

МИКРОБИОМ ЧЕЛОВЕКА

А. В. Чаплин¹✉, Д. В. Ребриков^{2,3}, М. Н. Болдырева⁴

¹Кафедра микробиологии и вирусологии, педиатрический факультет, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

²НИИ трансляционной медицины, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

³Лаборатория клеточных технологий, Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова, Москва

⁴Отдел научных разработок, ООО «НПФ ДНК-Технология», Москва

Симбиотическая микрофлора играет огромную роль в обеспечении здорового состояния нашего организма. Она защищает от патогенов, поддерживает иммунитет, обеспечивает производство важных компонентов питания. Микробиота человека включает, по всей видимости, несколько тысяч видов грибов, эубактерий, архей и вирусов. Суммарное количество клеток только эубактерий в составе микробиоты превышает десять триллионов, что в сто раз больше числа собственных клеток организма человека. С появлением методов высокопроизводительного секвенирования исследователи получили возможность очень точной и комплексной оценки всего микробного сообщества с глубиной до тысячных долей процента (по содержанию микроба). Это позволило выйти на новый уровень понимания взаимосвязи здоровья человека и состояния его микробиома. В данном обзоре представлено современное состояние исследования ключевых микробных биоценозов человека — пищеварительного и урогенитального трактов. Менее изученные биоценозы носа и носоглотки, слухового канала, глаз, кожи и ряд других в обзор не вошли.

Ключевые слова: микробный биоценоз, микрофлора кишечника, урогенитальный, пародонтальный, метагеном, высокопроизводительное секвенирование

✉ **Для корреспонденции:** Чаплин Андрей Викторович
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997; okolomedik@gmail.com

Статья получена: 16.04.2017 **Статья принята к печати:** 22.04.2017

THE HUMAN MICROBIOME

Chaplin AV¹✉, Rebrikov DV^{2,3}, Boldyreva MN⁴

¹Department of Microbiology and Virology, Pediatric Faculty, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

²Institute of Translational Medicine, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

³Laboratory for Cell Technologies, Kulakov Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia

⁴Research and Development Department, DNA-Technology LLC, Moscow, Russia

The symbiotic relationship with the microbial flora inhabiting our bodies plays an immense role in maintaining our vitality. The microbiota protects us from pathogens, hardwires our immunity, and engages in the production of essential micronutrient components. The human microbiota encompasses several thousands of fungi, eubacteria, archaea and viruses, with eubacterial cells alone totaling over 10 trillion and outnumbering our body cells 100 to 1. Next generation sequencing has allowed researchers to comprehensively assess the diversity of microbial species in the human microbiota and to estimate their proportions with stunning accuracy. This has led to a breakthrough in our understanding of associations between human health and the microbiota. This review focuses on the current state of research on key microbial communities inhabiting the human body: those of the gastrointestinal and genitourinary systems. Less studied microbial communities colonizing the nose, nasopharynx, auditory canal, eye, and skin, as well as some others, are not included in the review.

Keywords: microbial community, gut flora, genitourinary, periodontal, metagenome, next generation sequencing

✉ **Correspondence should be addressed:** Andrey Chaplin
ul. Ostrovityanova 1, Moscow, Russia, 117997; okolomedik@gmail.com

Received: 16.04.2017 **Accepted:** 22.04.2017

Микробиом кишечника

Микробиом кишечника человека является одним из наиболее активно исследуемых микробных сообществ. Это связано с невероятной сложностью его состава и изобилием его взаимодействий с организмом человека. Все чаще формулируются гипотезы о вовлеченности кишечной

микробиоты в патогенез различных заболеваний, чему с каждым годом появляется все больше подтверждений.

Формирование микробиома кишечного тракта человека — многоэтапный процесс. Становление микробиоты начинается еще *in utero* за счет бактерий, проникающих из кишечника, ротовой полости и вагинальной микробиоты матери [1]. Затем ребенок получает микроорганизмы

при прохождении через родовые пути [1], а также с грудным молоком, которое нестерильно и содержит значительные концентрации бактерий родов *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Propionibacterium* и *Bifidobacterium* [2]. Вскоре после рождения формируется типичный детский тип микробиоты кишечника, характеризующийся высокими концентрациями представителей рода *Bifidobacterium* [3], что в значительной степени определяется содержащимся в человеческом молоке набором олигосахаридов. К двум годам относительная численность *Bifidobacterium* постепенно снижается и складывается окончательный вариант кишечной микробиоты [3]. У детей, рожденных с помощью кесарева сечения, в течение первых месяцев жизни наблюдаются отличия в представленности отдельных групп бактерий в составе микробиоты, что может быть связано с отсутствием контакта с вагинальной микробиотой, приемом антибиотиков матерью и более поздним прикладыванием к груди [3, 4].

В состав микробиома кишечника взрослых людей могут входить представители более 600 различных родов [5]. Около 90 % всей микробиоты суммарно составляют бактерии типов *Firmicutes* и *Bacteroidetes*, преимущественно представленные труднокультивируемыми облигатными анаэробами. В европейской популяции наиболее часто встречающимися и многочисленными представителями *Firmicutes* являются *Faecalibacterium prausnitzii* и бактерии родов *Blautia*, *Dorea*, *Roseburia* и *Coprococcus*, к основным представителям кишечных *Bacteroidetes* относятся бактерии родов *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Prevotella*, *Odoribacter*, *Barnesiella* и *Alistipes* [5, 6]. Единичные проценты в кишечной микробиоте взрослых людей составляют бактерии типов *Actinobacteria* и *Proteobacteria* [5, 7], еще меньшую часть — *Fusobacteria*, *Verrucomicrobia*, а также метаногенные археи типа *Euryarchaeota* [5, 8].

Концентрации отдельных представителей в кишечной микробиоте не являются независимыми друг от друга — они связаны сложной сетью симбиотических и антагонистических взаимодействий. В результате пространство всех возможных составов микробиоценоза кишечника не заполнено равномерно — можно выделить устойчивые комбинации соотношений микроорганизмов (энтеротипы), которые встречаются чаще, чем переходные формы между этими комбинациями. Исследователи выделяют три основных энтеротипа, характеризующиеся высокими концентрациями *Bacteroides*, *Prevotella* и *Ruminococcaceae* соответственно [5, 9]. Однако такое деление не описывает все разнообразие качественных и количественных характеристик кишечного микробиоценоза. Было показано влияние на состав микробиоты таких факторов, как потребляемая пища, курение, возраст, индекс массы тела, концентрации гемоглобина и эритроцитов в крови, прием антибиотиков [5]. Выраженными также являются межпопуляционные различия, предположительно, связанные с характером питания [7, 8]. Таким образом, несмотря на активное использование в литературе термина «дисбиоз» как звена патогенеза различных заболеваний, понятие «нормального» состава микробиоты кишечника человека до сих пор однозначно не определено.

Микробиом кишечника человека производит множество различных веществ, способных проникать в кровоток и оказывать действие на отдаленные органы и системы. Микробиом даже называют «виртуальным эндокринным органом» [10, 11]. Например, бактерии кишечной микробиоты способны секретировать в кровь такие сигнальные вещества, как серотонин, гамма-аминомасляная кислота,

гистамин, ацетилхолин, дофамин и норадреналин [11]. Важную роль в регуляции активности иммунной системы играют синтезируемые микроорганизмами лиганды рецепторов врожденного и адаптивного иммунитета: флагеллин, формилметионинсодержащие пептиды, липополисахарид, а также капсульные полисахариды, такие как полисахарид А *Bacteroides fragilis* [12].

Значительное внимание привлекают короткоцепочечные жирные кислоты — конечные продукты катаболизма углеводов, осуществляемого микроорганизмами в анаэробных условиях кишечника. Основными представителями данной группы веществ являются уксусная, пропионовая и масляная кислоты, производимые в молярном соотношении около 3 : 1 : 1 [11, 13]. Они быстро и эффективно всасываются в кишечнике, теряя с испражнениями лишь 5–10 % [13].

Короткоцепочечные жирные кислоты осуществляют биологическую активность через множество механизмов. Во-первых, они могут использоваться клетками человека в качестве источников энергии в процессе окислительного фосфорилирования. В частности, масляная кислота может обеспечивать 60–70 % энергетических потребностей колоноцитов [13]. Во-вторых, короткоцепочечные жирные кислоты осуществляют ингибирование деацетилаз гистонов, что оказывает противовоспалительный эффект: в результате их действия снижается уровень транскрипции, осуществляемой с помощью факторов семейства NF- κ B, уменьшается уровень производимого фактора некроза опухоли- α и происходит индукция созревания FoxP3⁺ T_{reg}-клеток [12]. В-третьих, данные вещества являются специфичными лигандами ряда ассоциированных с G-белками рецепторов — GPR41, GPR43 и GPR109A [12, 13]. Через эти рецепторы осуществляется регуляция созревания и функционирования микроглии, дендритных клеток и T_{reg}-клеток [12].

Действие короткоцепочечных жирных кислот не ограничивается влиянием на функционирование иммунной системы. Так, они вызывают пролиферацию интестинальных бокаловидных клеток и увеличивают продукцию муцина [12]. Являясь субстратами для глюконеогенеза и липогенеза, они участвуют в регуляции углеводного и липидного метаболизма в клетках печени [13]. Отмечена способность короткоцепочечных жирных кислот снижать аппетит, стимулируя секрецию лептина адипоцитами, а также вызывая продукцию пептида YY и глюкагоноподобного пептида-1 L-клетками гастроэнтеропанкреатической эндокринной системы [13]. Вне всякого сомнения, воздействие на организм через короткоцепочечные жирные кислоты является одной из важнейших функций кишечного микробиома.

Еще одной важной ролью микробиоты кишечника является формирование колонизационной резистентности, предотвращающей заселение кишечника патогенными микроорганизмами, например, за счет конкуренции за питательные вещества [14]. Определенную роль могут играть и производимые микроорганизмами специфические антимикробные белки и пептиды — бактериоцины [15]. Антимикробным действием обладают вторичные желчные кислоты, образующиеся в результате дегидроксилирования первичных желчных кислот различными представителями нормальной микробиоты, такими как *Clostridium scindens* [16].

Среди всех заболеваний человека наиболее отчетливо связана с нарушением состава микробиома кишечника *Clostridium difficile*-ассоциированная болезнь. Клиническая картина данного заболевания может варьировать от

легкой диареи до синдрома системной воспалительной реакции со смертельным исходом [17]. *Clostridium difficile* часто присутствует в составе нормальной микробиоты, но запуск активного размножения патогена, продукция токсинов, гликозилирующих ГТФазы Rho, и последующая манифестация клинической симптоматики провоцируется нарушением колонизационной резистентности, вызванной приемом антибиотиков широкого спектра действия [16,17]. Есть свидетельства, что употребляемые перорально живые пробиотические штаммы микроорганизмов могут быть эффективны для профилактики *Clostridium difficile*-ассоциированной болезни у детей и взрослых [18]. Одним из наиболее перспективных подходов лечения данного заболевания на сегодняшний день является метод фекальной микробной трансплантации, при котором суспензия из микроорганизмов нормальной микробиоты от здорового донора вводится в кишечник через клизму, колоноскоп, назогастральный или назодуоденальный зонд [19]. Планируется также создание банков кишечной микробиоты, которые можно использовать для «аутологичной» фекалотрансплантации в случае необходимости (рис. 1). Данный подход лишен основного недостатка пробиотических препаратов, позволяя переносить целое микробное сообщество, содержащее в том числе труднокультивируемые микроорганизмы.

Наиболее опасным заболеванием, характерным для недоношенных детей, является некротизирующий энтероколит — остропротекающее воспалительное заболевание кишечника, которое может осложняться некрозом кишечной стенки с развитием перфорации и разлитого перитонита. Последние исследования показывают, что в основе некротизирующего энтероколита лежит аномальный ответ незрелой системы врожденного иммунитета на микробную колонизацию кишечника [21]. В частности, такой ответ может быть следствием взаимодействия гиперэкспрессирующихся Toll-like рецепторов 4 с липополисахаридом клеточной стенки грамотрицательных бактерий [21]. Многочисленные исследования показывают, что у детей до на-

чала некротизирующего энтероколита можно обнаружить измененный состав микробиоты, для которого характерно повышение относительной концентрации *Proteobacteria* и снижение концентраций *Firmicutes* и *Bacteroidetes* [22]. Есть значительные основания полагать, что прием некоторых пробиотических препаратов может снижать частоту развития тяжелых форм некротизирующего энтероколита и уменьшать смертность [21, 23].

Отдельные представители кишечной микробиоты принимают участие в патогенезе колоректального рака и часто обнаруживаются в соответствующих опухолевых тканях [24]. Так, *Fusobacterium nucleatum* может способствовать прогрессии опухоли с вовлечением различных прямых и опосредованных через воспалительную реакцию механизмов. В частности, взаимодействие адгезина FadA данных бактерий с поверхностным белком E-кадгерином запускает каскад β -катенин-зависимых онкогенных и провоспалительных сигналов [24]. Онкогенными также могут являться отдельные штаммы *Escherichia coli*, продуцирующие генотоксичные факторы патогенности, такие как низкомолекулярное вещество колибактин и белковый токсин CDT [24, 25].

Появляется все больше доказательств вовлеченности микробиоты кишечника в патогенез многих других заболеваний, например, сахарного диабета 1-го типа [26], ожирения [27] и расстройств аутистического спектра [28]. Без сомнения, в скором времени станет доступно больше информации о роли интестинального микробиома в поддержании здоровья человека.

Микробиом ротовой полости и пародонта

Полость рта — одно из наиболее густонаселенных мест человеческого организма, содержащее более 1000 разных видов эубактерий, архей, грибов и вирусов. Состояние ротовой микробиоты напрямую связано с широким спектром заболеваний человека, таких как болезни полости

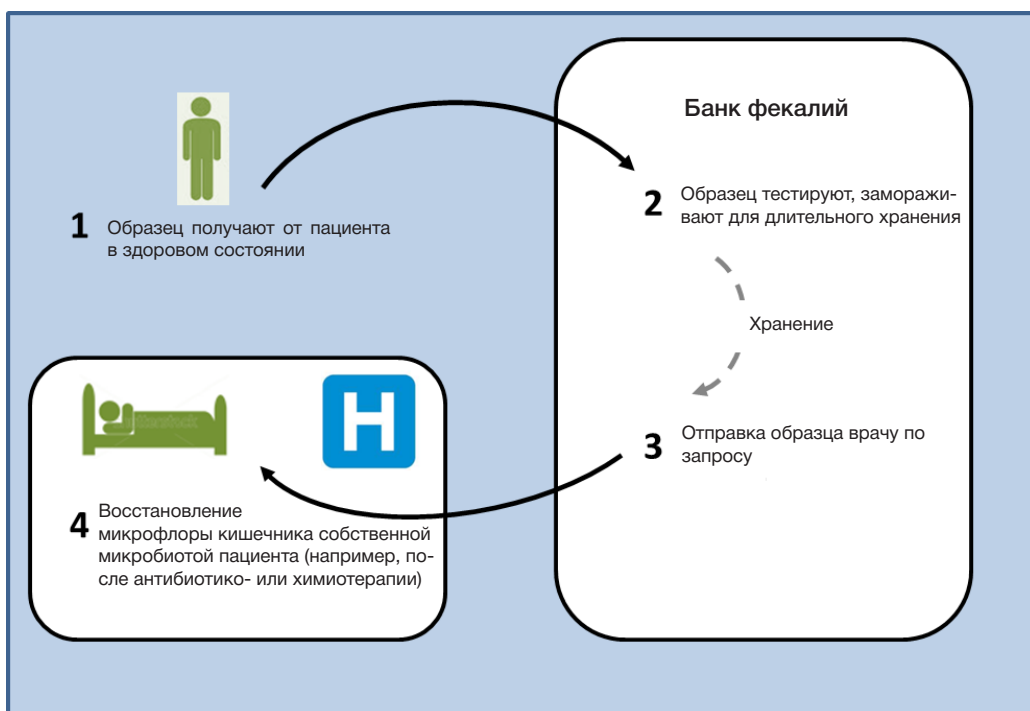


Рис. 1. Использование банка «аутологичной» нормальной микробиоты в составе фекалий (Olle, [20])

рта (кариес и заболевания пародонта), сахарный диабет, заболевания сердечно-сосудистой системы, онкологические заболевания и другие. Установлено, что влияние микробиома ротовой полости на развитие заболеваний является комплексным: решающую роль играет не наличие какого-то конкретного микроорганизма, а их сочетание.

В полости рта, как правило, исследуют несколько стандартных типов биологического материала, отражающих состояние того или иного микробного сообщества: слюна, мягкий зубной налет, поддесневой и наддесневой зубной камень, содержимое пародонтального кармана. Причем все эти биотопы, за исключением биоценоза пародонтального кармана, являются крайне нестабильными и существенно зависят от интенсивности и типа гигиены ротовой полости. Так, исследования консорциума мягкого зубного налета при помощи высокопроизводительного секвенирования дают следующую вариативность состава основных представителей: 1,0–13,5 % *Actinobacteria*, 21,4–63,5 % *Bacteroidetes*, 14,6–30,8 % *Firmicutes*, 4,7–12,1 % *Fusobacteria*, 2,6–22,9 % *Proteobacteria*, 0,04–12,9 % *Spirochaetes*, 0,0004–0,84 % *Synergistetes* [29].

Одной из наиболее устойчивых экологических ниш ротовой полости является микробиота пародонтального кармана. Она достаточно изолирована от внешней среды и практически не подвергается воздействию в ходе гигиенических процедур (рис. 2).

Множество работ указывают на взаимосвязь состава микробиоты пародонтального кармана с развитием кариеса и пародонтита [30, 31]. В ряде исследований показана связь состояния микробиоты пародонта и нижележащих отделов пищеварительной системы [32, 33]. Обнаружена взаимосвязь состава микробиоты пародонтального кармана с полом пациента. Так, гиперколонизация *Porphyromonas gingivalis* в тканях пародонта коррелирует с тяжестью хронического пародонтита у женщин, но не у мужчин. *Tannerella forsythensis* или ее комплекс в сочетании с *Treponema denticola*, напротив — единственный пародонтоген, чье преобладание статистически связано с хроническим пародонтитом у мужчин [34].

В работе Зориной и соавт. [35] проанализирована представленность видов и родов бактерий в микрофлоре пародонта пациентов с агрессивным пародонтитом и лиц со здоровым пародонтом. В исследовании выявлено 6 родов потенциальных пародонтопротекторов и 8 родов потенциальных пародонтопатогенов, имеющих отношение к риску возникновения агрессивного (но не хронического) пародонтита.



Рис. 2. Забор содержимого пародонтального кармана [фото предоставлено Н. К. Аймадиновой, ЦНИИСИЧЛХ, Москва, Россия]

донтита. Показано статистически достоверное повышение представленности родов *Porphyromonas*, *Treponema*, *Synergistes*, *Tannerella*, *Filifactor*, *Ruminococcus*, *Parvimonas*, *Mycoplasma*, из которых три (*Porphyromonas*, *Treponema* и *Tannerella*) традиционно рассматриваются как пародонтопатогены. В контрольной группе было впервые выявлено статистически достоверное доминирование рода *Veillonella*, которое может служить критерием здоровья пародонта. Роды *Streptococcus*, *Bergeyella*, *Granulicatella*, *Kingella* и *Corynebacterium* авторы предлагают рассматривать в качестве кандидатных пародонтопротекторов [35].

Микробиом репродуктивной системы

Давно известно, что в женском репродуктивном тракте микробиом может быть очень разнообразным. Наибольшее внимание исследователи уделяли влагалищному биотопу, хотя в последние десятилетия накоплены данные, свидетельствующие, что остальная часть женской репродуктивной системы также не является стерильной, включая и полость матки [36]. Возникает понимание того, что микробиом простирается выше полости эндометрия. В некоторых исследованиях бактерии были обнаружены в фаллопиевых трубах женщин без очевидной трубной патологии.

Изучение связи микробиома репродуктивной системы с эффективностью зачатия и развитием беременности только начинается. Установлена связь между клинически выраженной инфекцией, воспалением и нарушением репродуктивной функции. Воспаление включает секрецию ряда провоспалительных цитокинов и факторов роста, секретируемых иммунными клетками, которые активируются в ответ на присутствие инфекционных патогенов. Даже небольшие изменения в микробиоме вызывают изменения в окружающих тканях, которые обычно клинически не очевидны, но могут быть клинически значимы [37].

В нормальном микробиоме влагалища обычно доминируют лактобациллы [38], действующие как пробиотики и ингибирующие размножение других видов бактерий. Считается, что наиболее благоприятными являются виды *Lactobacilli*, способные продуцировать высокие уровни H_2O_2 . Этот факт позволяет понять, что прямое взаимодействие микроорганизмов с окружающими тканями возможно, но не является обязательным, и что основная функция одних компонентов микробиома может состоять в изменении или ограничении каких-либо других его компонентов.

Микробиом репродуктивной системы — это не просто скопление свободно плавающих бактерий. Во многих случаях формируются сложные трехмерные решетки, которые могут быть многослойными, могут образовывать защитное внешнее покрытие, состоящее из полисахарида, нуклеиновой кислоты и белка. Иногда эти биопленки препятствуют обнаружению микроорганизмов иммунной системой и снижают эффективность антимикробного лечения [39].

Биопленки обычно присутствуют во влагалище, но также могут распространяться в полость эндометрия [39] и даже выше, в фаллопиевы трубы. Хотя никаких окончательных выводов относительно роли биопленок в развитии репродуктивных нарушений не сделано, важно понять, что взаимосвязь между микробиомом и системой репродукции может быть более сложной, чем простое присутствие или отсутствие различных видов бактерий или даже их относительное количество.

Микробиом может влиять на гаметогенез. Было обнаружено, что некоторые бактерии могут неблагоприятно влиять на развитие фолликулов и даже подавлять реакцию на гонадотропин [36]. Аналогичным образом некоторые бактерии оказывают неблагоприятное воздействие на мужскую репродуктивную систему, причем незначительные изменения в микробиоме могут влиять на параметры спермы. К настоящему времени показано, что микробиом мужской репродуктивной системы является более сложным, чем считалось ранее. По мере того как увеличивается объем знаний о микробиоме женской и мужской репродуктивных систем, появляются новые возможности целенаправленного терапевтического воздействия.

Вагинальный микробиом

Исследование физиологического состояния микробиома влагалища было выполнено в рамках проекта «Микробиом человека» [38]. На примере 113 здоровых женщин-добровольцев была дана микробная характеристика трех биотопов влагалища: входа во влагалище, средней части и заднего свода. Образцы подвергали анализу гена 16S рРНК посредством пиросеквенирования. Исследование позволило охарактеризовать альфа-разнообразие (у одного и того же человека) и бета-разнообразие (между разными людьми) микроорганизмов влагалища и дало неожиданные результаты. Было установлено, что репродуктивный тракт характеризуется самым низким альфа- и очень низким бета-разнообразием микроорганизмов по филотипам бактерий по сравнению с другими участками тела, такими как, например, рот или кожа [38]. Кроме того, вариации между видами бактерий в образцах, взятых из разных отделов влагалища, были невелики, а виды *Lactobacillus* доминировали. В динамике различия между образцами от одного человека были меньше, чем между разными людьми, что указывает на высокую стабильность микробиома во времени. Тот факт, что вагинальные микробные сообщества у здоровых женщин относительно просты по сравнению с другими участками тела, означает, что характеристика состояния здоровья и болезни может быть связана с четко определенными сдвигами в микробиоме [39].

В отличие от проекта «Микробиом человека», в котором принимали участие здоровые женщины, в других исследованиях изучали связь между вагинальным микробиомом и женским бесплодием. В одной из таких работ проспективно культуральным методом были проанализированы 152 пациентки, которым провели экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) [40]. У 133 (87,5 %) женщин получили культуры одного или нескольких микроорганизмов, у 19 (12,5 %) — культуры получены не были. Наиболее часто выявляли *Lactobacillus spp.*, *Staphylococcus spp.* и *Enterobacteriaceae*, включая *E. coli*, *Klebsiella* и *Proteus*. В результате успешная частота имплантации составила 12,4 % у пациенток с одной или несколькими бактериальными культурами против 14 % у женщин с полностью отрицательной культурой ($p < 0,001$). Кроме того, у пациенток с положительной культурой *Enterobacteriaceae* и *Staphylococcus* отмечены более низкие показатели наступления беременности, чем в группе с отрицательной культурой. Хотя это исследование дает некоторое представление о микробиоме в ходе лечения ЭКО, в нем подчеркиваются ограничения, связанные с культуральными исследованиями для оценки микробиома. Тот факт, что 12,5 % пациенток были полностью отрицательны по бак-

териальной контаминации, свидетельствует, что в методе, основанном на выделении культуры, существенно недооценивается наличие и разнообразие микробиома во время переноса эмбрионов при вспомогательных репродуктивных технологиях.

Исследование с использованием технологии секвенирования 16S рНК позволило получить данные о вагинальном микробиоме у бесплодной пациентки, подвергшейся ЭКО [40]. В итоге было показано, что меньшее разнообразие бактерий связано с более высокой вероятностью рождения живого ребенка. В настоящее время предложены эффективные молекулярно-биологические методы исследования [41] и получены объективные данные о различных характеристиках вагинального микробиома при разных клинических состояниях [42, 43], однако исследования влагалищного микробиома продолжаются.

Микробиом матки

До недавнего времени полагали, что колонизация верхних отделов половых путей микробами обусловлена исключительно патологическим восхождением микроорганизмов из влагалища через канал шейки матки. Из-за барьерного эффекта цервикальной слизи с высокой концентрацией провоспалительных цитокинов, иммуноглобулинов и наличием антимикробных пептидов полость матки у здоровых женщин считали стерильной [44–48]. Однако в репродуктивном тракте существует восходящий транспорт. Действительно, когда 1–2 мл радиоактивно меченых макроагрегатов человеческого сывороточного альбумина размером со сперматозоиды человека помещали в задний вагинальный свод, в матке их обнаруживали уже через 2 мин [49].

Более ранние исследования микробиома матки выполнялись с использованием культуральной технологии, поэтому они были подвержены ограничениям, описанным выше в разделе «Вагинальный микробиом». В недавнем исследовании у 58 женщин, подвергшихся гистерэктомии, методом количественной ПЦР оценивали 12 конкретных видов бактерий [50]. Перед гистерэктомией проводили отбор вагинальных проб, после гистерэктомии выполняли отбор проб из полости матки. Колонизация верхних отделов половых путей по крайней мере одним видом бактерий была подтверждена в 95 % случаев. Наиболее часто выявляли *Lactobacillus* и *Prevotella*. Следует отметить, что среднее количество бактерий в верхних отделах половых путей было ниже, чем влагалищных, на $2-4 \log_{10}$ рНК-копий генов на мазок. Эти данные свидетельствуют о том, что либо шейка матки действует как частичный фильтр для восходящих микроорганизмов, либо иммунная система уменьшает восходящую бактериальную нагрузку, либо имеется сочетание этих двух механизмов.

Микробиом фолликулов яичника

Человеческие фолликулярные жидкости широко культивируются и, как установлено, у многих пациентов имеют микробиом. Хотя некоторые образцы были собраны из фолликулярного аспирата, полученного во время трансвагинального извлечения ооцита, другие были собраны лапароскопически [51–54]. Неясно, представляют ли полученные культуры бактерий истинную колонизацию или являются загрязнением фолликулярной жидкости яичника во время пункции при трансвагинальной аспирации ооцитов [52, 54]. Некоторые авторы полагают, что

микроорганизмы можно считать колонизирующими или загрязняющими на основании сравнения состава бактерий, присутствующих в образце, с составом бактерий, обнаруженных на поверхности пункционной иглы [54, 55], и если в фолликуле найдены уникальные виды, то их следует считать колонизирующими. Такое определение, однако, не учитывает случаи, когда потенциальный патоген поднимается из влагалища в верхние половые пути и также реализует истинную колонизацию. В фолликулярной жидкости были обнаружены микроорганизмы, являющиеся представителями нормальной флоры влагалища (*Lactobacillus spp.*), желудочно-кишечного тракта (*Bifidobacterium spp.*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus agalactiae*), кожи (*Staphylococcus spp.*) и слизистой оболочки полости рта (*Streptococcus spp.*), что подтверждает идею о том, что фолликулярная жидкость не всегда загрязнена в процессе извлечения ооцита, а может быть колонизирована независимо [56]. Исследования, одновременно оценивающие микробиом влагалища, эндоцервикса, эндометрия, фаллопиевых труб, фолликулярной жидкости и перитонеальной полости, отсутствуют.

Микробиом репродуктивного тракта у мужчин

Информация о составе нормальной уретральной флоры у мужчин очень ограничена и получена на маленьких выборках. Так, в группе из 33 мужчин без уретрита культивационными методами были выявлены *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium spp.*, *Lactobacilli*, *Haemophilus vaginalis*, *alpha-hemolytic streptococci* [57]. В 9 образцах первой порции мочи мужчин без клиники уретрита и с отсутствием инфекций, передаваемых половым путем, методом секвенирования 16S рРНК самыми частыми были определены *Corynebacterium*, *Lactobacilli* и *Streptococci* [58]. В образцах из венечной борозды у необрезанных мужчин, партнеров женщин без бактериального вагиноза, некультивационными методами были выявлены *Corynebacterium*, *Lactobacillus* и *Staphylococcus* [59]. Таким образом, в отличие от женщин репродуктивного возраста, у которых доминирующей группой бактерий в норме являются представители рода *Lactobacillus* [60], у мужчин в уретральном биотопе в норме нет какого-либо одного доминирующего микроорганизма, а бактериальные сообщества нормального микробиома являются сложными [58].

Исследования по оценке микробиома семенной жидкости до настоящего времени проводили в основном с использованием традиционной культуральной технологии. Были выявлены связи между острым, хроническим простатитом и различными инфекциями, включая гонорею и хламидиоз. Совсем недавно для характеристики семенных микробиомов и классического анализа спермы у мужчин в качестве инструмента начали использовать метагеномику. Ноу и соавт. оценили 77 образцов, полученных от 58 бесплодных пациентов и 19 здоровых доноров спермы [61]. Результаты показали, что параметры спермы от различных пациентов, сгруппированных в шесть групп на основе сходства состава микробиома и разнообразия таксонов, были эквивалентны. Таким образом, проведенное группирование не было связано с характеристиками спермы. Дальнейшая оценка отдельных таксонов показала, что только *Anaerococcus* был значительно связан с измененными параметрами спермы. Недавно Weng и соавт. выполнили похожее исследование на 96 образцах [62], у 60 из которых была одна или несколько аномалий в параметрах спермы, оцененных классическим анализом. Остальные 36 образцов имели нормальные характеристики и служили в этом исследовании контрольной группой. Доминирующими таксонами среди выявленных групп микроорганизмов были *Pseudomonas*, *Lactobacillus* или *Prevotella*. Наиболее интересной оказалась выраженная связь между этими группами и клиническими характеристиками сперматозоидов в этих группах. В группе, где доминировала *Lactobacillus*, была очень высокая пропорция нормальных сперматозоидов. Это свидетельствует о том, что, как и в женском репродуктивном тракте, некоторые виды *Lactobacillus* у мужчин могут действовать как пробиотики, обеспечивая защиту от других, более вредных бактерий.

Выполненные исследования не носят окончательного характера и вызывают больше вопросов, чем дают ответов. Они показывают связь между клиническими данными и различной микробиотой. Неизвестно, что наносит вред сперматозоидам — измененный микробиом, создающий среду, или, наоборот, различия в семенном содержимом могут создать среду, в которой живут разные типы бактерий. Тем не менее эти первые шаги критически важны, и необходимо собирать больше данных. Некоторые авторы указали, что подобные исследования продолжатся в настоящее время.

Литература

1. Stinson LF, Payne MS, Keelan JA. Planting the seed: Origins, composition, and postnatal health significance of the fetal gastrointestinal microbiota. *Crit Rev Microbiol*. 2017 May; 43 (3): 352–69.
2. Fitzstevens JL, Smith KC, Hagadorn JI, Caimano MJ, Matson AP, Brownell EA. Systematic Review of the Human Milk Microbiota. *Nutr Clin Pract*. 2016 Sep 27. pii: 0884533616670150. PubMed PMID: 27679525.
3. Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, Harris K, Quince C, Jernberg C, et al. Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by Caesarean section. *Gut*. 2014 Apr; 63 (4): 559–66.
4. Rutayisire E, Huang K, Liu Y, Tao F. The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: a systematic review. *BMC Gastroenterol*. 2016 Jul 30; 16 (1): 86.
5. Falony G, Joossens M, Vieira-Silva S, Wang J, Darzi Y, Faust K, et al. Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science*. 2016 Apr 29; 352 (6285): 560–4.
6. Kulagina EV, Efimov BA, Maximov PY, Kafarskaia LI, Chaplin AV, Shkoporov AN. Species Composition of Bacteroidales Order Bacteria in the Feces of Healthy People of Various Ages. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2012; 76 (1): 169–71.
7. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Aug 17; 107 (33): 14691–6.
8. Tyakht AV, Kostyukova ES, Popenko AS, Belenikin MS, Pavlenko AV, Larin AK, et al. Human gut microbiota community structures in urban and rural populations in Russia. *Nat Commun*. 2013; 4: 2469.
9. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011 May 12; 473 (7346): 174–80.
10. Evans JM, Morris LS, Marchesi JR. The gut microbiome: the role

- of a virtual organ in the endocrinology of the host. *J Endocrinol.* 2013 Aug 28; 218 (3): R37–47.
11. Clarke G, Stilling RM, Kennedy PJ, Stanton C, Cryan JF, Dinan TG. Minireview: Gut Microbiota: The Neglected Endocrine Organ. *Mol Endocrinol.* 2014 Aug; 28 (8): 1221–38.
 12. Rooks MG, Garrett WS. Gut microbiota, metabolites and host immunity. *Nat Rev Immunol.* 2016 May 27; 16 (6): 341–52.
 13. Canfora EE, Jocken JW, Blaak EE. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nat Rev Endocrinol.* 2015 Oct; 11 (10): 577–91.
 14. Kamada N, Kim Y-G, Sham HP, Vallance BA, Puente JL, Martens EC, et al. Regulated virulence controls the ability of a pathogen to compete with the gut microbiota. *Science.* 2012 Jun 8; 336 (6086): 1325–9.
 15. Dobson A, Cotter PD, Ross RP, Hill C. Bacteriocin production: a probiotic trait? *Appl Environ Microbiol.* 2012 Jan; 78 (1): 1–6.
 16. Buffie CG, Bucci V, Stein RR, McKenney PT, Ling L, Gobburne A, et al. Precision microbiome reconstitution restores bile acid mediated resistance to *Clostridium difficile*. *Nature.* 2015 Jan 8; 517 (7533): 205–8.
 17. Ивашкин В. Т., Шифрин О. С., Тертычный А. С., Полуэктова Е. А., Лапина Т. Л., Ляшенко О.С. и др. *Clostridium difficile*-ассоциированная болезнь. *Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол.* 2016; 25 (6): 5–17.
 18. Goldenberg JZ, Ma SS, Saxton JD, Martzen MR, Vandvik PO, Thorlund K, et al. Probiotics for the prevention of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults and children. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013 May 31; (5): CD006095.
 19. Cammarota G, Ianiro G, Gasbarrini A. Fecal Microbiota Transplantation for the Treatment of *Clostridium difficile* Infection: a Systematic Review. *J Clin Gastroenterol.* 2014 Sep; 48 (8): 693–702.
 20. Olle B. Who Will Figure Out How to Make a Business Out of Fecal Transplants? [Internet]. 2013 May 3 [cited 2017 Apr 3]; [about 7 p.]. Available from: <http://www.fiercebiotech.com/r-d/who-will-figure-out-how-to-make-a-business-out-of-fecal-transplants>
 21. Hodzic Z, Bolock AM, Good M. The Role of Mucosal Immunity in the Pathogenesis of Necrotizing Enterocolitis. *Front Pediatr.* 2017 Mar 3; 5: 40.
 22. Pammi M, Cope J, Tarr PI, Warner BB, Morrow AL, Mai V, et al. Intestinal dysbiosis in preterm infants preceding necrotizing enterocolitis: a systematic review and meta-analysis. *Microbiome.* 2017 Mar 9; 5 (1): 31.
 23. AlFaleh K, Anabrees J. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014 Apr 10; (4): CD005496.
 24. Leung A, Tsoi H, Yu J. *Fusobacterium* and *Escherichia*: models of colorectal cancer driven by microbiota and the utility of microbiota in colorectal cancer screening. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2015 May; 9 (5): 651–7.
 25. Graillot V, Dormoy I, Dupuy J, Shay JW, Huc L, Mirey G, et al. Genotoxicity of Cytolethal Distending Toxin (CDT) on Isogenic Human Colorectal Cell Lines: Potential Promoting Effects for Colorectal Carcinogenesis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2016 Mar 23; 6: 34.
 26. Needell JC, Zipris D. The Role of the Intestinal Microbiome in Type 1 Diabetes Pathogenesis. *Curr Diab Rep.* 2016 Oct; 16 (10): 89.
 27. Boulangé CL, Neves AL, Chilloux J, Nicholson JK, Dumas M-E. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Med.* 2016 Apr 20; 8 (1): 42.
 28. Ding HT, Taur Y, Walkup JT. Gut Microbiota and Autism: Key Concepts and Findings. *J Autism Dev Disord.* 2017 Feb; 47 (2): 480–9.
 29. Jünemann S, Prior K, Szczepanowski R, Harks I, Ehmke B, Goesmann A, et al. Bacterial community shift in treated periodontitis patients revealed by ion torrent 16S rRNA gene amplicon sequencing. *PLoS One.* 2012; 7 (8): e41606.
 30. Зорина О. А., Кулаков А. А., Ребриков Д. В. Количественная оценка соотношения патогенных представителей микробиоценоза полости рта в норме и при пародонтите. *Стоматология.* 2011; 90 (3): 40–2.
 31. Yanushevich OO, Ayvazova RA, Shibaeva AV, Rebrikov DV, Trubnikova EV, Kudykina YK, et al. Quantitative PCR studies of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Treponema denticola/Tanerella forsythensis* Complex as Etiological Factors of Chronic Periodontitis. *Bull Exp Biol Med.* 2016 Feb; 160 (4): 495–7.
 32. Шибаева А. В., Айвазова Р. А., Ребриков Д. В., Трубникова Е. В., Кудыкина Ю. К., Белякова А. В. и др. Применение метода ПЦР в реальном времени для изучения микробиома пародонта у пациентов с сочетанной патологией гастроудоденальной зоны и хроническим пародонтитом. *Мол. ген., микробиол. и вирусол.* 2016; 34 (1): 26–30.
 33. Петрухина Н. Б., Зорина О. А., Ших Е. В., Шибаева А. В., Шевелев А. Б. Изучение взаимосвязи состава микробиома пародонта и кишечника в норме и при патологии методами глубокого секвенирования. *Стоматология.* 2016; 95 (2): 8–13.
 34. Зорина О. А., Аймадинова Н. К., Басова А. А., Шибаева А. В., Ребриков Д. В. Гендерные различия в микробиоме пародонтального кармана у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом. *Стоматология.* 2016; 95 (3): 10–6.
 35. Зорина О. А., Петрухина Н. Б., Басова А. А., Шибаева А. В., Трубникова Е. В., Шевелев А. Б. Идентификация ключевых элементов нормальной и патогенной микрофлоры, определяющей состояние пародонта, методом NGS-секвенирования банков 16S-рДНК бактериальных консорциумов пародонта. *Стоматология.* 2014; 93 (6): 25–31.
 36. Fransiak JM, Scott RT Jr. Reproductive tract microbiome in assisted reproductive technologies. *Fertil Steril.* 2015 Dec; 104 (6): 1364–71.
 37. Болдырева М. Н., Байрамова Г. Р., Бурменская О. В. Диагностические возможности метода ПЦР в режиме реального времени для оценки биоты и локального воспаления в тканях урогенитального тракта. *Справ. зав. КДЛ.* 2015; (1): 9–17.
 38. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* 2012 Jun 13; 486 (7402): 207–14.
 39. Swidsinski A, Verstraelen H, Loening-Baucke V, Swidsinski S, Mendling W, Halwani Z. Presence of a polymicrobial endometrial biofilm in patients with bacterial vaginosis. *PLoS One.* 2013; 8 (1): e53997.
 40. Selman H, Mariani M, Barnocchi N, Mencacci A, Bistoni F, Arena S, et al. Examination of bacterial contamination at the time of embryo transfer, and its impact on the IVF/pregnancy outcome. *J Assist Reprod Genet.* 2007 Sep; 24 (9): 395–9.
 41. Шипицына Е. В., Мартикайнен З. М., Воробьева Н. Е., Ермошкина М. С., Степанова О. С., Донников А. Е. и др. Применение теста Фемофлор для оценки микробиоценоза влагалища. *Журн. акуш. и женск. бол.* 2009; 58 (3): 44–50.
 42. Болдырева М. Н., Липова Е. В., Алексеев Л. П., Витвицкая Ю. Г., Гуськова И. А. Характеристика биоты урогенитального тракта у женщин репродуктивного возраста методом ПЦР в реальном времени. *Журн. акуш. и женск. бол.* 2009; 58 (6): 36–42.
 43. Hyman RW, Herndon CN, Jiang H, Palm C, Fukushima M, Bernstein D, et al. The dynamics of the vaginal microbiome during infertility therapy with in vitro fertilization-embryo transfer. *J Assist Reprod Genet.* 2012 Feb; 29 (2): 105–15.
 44. Hein M, Petersen AC, Helmgig RB, Uldbjerg N, Reinholdt J. Immunoglobulin levels and phagocytes in the cervical mucus plug at term of pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2005 Aug; 84 (8): 734–42.
 45. Ulcova-Gallova Z. Immunological and physicochemical properties of cervical ovulatory mucus. *J Reprod Immunol.* 2010 Nov; 86 (2): 115–21.
 46. Lieberman JA, Moscicki AB, Sumerel JL, Ma Y, Scott ME. Determination of cytokine protein levels in cervical mucus samples from young women by a multiplex immunoassay method and assessment of correlates. *Clin Vaccine Immunol.* 2008 Jan; 15 (1): 49–54.
 47. Ming L, Xiaoling P, Yan L, Lili W, Qi W, Xiyong Y, et al. Purification of antimicrobial factors from human cervical mucus. *Hum Reprod.* 2007 Jul; 22 (7): 1810–5.
 48. Ansbacher R, Boyson WA, Morris JA. Sterility of the uterine cavity. *Am J Obstet Gynecol.* 1967 Oct 1; 99 (3): 394–6.

49. Zervomanolakis I, Ott HW, Hadziomerovic D, Mattle V, Seeber BE, Virgolini I, et al. Physiology of upward transport in the human female genital tract. *Ann N Y Acad Sci.* 2007 Apr; 1101: 1–20.
50. 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. *Am J Obstet Gynecol.* 2015 May; 212 (5): 611. e1–9.
51. Artley JK, Braude PR, Cooper P. Vaginal squamous cells in follicular aspirates following transvaginal puncture. *Hum Reprod.* 1993 Aug; 8 (8): 1272–3.
52. Cottell E, McMorrow J, Lennon B, Fawcay M, Cafferkey M, Harrison RF. Microbial contamination in an in vitro fertilization-embryo transfer system. *Fertil Steril.* 1996 Nov; 66 (5): 776–80.
53. Saltes B, Molo MW, Binor Z, Radwanska E. Bacterial contamination after transvaginal aspiration (TVA) of oocytes. *J Assist Reprod Genet.* 1995 Oct; 12 (9): 657–8.
54. Pelzer ES, Allan JA, Cunningham K, Mengersen K, Allan JM, Launchbury T, et al. Microbial colonization of follicular fluid: alterations in cytokine expression and adverse assisted reproduction technology outcomes. *Hum Reprod.* 2011 Jul; 26 (7): 1799–812.
55. Spence MR, Blanco LJ, Patel J, Brockman MT. A comparative evaluation of vaginal, cervical and peritoneal flora in normal, healthy women: a preliminary report. *Sex Transm Dis.* 1982 Jan–Mar; 9 (1): 37–40.
56. Pelzer ES, Allan JA, Waterhouse MA, Ross T, Beagley KW, Knox CL. Microorganisms within Human Follicular Fluid: Effects on IVF. *PLoS One.* 2013; 8 (3): e59062.
57. Bowie WR, Pollock HM, Forsyth PS, Floyd JF, Alexander ER, Wang SP, et al. Bacteriology of the urethra in normal men and men with nongonococcal urethritis. *J Clin Microbiol.* 1977 Nov; 6 (5): 482–8.
58. Nelson DE, Van Der Pol B, Dong Q, Revanna KV, Fan B, Easwaran S, et al. Characteristic Male Urine Microbiomes Associate with Asymptomatic Sexually Transmitted Infection. *PLoS One.* 2010 Nov 24; 5 (11): e14116.
59. Liu CM, Hungate BA, Tobian AA, Ravel J, Prodder JL, Serwadda D, et al. Penile microbiota and female partner bacterial vaginosis in Rakai, Uganda. *MBio.* 2015 Jun 16; 6 (3): e00589–15.
60. Ma B, Forney LJ, Ravel J. Vaginal microbiome: rethinking health and disease. *Annu Rev Microbiol.* 2012; 66: 371–89.
61. Hou D, Zhou X, Zhong X, Settles ML, Herring J, Wang L, et al. Microbiota of the seminal fluid from healthy and infertile men. *Fertil Steril.* 2013 Nov; 100 (5): 1261–9.
62. Weng SL, Chiu CM, Lin FM, Huang WC, Liang C, Yang T, et al. Bacterial communities in semen from men of infertile couples: metagenomic sequencing reveals relationships of seminal microbiota to semen quality. *PLoS One.* 2014 Oct 23; 9 (10): e110152.

References

1. Stinson LF, Payne MS, Keelan JA. Planting the seed: Origins, composition, and postnatal health significance of the fetal gastrointestinal microbiota. *Crit Rev Microbiol.* 2017 May; 43 (3): 352–69.
2. Fitzstevens JL, Smith KC, Hagadorn JI, Caimano MJ, Matson AP, Brownell EA. Systematic Review of the Human Milk Microbiota. *Nutr Clin Pract.* 2016 Sep 27. pii: 0884533616670150. PubMed PMID: 27679525.
3. Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, Harris K, Quince C, Jernberg C, et al. Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by Caesarean section. *Gut.* 2014 Apr; 63 (4): 559–66.
4. Rutayisire E, Huang K, Liu Y, Tao F. The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: a systematic review. *BMC Gastroenterol.* 2016 Jul 30; 16 (1): 86.
5. Falony G, Joossens M, Vieira-Silva S, Wang J, Darzi Y, Faust K, et al. Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science.* 2016 Apr 29; 352 (6285): 560–4.
6. Kulagina EV, Efimov BA, Maximov PY, Kafarskaia LI, Chaplin AV, Shkoporov AN. Species Composition of Bacteroidales Order Bacteria in the Feces of Healthy People of Various Ages. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2012; 76 (1): 169–71.
7. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 Aug 17; 107 (33): 14691–6.
8. Tyakht AV, Kostyukova ES, Popenko AS, Belenikin MS, Pavlenko AV, Larin AK, et al. Human gut microbiota community structures in urban and rural populations in Russia. *Nat Commun.* 2013; 4: 2469.
9. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature.* 2011 May 12; 473 (7346): 174–80.
10. Evans JM, Morris LS, Marchesi JR. The gut microbiome: the role of a virtual organ in the endocrinology of the host. *J Endocrinol.* 2013 Aug 28; 218 (3): R37–47.
11. Clarke G, Stilling RM, Kennedy PJ, Stanton C, Cryan JF, Dinan TG. Minireview: Gut Microbiota: The Neglected Endocrine Organ. *Mol Endocrinol.* 2014 Aug; 28 (8): 1221–38.
12. Rooks MG, Garrett WS. Gut microbiota, metabolites and host immunity. *Nat Rev Immunol.* 2016 May 27; 16 (6): 341–52.
13. Canfora EE, Jocken JW, Blaak EE. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nat Rev Endocrinol.* 2015 Oct; 11 (10): 577–91.
14. Kamada N, Kim Y-G, Sham HP, Vallance BA, Puente JL, Martens EC, et al. Regulated virulence controls the ability of a pathogen to compete with the gut microbiota. *Science.* 2012 Jun 8; 336 (6086): 1325–9.
15. Dobson A, Cotter PD, Ross RP, Hill C. Bacteriocin production: a probiotic trait? *Appl Environ Microbiol.* 2012 Jan; 78 (1): 1–6.
16. Buffie CG, Bucci V, Stein RR, McKenney PT, Ling L, Gobbourne A, et al. Precision microbiome reconstitution restores bile acid mediated resistance to *Clostridium difficile*. *Nature.* 2015 Jan 8; 517 (7533): 205–8.
17. Ivashkin VT, Shifrin OS, Tertychny AS, Poluektova YeA, Lapina TL, Lyashenko OS, et al. [*Clostridium difficile*-associated disease]. *Rossiiskii zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii.* 2016; 25 (6): 5–17. Russian.
18. Goldenberg JZ, Ma SS, Saxton JD, Martzen MR, Vandvik PO, Thorlund K, et al. Probiotics for the prevention of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults and children. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013 May 31; (5): CD006095.
19. Cammarota G, Ianiro G, Gasbarrini A. Fecal Microbiota Transplantation for the Treatment of *Clostridium difficile* Infection: a Systematic Review. *J Clin Gastroenterol.* 2014 Sep; 48 (8): 693–702.
20. Olle B. Who Will Figure Out How to Make a Business Out of Fecal Transplants? [Internet]. 2013 May 3 [cited 2017 Apr 3]; [about 7 p.]. Available from: <http://www.fiercebiotech.com/r-d/who-will-figure-out-how-to-make-a-business-out-of-fecal-transplants>
21. Hodzic Z, Bolock AM, Good M. The Role of Mucosal Immunity in the Pathogenesis of Necrotizing Enterocolitis. *Front Pediatr.* 2017 Mar 3; 5: 40.
22. Pammil M, Cope J, Tarr PI, Warner BB, Morrow AL, Mai V, et al. Intestinal dysbiosis in preterm infants preceding necrotizing enterocolitis: a systematic review and meta-analysis. *Microbiome.* 2017 Mar 9; 5 (1): 31.
23. AlFaleh K, Anabrees J. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014 Apr 10; (4): CD005496.
24. Leung A, Tsoi H, Yu J. *Fusobacterium* and *Escherichia*: models of colorectal cancer driven by microbiota and the utility of microbiota in colorectal cancer screening. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2015 May; 9 (5): 651–7.

25. Graillot V, Dormoy I, Dupuy J, Shay JW, Huc L, Mirey G, et al. Genotoxicity of Cytolethal Distending Toxin (CDT) on Isogenic Human Colorectal Cell Lines: Potential Promoting Effects for Colorectal Carcinogenesis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2016 Mar 23; 6: 34.
26. Needell JC, Zipris D. The Role of the Intestinal Microbiome in Type 1 Diabetes Pathogenesis. *Curr Diab Rep*. 2016 Oct; 16 (10): 89.
27. Boulangé CL, Neves AL, Chilloux J, Nicholson JK, Dumas M-E. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Med*. 2016 Apr 20; 8 (1): 42.
28. Ding HT, Taur Y, Walkup JT. Gut Microbiota and Autism: Key Concepts and Findings. *J Autism Dev Disord*. 2017 Feb; 47 (2): 480–9.
29. Jünemann S, Prior K, Szczepanowski R, Harks I, Ehmke B, Goesmann A, et al. Bacterial community shift in treated periodontitis patients revealed by ion torrent 16S rRNA gene amplicon sequencing. *PLoS One*. 2012; 7 (8): e41606.
30. Zorina OA, Kulakov AA, Rebrikov DV. [Quantitative detection of periodontopathogenic microflora in periodontitis and healthy control]. *Stomatologiya (Mosk)*. 2011; 90 (3): 40–2. Russian.
31. Yanushevich OO, Ayzazova RA, Shibaeva AV, Rebrikov DV, Trubnikova EV, Kudykina YK, et al. Quantitative PCR studies of Aggregatibacter actinomycetemcomitans and Treponema denticola/Tanarella forsythensis Complex as Etiological Factors of Chronic Periodontitis. *Bull Exp Biol Med*. 2016 Feb; 160 (4): 495–7.
32. Shibaeva AV, Ayzazova RA, Rebrikov DV, Trubnikova EV, Kudykina YK, Belyakova AV, et al. [Use of the real-time PCR for study of the periodontal microbiome in patients with combined pathology of gastroduodenal zone and chronic periodontitis]. *Mol Gen Mikrobiol Virusol*. 2016; 34 (1): 26–30. Russian.
33. Petrukhina NB, Zorina OA, Shikh EV, Shibaeva AV, Shevelev AB. [Study of mutual dependence of periodontal and colonic microbiome in health and pathology using NSG-sequencing]. *Stomatologiya (Mosk)*. 2016; 95 (2): 8–13. Russian.
34. Zorina OA, Aymadinova NK, Basova AA, Shibaeva AV, Rebrikov DV. [Gender-related marker pathogens of periodontal disease in chronic periodontitis]. *Stomatologiya (Mosk)*. 2016; 95 (3): 10–6. Russian.
35. Zorina OA, Petrukhina NB, Basova AA, Shibaeva AV, Trubnikova EV, Shevelev AB. [Identification of key markers of normal and pathogenic microbiota determining health of periodontium by NGS-sequencing 16S-rDNA libraries of periodontal swabs]. *Stomatologiya (Mosk)*. 2014; 93 (6): 25–31. Russian.
36. Franasiak JM, Scott RT Jr. Reproductive tract microbiome in assisted reproductive technologies. *Fertil Steril*. 2015 Dec; 104 (6): 1364–71.
37. Boldyreva MN, Bairamova GR, Burmenskaya OV. Diagnosticheskie vozmozhnosti metoda PtsR v rezhime real'nogo vremeni dlya otsenki bioty i lokal'nogo vospaleniya v tkanyakh urogenital'nogo trakta. *Spravochnik zaveduyushchego KDL*. 2015; (1): 9–17. Russian.
38. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. 2012 Jun 13; 486 (7402): 207–14.
39. Swidsinski A, Verstraelen H, Loening-Baucke V, Swidsinski S, Mendling W, Halwani Z. Presence of a polymicrobial endometrial biofilm in patients with bacterial vaginosis. *PLoS One*. 2013; 8 (1): e53997.
40. Selman H, Mariani M, Barnocchi N, Mencacci A, Bistoni F, Arena S, et al. Examination of bacterial contamination at the time of embryo transfer, and its impact on the IVF/pregnancy outcome. *J Assist Reprod Genet*. 2007 Sep; 24 (9): 395–9.
41. Shipitsyna EV, Martikainen ZM, Vorobyova NE, Ermoshkina MS, Stepanova OS, Donnikov AE, et al. [Investigation of vaginal microbiocenosis using the test Femoflor]. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznei*. 2009; 58 (3): 44–50. Russian.
42. Boldyreva MN, Lipova EV, Alexeev LP, Vitvitskaya JuG, Gouskova IA. [Features of urogenital tract's biota determined by means of real-time PCR among women of reproductive age]. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznei*. 2009; 58 (6): 36–42. Russian.
43. Hyman RW, Herndon CN, Jiang H, Palm C, Fukushima M, Bernstein D, et al. The dynamics of the vaginal microbiome during infertility therapy with in vitro fertilization-embryo transfer. *J Assist Reprod Genet*. 2012 Feb; 29 (2): 105–15.
44. Hein M, Petersen AC, Helmgig RB, Uldbjerg N, Reinholdt J. Immunoglobulin levels and phagocytes in the cervical mucus plug at term of pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2005 Aug; 84 (8): 734–42.
45. Ulcova-Gallova Z. Immunological and physicochemical properties of cervical ovulatory mucus. *J Reprod Immunol*. 2010 Nov; 86 (2): 115–21.
46. Lieberman JA, Moscicki AB, Sumerel JL, Ma Y, Scott ME. Determination of cytokine protein levels in cervical mucus samples from young women by a multiplex immunoassay method and assessment of correlates. *Clin Vaccine Immunol*. 2008 Jan; 15 (1): 49–54.
47. Ming L, Xiaoling P, Yan L, Lili W, Qi W, Xiyong Y, et al. Purification of antimicrobial factors from human cervical mucus. *Hum Reprod*. 2007 Jul; 22 (7): 1810–5.
48. Ansbacher R, Boyson WA, Morris JA. Sterility of the uterine cavity. *Am J Obstet Gynecol*. 1967 Oct 1; 99 (3): 394–6.
49. Zervomanolakis I, Ott HW, Hadziomerovic D, Mattle V, Seeber BE, Virgolini I, et al. Physiology of upward transport in the human female genital tract. *Ann N Y Acad Sci*. 2007 Apr; 1101: 1–20.
50. 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. *Am J Obstet Gynecol*. 2015 May; 212 (5): 611. e1–9.
51. Artley JK, Braude PR, Cooper P. Vaginal squamous cells in follicular aspirates following transvaginal puncture. *Hum Reprod*. 1993 Aug; 8 (8): 1272–3.
52. Cottell E, McMorrow J, Lennon B, Fawcys M, Cafferkey M, Harrison RF. Microbial contamination in an in vitro fertilization-embryo transfer system. *Fertil Steril*. 1996 Nov; 66 (5): 776–80.
53. Saltes B, Molo MW, Binor Z, Radwanska E. Bacterial contamination after transvaginal aspiration (TVA) of oocytes. *J Assist Reprod Genet*. 1995 Oct; 12 (9): 657–8.
54. Pelzer ES, Allan JA, Cunningham K, Mengersen K, Allan JM, Launchbury T, et al. Microbial colonization of follicular fluid: alterations in cytokine expression and adverse assisted reproduction technology outcomes. *Hum Reprod*. 2011 Jul; 26 (7): 1799–812.
55. Spence MR, Blanco LJ, Patel J, Brockman MT. A comparative evaluation of vaginal, cervical and peritoneal flora in normal, healthy women: a preliminary report. *Sex Transm Dis*. 1982 Jan-Mar; 9 (1): 37–40.
56. Pelzer ES, Allan JA, Waterhouse MA, Ross T, Beagley KW, Knox CL. Microorganisms within Human Follicular Fluid: Effects on IVF. *PLoS One*. 2013; 8 (3): e59062.
57. Bowie WR, Pollock HM, Forsyth PS, Floyd JF, Alexander ER, Wang SP, et al. Bacteriology of the urethra in normal men and men with nongonococcal urethritis. *J Clin Microbiol*. 1977 Nov; 6 (5): 482–8.
58. Nelson DE, Van Der Pol B, Dong Q, Revanna KV, Fan B, Easwaran S, et al. Characteristic Male Urine Microbiomes Associate with Asymptomatic Sexually Transmitted Infection. *PLoS One*. 2010 Nov 24; 5 (11): e14116.
59. Liu CM, Hungate BA, Tobian AA, Ravel J, Prodder JL, Serwadda D, et al. Penile microbiota and female partner bacterial vaginosis in Rakai, Uganda. *MBio*. 2015 Jun 16; 6 (3): e00589–15.
60. Ma B, Forney LJ, Ravel J. Vaginal microbiome: rethinking health and disease. *Annu Rev Microbiol*. 2012; 66: 371–89.
61. Hou D, Zhou X, Zhong X, Settles ML, Herring J, Wang L, et al. Microbiota of the seminal fluid from healthy and infertile men. *Fertil Steril*. 2013 Nov; 100 (5): 1261–9.
62. Weng SL, Chiu CM, Lin FM, Huang WC, Liang C, Yang T, et al. Bacterial communities in semen from men of infertile couples: metagenomic sequencing reveals relationships of seminal microbiota to semen quality. *PLoS One*. 2014 Oct 23; 9 (10): e110152.