

6. Шабанов П.Д. Антисептики нового поколения. Фармакология катапола и родственных соединений / П.Д. Шабанов // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* – 2002. – Т.1. – №2. – С. 64-72

УДК579.2

**¹Паначева Е.А., ¹Ворошилина Е.С., ²Почерников Д.Г.
УРОВЕНЬ БАКТЕРИАЛЬНОЙ НАГРУЗКИ ПО ДАННЫМ ПЦР В
РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ В ОБРАЗЦАХ ЭЯКУЛЯТА ПРИ
НОРМОСПЕРМИИ И ПАТОСПЕРМИИ**

¹Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии
Уральский государственный медицинский университет
Екатеринбург, Российская Федерация

²Кафедра факультетской хирургии и урологии
Ивановская государственная медицинская академия
Иваново, Российская Федерация

**¹Panacheva E.A., ¹Voroshilina E.S., ²Pochernikov D.G.
THE BACTERIAL LOAD OF SEMEN MICROBIOTA AMONG MEN WITH
NORMAL AND ABNORMAL SPERMIOGRAM PARAMETERS BY PCR-
REAL TIME**

¹Department of Microbiology
Ural state medical university
Yekaterinburg, Russian Federation

²Department of Urology
Ivanovo state medical academy
Ivanovo, Russian Federation

E-mail:evgenia.snigireva@yandex.ru

Аннотация. Исследовали уровень бактериальной нагрузки эякулята 573 мужчин репродуктивного возраста при нормоспермии и патоспермии с применением ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ).

Annotation. The bacterial load of semen with normal and abnormal spermogram parameters was measured by real-time PCR in 573 adult men.

Ключевые слова: микробиота, эякулят, ПЦР-РВ.

Key words: bacterial load, semen, PCR-real time.

Введение

Инфекции уrogenитального тракта (УГТ) и связанные с ними воспалительные реакции являются причиной мужского бесплодия в 6-10% случаев [4]. В структуре уrogenитальных инфекций данной группы пациентов преобладают стертые и субклинические формы заболеваний. В таких случаях

диагноз устанавливается на основании лабораторных данных, отражающих интенсивность локального воспалительного ответа и микробный состав УГТ. При отсутствии облигатных патогенов (*Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium* и др.) триггером в развитии воспалительного процесса могут выступать условно-патогенные микроорганизмы УПМ (*Escherichia Coli*, *Klebsiellaspp.*, *Proteusspp.*, *Enterococcusspp.*, *Staphylococcusspp.*, *Ureaplasmaspp.*, *Mycoplasma hominis* и др.) [6]. Согласно современным рекомендациям концентрация условно-патогенных бактерий в количестве более 10^3 КОЕ /1 мл в эякуляте свидетельствует о значительной бактериоспермии [4]. Исследования с применением молекулярно-генетических методов диагностики указывают на частое присутствие широкого спектра МО не только в эякуляте мужчин с бесплодием, но и в эякуляте здоровых мужчин [5]. На сегодняшний день для оценки микробного состава эякулята в клинической практике применяется несколько подходов. Наряду с культуральным исследованием в практику внедрен метод количественной ПЦР. Этот метод позволяет проводить количественную оценку сложных микробных сообществ, в образовании которых принимают участие разнообразные микроорганизмы, в том числе трудно культивируемые и некультивируемые при стандартном бакпосеве. Иными словами, этот метод позволяет оценить бактериальную нагрузку исследуемого образца. На сегодняшний день отмечаются единичные отчеты об использовании ПЦР-РВ для исследования микробного состава эякулята среди лиц, имеющих репродуктивные проблемы [1,2].

Цель исследования – оценить уровень бактериальной нагрузки в образцах эякулята методом ПЦР-РВ у мужчин репродуктивного возраста при нормоспермии и патоспермии.

Материалы и методы исследования

Всего в исследование были включены 573 мужчины репродуктивного возраста 18-57 лет (средний возраст $34 \pm 6,7$ года). Исследование проводилось на базе двух медицинских учреждений: Медицинский центр «Гармония» г.Екатеринбурга (420 пациентов) и Кафедра факультетской хирургии и урологии ИвГМА г. Иваново (153 пациента). Все пациенты обратились для решения репродуктологических проблем. Критерием исключения из исследования являлось обнаружение облигатных патогенов (*Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*) и отсутствие сперматозоидов в эякуляте (азооспермия). В соответствии с «Руководством ВОЗ по исследованию эякулята, 2010» для всех образцов был проведен анализ спермограммы с помощью анализатора SCABIOLA [7]. Оценивали объем эякулята, pH, вязкость, морфологию сперматозоидов, общее количество, концентрацию и подвижность сперматозоидов, а также количество лейкоцитов в образце. По результатам спермограммы все пробы были разделены на 3 группы. В 1-ю группу вошли 220 мужчин с нормальными показателями спермограммы и отсутствием

лейкоцитов. Во 2-ю группу вошли 289 мужчин с отклонением как минимум в одном параметре спермограммы (патоспермия), в 3-ю группу -65 мужчин, также имеющие отклонения в спермограмме, но имеющие превышение по лейкоцитам, более 1млн/мл (лейкоспермия).

Для оценки бактериальной нагрузки эякулята применили метод количественной ПЦР-РВ. Выделение ДНК из образцов эякулята проводили с использованием комплекта реагентов ПРОБА-ГС (ООО «НПО ДНК-Технология», Москва) в соответствии с инструкцией производителя. Исследование проводили с использованием набора реагентов «Андрофлор» (ООО «НПО ДНК-Технология», Москва) в детектирующем амплификаторе ДТ-96 согласно инструкции производителя. После реакции амплификации по показателю индикаторного цикла с помощью специального программного обеспечения проводили автоматический расчет количества общей бактериальной массы (ОБМ). Количество выявленных МО выражали в геном-эквивалентах на мл (ГЭ/мл). Статистику проводили в Excel 2016, для оценки достоверности полученных данных использовали критерий Фишера. Во всех случаях различия интерпретировали как достоверные при минимальном уровне значимости $\alpha=0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Во всех 573 образцах эякулята была выявлена бактериальная ДНК. Уровень микробной обсемененности, который характеризует показатель ОБМ, колебался в диапазоне от 10 до $10^{8,1}$ (медиана $10^{3,5}$) ГЭ/образец. По количеству ОБМ каждая из 3 групп пациентов была разделена на 3 категории: 1 категория ОБМ <3 ГЭ/мл, 2 категория ОБМ $3 < 4$ ГЭ/мл и 3-я категория ОБМ >4 ГЭ/мл. Анализ полученных данных позволил установить несколько закономерностей (Таблица 1).

Таблица 1

Оценка уровня Общей Бактериальной Массы в образцах эякулята (ГЭ/мл)

Кол-во ОБМ, ГЭ/мл	1-я группа Нормоспермия N=220			2-я группа Патоспермия Лейкоциты $<10^6$ /мл N=289			3-я группа Патоспермия Лейкоциты $>10^6$ /мл N=65		
	ОБМ $< 10^3$	ОБМ $10^3 <$ 10^4	ОБМ $>10^4$	ОБМ $<$ 10^3	ОБМ $10^3 < 10^4$	ОБМ $>10^4$	ОБМ $<$ 10^3	ОБМ $10^3 < 10^4$	ОБМ $>10^4$
	Всего в группе	74	95	49	123	86	80	12	25
(%)	33,6%*	43,2%	22,3%*	42,6%*	29,8%	27,7%	19,7%*	41,0%	39,3%*

В 1-й группе пациентов в 74 (33,6%) случаях определяли низкий уровень микробной обсемененности. Во 2-й группе низкий уровень ОБМ выявлен лишь в 12 случаях (19,7%), что достоверно ниже первой группы ($p < 0,05$). При сравнении 2 и 3-й групп пациентов выявили, что образцы с низкой бактериальной обсемененностью встречались чаще в пробах с нормальным

содержанием лейкоцитов-123 случая (42,6%) в отличие от проб с лейкоспермией-12 случаев (19,7%). В соответствии с алгоритмом интерпретации результатов ПЦР количество бактериальной ДНК менее 10^3 ГЭ/мл сравнимо с отрицательным контрольным образцом и не имеет клинического значения. Клиническое значение имеют результаты анализа, при которых уровень ОБМ $>10^3$ ГЭ/мл.

Образцы с ОБМ в диапазоне от 10^3 до 10^4 ГЭ/мл были характерны как для патоспермии, так и для нормоспермии. В 1-й группе пациентов данный уровень бактериальной нагрузки выявлен в 95 пробах (43,2%), во второй-в 86 (29,8%) и в 3-й –в 25 (41,0%), соответственно. Мы не нашли достоверной разницы по данному уровню ОБМ.

В то же время выраженная бактериальная обсемененность (ОБМ $>10^4$ ГЭ/мл) достоверно чаще выявлялась в 3-й группе (в 39,3% случаев) по сравнению с группой нормоспермии (22,3% случаев). То есть, образцы эякулята, одновременно имеющие отклонения в спермограмме и высокую концентрацию лейкоцитов, чаще имели высокую микробную нагрузку. Отмечена тенденция к преобладанию образцов с выраженной бактериальной нагрузкой (ОБМ $>10^4$ ГЭ/мл) в 3-й группе пациентов по отношению ко 2-й группе, однако разница оказалась недостоверной.

Выводы:

1. При патоспермии уровень бактериальной нагрузки эякулята выше в образцах с высоким содержанием лейкоцитов в отличие от нормоспермии.
2. Образцы с выраженным уровнем микробной обсемененности встречаются и при патоспермии, и при нормоспермии.
3. Низкая бактериальная нагрузка в большей степени характерна для нормоспермии.

Список литературы:

1. Ворошилина Е.С. Сравнительное исследование микробиоты эякулята методом количественной ПЦР и культуральным методом. / Е.С. Ворошилина, П.Г. Аминева, Д.Л. Зорников, Е.А. Паначева // Вестник РГМУ. - 2019
2. Почерников Д.Г. Сравнительный анализ культурального и молекулярно-генетического методов в исследовании микробиоты эякулята при мужской инфертильности. / Д.Г. Почерников, Н.Т. Постовойтенко, А.И. Стрельников // Андрология и генитальная хирургия. - 2019. - №20(2). – С.40–7
3. David Baud Sperm Microbiota and Its Impact on Semen Parameters. / David Baud, Céline Pattaroni et al. // Front. Microbiol. – 2019. - №10:234
4. Jungwirth A., Diemer T. et al. EAU Guidelines on Male Infertility. - 2017.
5. Reet Mandar Seminal microbiome in men with and without prostatitis. / Reet Mandar, Margus Punab et al. // International Journal of Urology. – 2017. - №24. – P. 211-216
6. Schuppe H-C Urogenital Infection as a Risk Factor for Male Infertility. / Schuppe H-C, Pilatz A. et al. // Deutsches Aerzteblatt Online. - 2017

7. World Health Organization: WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th edition. Geneva: WHO Press 2010

УДК 614.446.1

**Подкопаева Д.С., Бартенева А.А., Чурилова М.О.
СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ПРОФИЛАКТИКИ ГРИППА И ОРВИ У
СТУДЕНТОВ МЕДИЦИНСКИХ ВУЗОВ (НА ПРИМЕРЕ
ОБУЧАЮЩИХСЯ КУРСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА)**

Кафедра поликлинической терапии и общей врачебной практики
Курский государственный медицинский университет
Курск, Российская Федерация

**Podkopaeva D.S., Barteneva A.A., Churilova M.O.
PRESENT ASPECTS OF INFLUENZA AND ARVI PREVENTION AT
STUDENTS OF MEDICAL HIGHER EDUCATION INSTITUTIONS (ON
THE EXAMPLE OF STUDENTS OF THE KURSK STATE MEDICAL
UNIVERSITY)**

Department of outpatient therapy and general practice
Kursk State Medical University
Kursk, Russian Federation

E-mail: dinamurohtacom@yandex.ru

Аннотация. В статье рассмотрены особенности профилактических мероприятий по гриппу и ОРВИ у студентов-медиков. Проведено анкетирование студентов 1-6 курсов лечебного факультета Курского государственного медицинского университета. Проанализирована приверженность к вакцинопрофилактике гриппа. Выявлена низкая осведомленность студентов в вопросах частоты и распространенности поствакцинальных осложнений, которые и являются преобладающей причиной отказа от прививки против гриппа. Среди обучающихся отмечено превалирование неспецифических мер профилактики гриппа и ОРВИ.

Annotation. The article deals the features of preventive measures for influenza and acute respiratory viral infections in medical students. A survey of students of 1-6 courses of the medical faculty of the Kursk State Medical University was conducted. Analyzed adherence to influenza vaccination. The low awareness of students in the frequency and prevalence of post-vaccine complications, which are the predominant cause of refusal of vaccination against influenza, is revealed. Among students, the prevalence of non-specific measures for the prevention of influenza and SARS was noted.