

<i>Candida parapsilosis</i>	2500	1250	310	625	310	155
<i>Candida albicans</i> 10231	5000	2500	625	2500	1250	625

Из результатов, представленных в таблице 3 видно, что ацетоновые экстракты из плодовых тел ксилотрофных базидиальных грибов (*G. Lucidum* и *H. erinaceus*) обладают фунгицидными свойствами. Однако надо отметить, что внесение в питательный субстрат микроудобрений «Наноплант – Co, Mn, Cu, Fe» («Наноплант-4») и «Наноплант – Co, Mn, Cu, Fe, Zn, Cr, Mo, Se» («Наноплант-8») усилили фунгицидную активность ацетоновых экстрактов из плодовых тел *G. Lucidum* культивированных на субстратных блоках с микроудобрениями в 8 раз, а для *H. erinaceus* – в 4 раза.

#### **Выводы:**

Анализируя полученные данные, можно заключить, что ацетоновые экстракты из плодовых тел *G. Lucidum* и *H. erinaceus* обладают фунгицидными свойствами. Внесение в питательный субстрат микроудобрений «Наноплант» уменьшает МПК ацетоновых экстрактов в отношении тест-грибов. Фунгицидная активность ацетоновых экстрактов из плодовых тел *G. Lucidum* культивированных на субстратных блоках с микроудобрениями увеличилась в 8 раз, а для *H. erinaceus* – в 4 раза.

Требуется проведение дальнейших исследований для идентификации вторичных метаболитов *Ganoderma lucidum* (Curt.) и *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.), проявляющих фунгицидные свойства.

#### **Список литературы:**

1. Белова Н.В. Перспективы использования биологически активных соединений высших базидиомицетов в России / Н.В. Белова // Микология и фитопатология. – 2014. – Т.38. - №2. – С. 1—7.
2. Хомякова, Н.Ф. Медицинские свойства гриба шиитакэ / Н.Ф. Хомякова, Ф.Ф. Карпов // Школа грибоводства. – 2017. – № 1.– С. 21-23.
3. Shahid A.A. Antifungal potential of *Ganoderma lucidum* extract against plant pathogenic fungi of *Calendula officinalis* L. / A.A. Shahid, M.Asif, M.Shahbaz, M.Ali // 5th International Conference on Biological, Chemical and Environmental Sciences (BCES-2016) March 24-25, 2016 London (UK). – P.1-5.

УДК 618.15

**Копосова О.В., Зорников Д.Л., Ворошилина Е.С., Абакумова Е. И.,**

**Плотко Е. Э., Проценко Д.А., Петров В.М.**

**ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ПОКАЗАТЕЛЯМИ ОБЩЕЙ  
БАКТЕРИАЛЬНОЙ МАССЫ, КОЛИЧЕСТВА И ДОЛИ ЛАКТОБАЦИЛЛ  
В ОБРАЗЦАХ ВАГИНАЛЬНОГО ОТДЕЛЯЕМОГО И ЭНДОМЕТРИЯ**

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии  
Уральский государственный медицинский университет  
Екатеринбург, Российская Федерация

**Koposova O.V., Zornikov D.L., Voroshilina E.S., Abakumova E.I., Plotko E.E.,  
Proshchenko D.A., Petrov V.M.**

**THE ASSOCIATION BETWEEN TOTAL BACTERIAL LOAD, THE  
AMOUNT AND PROPORTION OF *LACTOBACILLUS* IN VAGINAL AND  
ENDOMETRIAL SAMPLES**

Department of Microbiology, Virology, and Immunology  
Ural State Medical University  
Yekaterinburg, Russia  
[frida8700@mail.ru](mailto:frida8700@mail.ru)

**Аннотация.** Отсутствие лактобацилл в эндометрии ассоциировано с повышенным риском развития воспалительной патологии верхних отделов репродуктивного тракта и неблагоприятных исходов ЭКО. Особый интерес представляет вопрос насколько информативно исследование состояния вагинальной микробиоты для прогнозирования состояния микробиоты эндометрия.

Методом ПЦР-РВ были исследованы образцы вагинального отделяемого и аспираты эндометрия от 64 женщин репродуктивного возраста. В каждом образце определяли показатели общей бактериальной массы, количества и удельного веса лактобацилл. При сравнении данных показателей обнаружили только наличие слабой положительной корреляции (Spearman's  $\rho=0,362$ ,  $p=0,003$ ) между количествами лактобацилл в образцах вагинального отделяемого и эндометрия.

**Annotation.** The non-Lactobacillus dominated microbiota in the uterus cavity is associated with the higher risk of pelvic inflammatory diseases and unsuccessful IVF outcomes. It is questionable whether or not the vaginal microbiota examination is the useful tool for prediction of the state of endometrial microbiota.

The vaginal and endometrial samples from 64 reproductive-age women were evaluated by real-time PCR. In each sample the total bacterial load and the amount of lactobacilli were determined, and the percentage of lactobacilli was calculated. The comparison of the data from vaginal and endometrial samples only revealed the weak positive correlation between the amounts of lactobacilli (Spearman's  $\rho=0,362$ ,  $p=0,003$ ). The rest of the data were not correlated between vaginal and endometrial samples.

**Ключевые слова:** вагинальная микробиота, микробиота эндометрия, лактобациллы, ПЦР

**Keywords:** vaginal microbiota, endometrial microbiota, *Lactobacillus*, PCR

**Введение**

Микробиота с преобладанием лактобацилл считается наиболее благоприятным типом микрофлоры в полости матки [0]. Например, это связано с повышенной вероятностью наступления и благоприятного исхода беременности у женщин, подвергающихся экстракорпоральному оплодотворению [0]. В то время как микробные сообщества с преобладанием условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) ассоциированы с развитием воспалительной патологии верхних отделов репродуктивного тракта, эндометриоза, опухолей эндометрия [0].

Одной из проблем в исследовании микробиоты эндометрия является сложность отбора исследуемого материала. С одной стороны трансвагинальное взятие материала подразумевает возможность контаминации образцов эндометрия вагинальной микробиотой [0]. С другой стороны – это всегда инвазивная процедура, которая может привести к развитию инфекционно-воспалительной патологии верхних отделов генитального тракта. Отсюда, актуальным направлением исследований является поиск предикторов состояния микробиоты эндометрия.

Многие исследователи полагают, что колонизация эндометрия происходит в результате восходящего распространения микроорганизмов из влагалища [0]. Следовательно, одним из предикторов состояния микробиоты полости матки может быть состав микробиоты влагалища. Наличие такой связи позволило бы судить о состоянии микробиоты эндометрия без применения инвазивных методик взятия биоматериала от пациенток, что в свою очередь может стать полезным инструментом для выделения групп риска по развитию воспалительной патологии верхних отделов репродуктивного тракта и неблагоприятных исходов беременности.

**Цель исследования** – оценить взаимосвязь между общей бактериальной массой, количеством и долей лактобацилл в микробиоте влагалища и эндометрия.

#### **Материалы и методы исследования**

В исследование были включены 64 женщины репродуктивного возраста (21–45 лет, средний возраст –  $32,2 \pm 5,2$  года), обратившихся в Медицинский центр «Гармония» (г. Екатеринбург) в период с сентября 2019 г по январь 2021 г. Все женщины обратились с целью решения репродуктивных проблем или в рамках прегравидарной подготовки.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России (протокол № 7 от 20.09.2019). Все участники исследования подписали добровольное информированное согласие на проведение исследования.

Исследование проводили на 7–10-й день менструального цикла. От каждой пациентки брали вагинальное отделяемое и аспират эндометрия. Для взятия аспирата эндометрия использовали специальное устройство Endobrush Standard for Endometrial Cytology (Laboratoire C.C.D.; Франция). Данное устройство снабжено защитным проводником, который предохраняет расположенную

внутри него щетку от контакта со слизистой цервикального канала. Щетка раскрывается только после введения в полость матки, а перед извлечением задвигается внутрь проводника. Предварительно шейку матки выводили в зеркалах, очищали тампоном, смоченным 0,05%-м раствором хлоргексидина, затем вводили устройство, не касаясь стенок влагалища, в полость матки. После извлечения устройства из полости матки поверхность проводника дополнительно протирали стерильным тампоном, смоченным 95%-м этиловым спиртом для удаления отделяемого цервикального канала и предотвращения контаминации пробы его микрофлорой. Затем выдвигали щетку с образцом эндометрия и переносили в жидкость PreservCyt Solution для консервирования клеточных образцов при диагностике *in vitro* (Hologic, Inc.; США).

Выделение ДНК проводили набором ПРОБА-НК-ПЛЮС (ДНК-Технология, Россия) в соответствии с ранее описанной методикой [0]. Исследование микробиоты вагинального отделяемого и эндометрия проводили методом ПЦР-РВ с помощью набора реагентов Андрофлор и амплификатора ДТпрайм (все производства ДНК-технология, Россия).

Статистическую обработку данных проводили в программе IBM SPSS Statistics 26 (IBM Corp.; США). Для оценки достоверности различий между показателями общей бактериальной массы (ОБМ), количеством и долей лактобацилл в образцах вагинального отделяемого и эндометрия рассчитывали критерий Манна-Уитни. Наличие корреляции определяли расчетом рангового коэффициента корреляции Спирмена ( $r_s$ ). Интерпретацию показателей  $r_s$  проводили в соответствии со следующими критериями: 0,3-0,5 – слабая корреляция, 0,6-0,8 – умеренная корреляции; 0,8-1,0 – сильная корреляция [0]. Во всех случаях различия интерпретировали как достоверные при  $p \leq 0,05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

Показатели ОБМ и количества лактобацилл достоверно отличались, тогда как удельный вес лактобацилл был сопоставим в образцах вагинального отделяемого и эндометрия (таблица 1). В образцах эндометрия обнаруживали в 1000 раз меньшие количества общей бактериальной и лактобациллярной ДНК, чем в образцах вагинального отделяемого.

Таблица 1.

Показатели ОБМ, количества и доли лактобацилл в образцах вагинального отделяемого и эндометрия (n=64)

	Образцы вагинального отделяемого, медиана (0,25 и 0,75 процентиля)	Образцы эндометрия медиана, (0,25 и 0,75 процентиля)	P
Общая бактериальная масса, ГЭ/мл	$10^{7,1}$ ( $10^{6,6}$ - $10^{7,4}$ )	$10^{3,9}$ ( $10^{3,6}$ - $10^{4,2}$ )	<0,001

Количество лактобацилл, ГЭ/мл	$10^{7,2}$ ( $10^{6,4}$ - $10^{7,6}$ )	$10^{3,7}$ ( $10^{3,1}$ - $10^{4,2}$ )	<0,001
Доля лактобацилл, %	100 (95-100)	96 (25-100)	0,971
ГЭ/мл – геном-эквивалентов в 1 мл			

При сравнении данных показателей была выявлена слабая положительная корреляция между количеством лактобацилл в образцах вагинального отделяемого и эндометрия. Корреляции между остальными показателями отмечено не было (таблица 2).

Таблица 2.

Коэффициенты ранговой корреляции Спирмена ( $r_s$ ) при сравнении показателей ОБМ, количества и доли лактобацилл в образцах вагинального отделяемого и эндометрия (n=64)

		Образцы вагинального отделяемого		
		ОБМ	Количество лактобацилл	Доля лактобацилл
Образцы эндометрия	ОБМ	$r_s=0,247$ $p=0,049$	$r_s=0,133$ $p=0,293$	$r_s=-0,126$ $p=0,321$
	Количество лактобацилл	$r_s=0,293$ $p=0,019$	$r_s=0,362$ $p=0,003$	$r_s=0,131$ $p=0,300$
	Доля лактобацилл	$r_s=0,089$ $p=0,483$	$r_s=0,225$ $p=0,074$	$r_s=0,294$ $p=0,018$
ОБМ – общая бактериальная масса				

Результаты настоящего исследования не демонстрируют наличия очевидной связи между микробиотой влагалища и эндометрия. Была отмечена лишь слабая положительная корреляция между абсолютными количествами лактобацилл во влагалище и полости матки. Тогда как корреляции по ОБМ и удельному весу лактобацилл в микробиотах данных биотопов отмечено не было.

Не исключено, что это обусловлено гематогенным, а не вагинальным происхождением резидентной микробиоты эндометрия. Возможность гематогенного заноса представителей резидентной микробиоты полости матки

была продемонстрирована на животных моделях [0]. Другим объяснением является возможная селекция микробиоты эндометрия в условиях другого эпителия и более жесткого иммунного надзора [0]. Помимо этого нужно понимать, что микробиота эндометрия, как любой другой биоматериал с низкой микробной нагрузкой, является трудным объектом для изучения [0]. При низком содержании микробной ДНК в образце трудно дифференцировать истинные сигналы от контаминации «китомной» ДНК [5]. Более того, в истинно положительных образцах тяжело рассчитать изначальное количество микробной ДНК по причине отсутствия четкой линейной зависимости между количеством микробной ДНК и уровнем флуоресценции в ПЦР.

В дополнение к объективным методологическим трудностям изучения микробиоты эндометрия нужно отметить, что результаты исследования получены на ограниченном количестве наблюдений.

**Выводы:**

1. В образцах эндометрия отмечали в 1000 раз меньшие количества микробной ДНК в сравнении с образцами вагинального отделяемого.
2. Показатели общей бактериальной массы, количества и доли лактобацилл во влагалище не позволяли судить о состоянии микробиоты эндометрия.

**Список литературы:**

1. Ворошилина Е. С. Возможности оценки микробиоты полости матки с использованием ПЦР в реальном времени / Е.С. Ворошилина, Д.Л. Зорников, О.В. Копосова, Д.К. Исламиди, К.Ю. Игнатова, Е.И. Абакумова и др. // Вестник РГМУ. – 2020. – №1. – С. 14–21.
2. Baker JM. Uterine Microbiota: Residents, Tourists, or Invaders? / JM Baker, DM Chase, MM Herbst-Kralovetz // Front Immunol. – 2018. – Mar 2; (9). – P. 208 – 224.
3. Chan YH. Biostatistics 104: correlational analysis / Chan YH // Singapore medical journal. –2003. – V. 44, №12. – P. 614-619.
4. Chen C. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases/ Chen C, Song X, Wei W, et al. // Nat Commun. –2017. – V8, №1.
5. de Goffau MC. Recognizing the reagent microbiome / de Goffau MC, S Lager, SJ Salter, J1 Wagner, A Kronbichler, DS Charnock-Jones et al. // Nat Microbiol. – 2018 Aug. – V. 3, № 8– P. 237-248.
6. Moreno I. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure/ I Moreno, FM Codoñer, F Vilella, D Valbuena, JF Martinez-Blanch, J Jimenez-Almazán et al. // Am J Obstet Gynecol. – 2016. Dec. – V. 215, № 6. – P. 684–703.
7. Moreno I. Relevance of assessing the uterine microbiota in infertility // Fertil Steril. –2018 Aug. – V. 110, №3. – P. 337-343.
8. Salter SJ. Reagent and laboratory contamination can critically impact sequence-based microbiome analyses / SJ Salter, MJ Cox, EM Turek, ST Calus, WO

Cookson, MF Moffatt, P Turner, J Parkhill, NJ Loman, AW Walker. // BMC Biol. – 2014 Nov. – V. 12, № 12. – P. 137-144.

УДК 579.841.11

УДК 579.842.16:612.398.12

**Макарчикова Ю.Ю., Галицкий Д.А., Атанасова Ю.В.**  
**ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ**  
***PSEUDOMONAS AERUGINOSA* И *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* К**  
**БАКТЕРИЦИДНОМУ ДЕЙСТВИЮ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА**

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии  
Гомельский государственный медицинский университет  
Гомель, Республика Беларусь

**Makarchykova Yu.Yu., Halitski D.A., Atanasova Yu.V.**  
**EVALUATION OF THE SENSITIVITY OF CLINICAL ISOLATES OF**  
***PSEUDOMONAS AERUGINOSA* AND *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* TO**  
**THE BACTERICIDAL ACTION OF HUMAN BLOOD SERUM**

Department of Microbiology, Virology and Immunology  
Gomel State Medical University  
Gomel, Republic of Belarus  
E-mail: [makarchikovay@mail.ru](mailto:makarchikovay@mail.ru)

**Аннотация.** В данной статье представлены результаты исследования бактерицидной активности сыворотки крови человека на клинические изоляты *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*, выделенных при инфекциях от пациентов с различной патологией. Важным направлением исследований в этой области, учитывая полученные результаты, является исследование факторов патогенности клинических изолятов *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*, оценка их влияния на развитие патологического процесса. Результаты исследования показывают, что наибольшая резистентность к бактерицидному действию сыворотки крови отмечается у штаммов *K. pneumoniae* по сравнению с изолятами *P. aeruginosa*.

**Annotation.** This article presents the results of a study of the bactericidal activity of human blood serum on clinical isolates of *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae* obtained from patients with various pathologies in infections. Taking into account the obtained results, an important area of researches in this field is to study the pathogenic process. The results of the study show that the highest resistance to the bactericidal action of blood serum is observed in *K. pneumoniae* strains compared to *P. aeruginosa* isolates in general.

**Ключевые слова:** *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, инвазивные изоляты, неинвазивные изоляты, бактерицидное действие, клинические изоляты, индекс бактерицидности.