>S. agalactiae</i>	2	5,3	3	3,3	1	6,7	2	10,5
<i>S. anginosus</i>	5	13,2	7	7,6	2	13,3	1	5,2
<i>Коринебактерии</i>	1	2,6	1	1,1	0	0	0	0
<i>Дрожжевые грибы</i>	0	0	3	3,3	0	0	1	5,2
<i>Актиномицеты</i>	2	5,2	1	1,1	2	13,3	0	0
<i>Облигатные анаэробы:</i>								
<i>Alloscardovia omnicolens</i>	1	2,6	6	6,5	0	0	1	5,2
<i>Bifidobacterium sp.</i>	2	5,2	1	1,1	0	0	1	5,2
<i>Anaerococcus vaginalis</i>	0	0	1	1,1	0	0	0	0
<i>Dialister microaerophilus</i>	1	2,6	0	0	0	0	0	0
<i>Fingoldia magna</i>	0	0	3	3,3	0	0	0	0
<i>Peptoniphilus harei</i>	0	0	0	0	1	6,7	1	5,2
<i>Propionibacterium acnes</i>	1	2,6	2	2,2	0	0	1	5,2
<i>Atopobium vaginae</i>	0	0	1	1,1	0	0	0	0
<i>Gardnerella vaginalis</i>	6	15,8	9	9,8	0	0	3	15,8
<i>Лактобациллы:</i>								
<i>L. crispatus</i>	12	31,6	43	46,7	6	40,0	6	31,6
<i>L. iners</i>	4	10,5	13	14,1	1	6,7	6	31,6
<i>L. jensenii</i>	10	26,3	25	27,2	6	40,0	7	36,8
<i>L. gasseri</i>	7	18,4	24	26,1	3	20,0	8	42,1
<i>L. vaginalis</i>	3	7,9	8	8,7	0	0	1	5,2
<i>L. mucosae</i>	0	0	1	1,1	0	0	0	0
<i>L. salivarius</i>	0	0	1	1,1	0	0	0	0
<i>L. paracasei</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>L. delbrueckii</i>	1	2,6	1	1,1	0	0	0	0
Роста нет	8	21,1	10	10,9	4	26,7	1	5,3

При НХЭ в биоптате эндометрия так же, как при ХЭ, ведущими были факультативные анаэробы, хотя частота их выделения была несколько ниже: стрептококки составляли 15,2%, энтеробактерии — 9,8% и энтерококки — 6,5% случаев. Реже выделяли *G. vaginalis* (9,8%) и строгие анаэробы (7,7%). В 3,3% случаев обнаружены дрожжевые грибы рода *Candida*.

Среди УПМ в контрольной группе, как и в основных группах, чаще высевали стрептокок-

ки (26,3%), однако *S. anginosus* выделяли в 2,5 раза реже, чем при ХЭ и ПЭ (5,2% против 13,2%), но без достоверного различия ($p > 0,05$ вследствие малой выборки). С одинаковой частотой обнаруживали *G. vaginalis* и *E. faecalis* (по 15,8%). В то же время не обнаружены энтеробактерии и актиномицеты. Достоверно чаще, в сравнении с ХЭ ($p = 0,05$), выделяли CoNS (10,5%).

Видовой состав лактобацилл в сравниваемых группах практически не отличался: четыре основ-

Таблица 5. Частота колонизации биоптатов эндометрия УПМ у женщин с нормоценозом влагалища и различными вариантами вагинальных инфекций

Группы	УПМ (+) (n=68)						УПМ (-) (n=96)						
	Н	М	БВ	КВ	АВ	АВ+КВ	Н	М	КВ	АВ	БВ	АВ+КВ	СБ
I (n=38)	1 (5,9%)	7	1	1	7	—	14 (66,7%)	3	—	4	—	—	—
II (n=92)	10 (27,8%)	8	1	1	13	3	40 (71,4%)	3	2	9	—	1	1
III (n=15)	3 (50,0%)	1	—	1	1	—	5	1	—	2	1	—	—
IV (n=19)	2 (22,2%)	3	—	1	3	—	10 (100%)	—	—	—	—	—	—
Всего: (n=164)	16 (23,5%)	19	2	4	24	3	69 (71,9%)	7	2	15	1	1	1 1,0%

Примечание: Н-нормоценоз.

Вагинальные инфекции: М — мезоценоз; БВ — бактериальный вагиноз; КВ — кандидозный вагинит; АВ — аэробный вагинит; АВ+КВ — аэробный вагинит в сочетании с кандидозным вагинитом; СБ — «стерильный биотоп»

ных вида (*L. crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii*, *L. gasseri*) выделяли из биоптата эндометрия во всех группах без достоверного различия. Бифидобактерии колонизировали эндометрий с частотой 7,8 и 7,6% в I и II группах и 10,4% в контрольной группе.

Анализ степени обсемененности гомогената эндометрия у обследованных женщин показал, что в контрольной группе УПМ (100%) высевались только в низком титре ($\leq 3 \lg$ КОЕ/мл гомогената). Аналогичные данные отмечены у женщин с ПЭ: 91,7% штаммов УПМ выделены в титре $\leq 3 \lg$ КОЕ/мл. В группах с ХЭ и НХЭ, напротив, соответственно 75,0 и 39,6% штаммов УПМ выделяли в концентрации 4–6 \lg КОЕ/мл гомогената эндометрия. При ХЭ от 80 до 100% изолятов УПМ колонизировали эндометрий в умеренном или высоком титре, среди них в частности: *E. faecalis* — 80,0%, *G. vaginalis* — 83,3%, стрептококки — 88,9%, энтеробактерии — 100%. Большая часть стрептококков, выделенных в высоком титре, относилась к двум видам: *S. agalactiae* и *S. anginosus*.

При НХЭ высокая обсемененность эндометрия УПМ отмечена у 39,6% изолятов, что почти в 2 раза реже, чем при ХЭ. Степень обсемененности $>4 \lg$ КОЕ/мл выявлена среди изолятов *G. vaginalis* (55,6%), стрептококков (42,9%), энтеробактерий (44,4%), энтерококков, дрожжевых грибов (33,3%) и строгих анаэробов (28,6%).

Актиномицеты, обнаруживаемые редко и только при патологическом состоянии эндометрия (I–III группы), а также стафилококки и коринебактерии во всех группах высевали только в низкой концентрации. Что касается представителей нормофлоры, то в I–IV группах лактобациллы в уме-

ренных титрах высевали с частотой 72,9, 64,7, 56,2 и 65,3% соответственно.

Для установления возможной корреляции между высеваемостью УПМ из эндометрия и состоянием вагинального микроценоза мы сравнили частоту выделения УПМ среди всех пациенток с нормоценозом и инфекционной патологией влагалища (табл. 5). Из табл. 5 следует, что из 164 обследованных женщин УПМ в биоптате эндометрия обнаружены у 68 (41,5%). При этом у 23,5% женщин состояние микробиоты влагалища оценено как Н, а у 76,5% — диагностированы вагинальные инфекции. Напротив, при отсутствии УПМ в биоптате эндометрия у 71,9% женщин состояние вагинального микроценоза соответствовало норме, а у 27,1% выявлены инфекционные нарушения.

Сравнение частоты выявления УПМ в эндометрии у женщин с вагинальными инфекциями и у женщин с Н показало, что риск колонизации эндометрия у женщин с измененными микробиологическими параметрами вагинального биотопа в 3,5 раза выше, чем у пациенток с Н ($p < 0,01$, ОР=3,5; ДИ 95%: 2,2–5,6). Частота колонизации эндометрия на фоне вагинальных инфекций у женщин в I–IV группах составила 94,1, 72,2, 50,0 и 77,8% соответственно. Обращает на себя внимание тот факт, что при ХЭ 94,1% случаев колонизации эндометрия УПМ сочеталась с нарушением вагинальной микроэкологии и только у одной пациентки (5,9%) УПМ в эндометрии выявлены на фоне Н. Однако у 33,3% пациенток с ХЭ и нарушением вагинального микроценоза УПМ в эндометрии не обнаружены. Относительные риски заселения полости матки УПМ при инфекционной патологии влагалища в сравнении с Н в I–IV группах соответственно

составили: 10,4 (ДИ 95%: 1,5–70,6); 3,8 (ДИ 95%: 2,0–7,0); 1,2 (ДИ 95%: 0,3–3,9) и 5,9 (ДИ 95%: 1,6–21,2) (рисунок). Максимальный относительный риск восходящей инфекции отмечен у женщин с ХЭ при нарушении микроценоза влагалища.

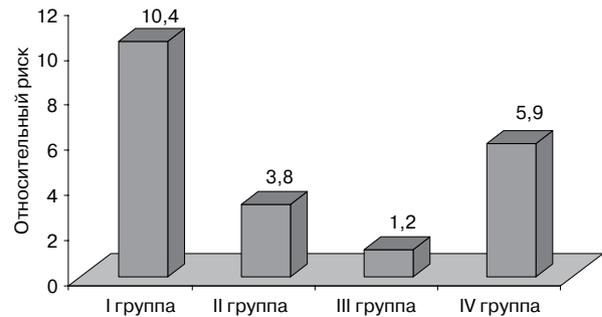
Анализ вариантов вагинальных инфекций, с которыми чаще ассоциируется колонизация эндометрия УПМ, показал, что во всех группах этот процесс связан преимущественно с М, БВ и АВ.

Обсуждение результатов

Данные о частоте выявления различных возбудителей из очага инфекции при ХЭ противоречивы. В литературе дискутируется вопрос о роли УПМ и абсолютных патогенов в генезе ХЭ. В настоящее время существуют две диаметрально противоположные точки зрения на роль УПМ при ХЭ. Согласно традиционной точке зрения, пусковым механизмом в развитии воспалительного процесса в эндометрии являются УПМ, что подтверждается их выделением из эндометрия при гистологически подтвержденном ХЭ и их отсутствием у пациенток без морфологических признаков ХЭ [12, 13]. Другие исследователи утверждают, что присутствие УПМ в полости матки не всегда свидетельствует об их этиологической роли. Они считают, что полость матки в норме стерильна, а микробное проникновение в матку происходит при восходящем заражении ИППП, хирургических вмешательствах, БВ, вагинитах, использовании внутриматочных контрацептивов [4, 14, 15].

Однако существует и другая точка зрения [16], согласно которой слизистая оболочка матки не может быть стерильна, так как непрерывно подвергается риску восходящего инфицирования из нижних отделов гениталий, особенно при половом контакте, когда сперматозоиды, колонизированные УПМ, проникают через слизистую пробку цервикального канала в матку. Эту точку зрения подтверждает E.S. Pelzer с соавт. [17], которые исследовали микробиомный биоптат эндометрия, полученного во время лапароскопии у женщин с меноррагиями и дисменореей. В работе показано, что в 50% образцов присутствовали *Lactobacillus* spp., а у нерожавших женщин наиболее распространенными среди УПМ были представители родов *Prevotella*, *Fusobacterium* и *Jonquetella*.

Нет единого мнения и об этиологической роли генитальных микоплазм и абсолютных патогенов при ХЭ [18, 19]. В результате циклического отторжения эпителия слизистой матки во время менструации осуществляется физиологическая защита эндометрия от микроорганизмов, однако этого не всегда достаточно для защиты от патогенов [14].



Относительный риск колонизации эндометрия УПМ при инфекционной патологии влагалища в сравнении с нормоценозом

Воспаление часто прогрессирует именно на фоне циклических перестроек эндометрия. Отторжение функционального слоя приводит к инфицированию базального слоя и ткани миометрия. Известно, что пролиферативная фаза менструального цикла, особенно с 1-го по 7-й день, является фактором риска восходящей инфекции [15, 20].

Наше исследование посвящено уточнению роли УПМ в этиологии ХЭ. В ряде работ [2, 21, 22] сообщается, что патологический характер микрофлоры нижних отделов гениталий может способствовать инфицированию слизистой оболочки матки. Проведенный нами анализ показал, что в группе женщин с ХЭ нарушение вагинального микроценоза наблюдалось в 1,6 раза чаще по сравнению с контрольной группой. Наиболее заметное увеличение частоты инфицирования эндометрия было при БВ, М и АВ, которые в 1,8 раза чаще встречались при ХЭ. Таким образом, у пациенток с верифицированным диагнозом ХЭ чаще, чем в других группах, диагностировали вагинальные инфекции, ассоциированные с УПМ. Наши результаты согласуются с данными зарубежной литературы [2, 3, 13, 14].

В группе условно здоровых женщин оказался неожиданно низкий процент стерильных образцов эндометрия (5,3%), а УПМ почти всегда (в 94,4% случаев) выделяли в ассоциации с лактобациллами и только в низком титре. Высокая частота колонизации эндометрия лактобациллами в сочетании с низким титром УПМ у этих женщин может быть результатом контаминации образцов эндометрия в процессе трансцервикального извлечения эндометрия. Это предположение не лишено оснований, поскольку на протяжении исследования сбор образцов эндометрия осуществляли восемь специалистов, что в значительной степени увеличивало вероятность нарушения протокола, требующего

соблюдения правил деконтаминации влагалища и цервикального канала. Это предположение подтверждает проведенное нами ранее исследование [23], в котором при выполнении одним врачом манипуляций, связанных с получением образцов эндометрия, в группе условно здоровых женщин в 42,9% случаев образцы были стерильны, в 57,1% обнаружен рост только лактобацилл и бифидобактерий, а рост УПМ не выявлен. С другой стороны, накопление сведений о нестерильности верхних отделов гениталий у здоровых женщин также подтверждает возможность присутствия микрофлоры в эндометрии. Что касается ХЭ, то, напротив, неожиданным оказался относительно высокий процент стерильных образцов эндометрия (21,1%). В 43,3% положительных посевов выделены только представители нормофлоры. Можно полагать, что у части пациенток возбудителем ХЭ могли быть патогены, не включенные в наше исследование, но с которыми связывают развитие хронического воспаления в эндометрии, среди них: генитальные микоплазмы — *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, абсолютные патогены — *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *M. genitalium*, вирусы и другие. Этот тезис подтверждает исследование Е. Cicinelli и соавт. [5], в котором при обследовании 190 женщин с гистологически подтвержденным диагнозом ХЭ из эндометрия в 68,3% случаев выделены микроорганизмы, в том числе *M. hominis* и *U. urealyticum* — у 25,3% пациенток и *C. trachomatis* — у 12,7%.

По нашим данным, высеваемость УПМ из эндометрия при ХЭ составила 56,7%, причем в 16,7% случаев выделены только УПМ. Заметное место среди них занимали стрептококки (23,7%), *G. vaginalis* (15,8%), энтеробактерии и *E. faecalis* (по 13%). От 80 до 100% указанных УПМ колонизировали эндометрий с высокой степенью обсемененности, что дает основание считать их этиологическими агентами. Однако присутствие УПМ в относительно низких титрах в условиях хронизации заболевания, при учете, что обследование проводилось в стадии ремиссии, может свидетельствовать о персистенции этих микроорганизмов. Подтверждением тому может быть выделение в низких титрах актиноциетов из эндометрия при отсутствии их во влагалище.

При НХЭ частота стерильных образцов эндометрия составила 10,9%. Доля УПМ в положительных посевах составила 45,1%. Так же, как при ХЭ, ведущими были факультативные анаэробы: стрептококки (15,2%), энтеробактерии (9,8%), *E. faecalis* (6,5%), дрожжевые грибы (3,3%). С меньшей частотой

выделяли *G. vaginalis* (9,8%) и строгие анаэробы (7,7%). Однако в этой группе высокая степень обсемененности эндометрия УПМ отмечена у 39,6% изолятов, что почти в 2 раза реже, чем при ХЭ.

Аналогичные данные получены другими авторами. Так, Е. Cicinelli с соавт. [24] обнаружили стрептококки у 26,0% женщин, в том числе *S. agalactiae* у 14,0%; *E. faecalis* и *E. coli* высевали суммарно в 31,0% случаев. W. Andrews и соавт. [2] установили взаимосвязь между БВ и частотой колонизации эндометрия БВ-ассоциированными микроорганизмами. В последнее время появились сообщения о формировании структурированных биопленок на клетках эндометрия бактериями, вызывающими БВ. Так, А. Swidsinski и соавт. [22] исследовали образцы эндометрия и фаллопиевых труб после гистерэктомии и показали, что у женщин с признаками БВ риск образования биопленки *G. vaginalis* на поверхности эндометрия и фаллопиевых труб составил 50,0%. Авторы полагают, что наличие «хранилища» УПМ в конфигурации биопленки на эндометрии в непосредственной близости от миометрия может быть ключевым звеном в патогенезе эндометрита. Таким образом, можно полагать, что *G. vaginalis*, выделенная нами в большинстве случаев в высоком титре (83,3% изолятов при ХЭ и 55,6% при НХЭ), занимает важную нишу в этиологической структуре этих форм эндометрита.

Сравнение частоты выявления УПМ в эндометрии у женщин с вагинальными инфекциями и у женщин с Н среди наблюдаемых женщин показало, что риск колонизации эндометрия при нарушении микроэкологии влагалища в 3,5 раза выше, чем у пациенток с нормоценозом ($p < 0,01$, ОР=3,5; ДИ 95%: 1,63–8,11). При этом максимальный относительный риск восходящей инфекции (10,4) отмечен в группе женщин с ХЭ.

Таким образом, установлена вероятная взаимосвязь между нарушением вагинальной микроэкологии и колонизацией биоптата эндометрия УПМ. В большинстве случаев инфицирование эндометрия отмечено на фоне вагинальных инфекций, которые являются реальным фактором риска восходящей инфекции.

Работа выполнена в соответствии с Соглашением № 14.607.21.0019 от 05.06.2014 г. о предоставлении субсидии Минобрнауки России на выполнение научного исследования по теме «Разработка молекулярно-генетических тест-систем для оценки патогенности и резистентности возбудителей нозокомиальных и оппортунистических инфекций у матери и новорожденного».

Литература

1. Шуршалина А.В. Роль хронического эндометрита в развитии патологии репродуктивной функции. Рос мед журн 2007; 4:25-7.
2. Andrews W.W., Hauth J.C., Cliver S.P., et al. Association of asymptomatic bacterial vaginosis with endometrial microbial colonization and plasma cell endometritis in nonpregnant women. Am J Obstet Gynecol 2006; 195:1611-16.
3. Andrews W.W., Goldenberg R.L., Hauth J.C., Cliver S.P., Copper R., Conner M. Interconceptional antibiotics to prevent spontaneous preterm birth: a randomized clinical trial. Am J Obstet Gynecol 2006; 194(3):617-23.
4. Haggerty C.L., Hillier S.L., Bass D.C., Ness R.B. Bacterial vaginosis and anaerobic bacteria are associated with endometritis. Clin Infect Dis 2004; 39:990-95.
5. Cicinelli E., Matteo M., Tinelli R., et al. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy. Hum Reprod 2015; 30(2):323-30.
6. Johnston-MacAnanny E.B., Hartnett J., Engmann L.L., Nulsen J.C., Sanders M.M., Benadiva C.A. Chronic endometritis is a frequent finding in women with recurrent implantation failure after *in vitro* fertilization. Fertil Steril 2010; 93:437-41.
7. McQueen D., Bernardi L.A., Stephenson M.D. Chronic endometritis in women with recurrent early pregnancy loss and/or fetal demise. Fertil Steril 2014; 101:1026-30.
8. Polisseni F., Bambirra E.A., Camargos A.F. Detection of chronic endometritis by diagnostic hysteroscopy in asymptomatic infertile patients. Gynecol Obstet Invest 2003; 55:205-10.
9. Ju J., Li L., Xie J., Wu Y., Wu X., Li W. Toll-like receptor-4 pathway is required for the pathogenesis of human chronic endometritis. Exp Ther Med 2014; 8:1896-900.
10. Matteo M., Cicinelli E., Greco P., et al. Abnormal pattern of lymphocyte subpopulations in the endometrium of infertile women with chronic endometritis. Am J Reprod Immunol 2009; 61:322-9.
11. Анкирская А.С., Муравьева В.В. Интегральная оценка состояния микробиоты влагалища. Диагностика оппортунистических вагинитов (медицинская технология), М., 2011; 14 с.
12. Cicinelli E., De Ziegler D., Nicoletti R., et al. Chronic endometritis: correlation among hysteroscopic, histologic, and bacteriologic findings in a prospective trial with 2190 consecutive office hysteroscopies. Fertil Steril 2008; 89:677-84.
13. Ness R.B., Soper D.E., Holley R.L., et al. Effectiveness of inpatient and outpatient treatment strategies for women with pelvic inflammatory disease: results from the Pelvic Inflammatory Disease Evaluation and Clinical Health (PEACH) randomized trial. Am J Obstet Gynecol 2002; 186:929-37.
14. Korn A.P., Nessel N., Padian N. Commonly used diagnostic criteria for pelvic inflammatory disease have poor sensitivity for plasma cell endometritis. Sex Transm Dis 1995; 22:335-41.
15. Ansbacher R., Boyson W.A., Morris J.A. Sterility of the uterine cavity. Am J Obstet Gynecol 1967; 99:394-6.
16. Espinoza J., Erez O., Romero R. Preconceptional antibiotic treatment to prevent preterm birth in women with a previous preterm delivery. Am J Obstet Gynecol 2006; 194:630-37.
17. Pelzer E.S., Huygens F.A. Role for the endometrial microbiome in dysfunctional menstrual bleeding. <http://esa-srb-2013.m.asnevents.com.au/schedule/abstract/7389>.
18. Зайнетдинова Л.Ф. Клинико-иммунологическое обоснование локального применения индуктора эндогенного интерферона альфа-полудана в комплексной терапии хронического эндометрита: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Челябинск, 1999; 27 с.
19. Cravello L., Porcu G., D'Ercole C., et al. Identification and treatment of endometritis. Contracept Fertil Sex 1997; 25:585-6.
20. Ekchert L.O., Hawes S.E. Endometritis: the clinical-pathologic syndrome. Am J Obstet Gynecol 2002; 186:690-5.
21. Simhan H.N., Caritis S.N., Krohn M.A., Hillier S.L. Elevated vaginal pH and neutrophils are associated strongly with early spontaneous preterm birth. Am J Obstet Gynecol 2003; 189:1150-4.
22. Swidsinski A., Verstraelen H., Loening-Baucke V., et al. Presence of a polymicrobial endometrial biofilm in patients with bacterial vaginosis. PLoS One 2013; 8(1):e53997.
23. Гомболевская Н.А., Муравьева В.В., Марченко Л.А., Анкирская А.С. Современные возможности этиологической диагностики хронического эндометрита. Акушерство и гинекология 2012; 8(1):40-5.
24. Cicinelli E., Ballini A., Marinaccio M., et al. Microbiological findings in endometrial specimen: our experience. Arch Gynecol Obstet 2012; 285(5):1325-9.