

УРОГЕНИТАЛЬНЫЕ ЗОНДЫ ТИПА ПАЙПЕЛЬ-С НЕ ПРЕДОТВРАЩАЮТ КОНТАМИНАЦИЮ ЭНДОМЕТРИАЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ ЦЕРВИКАЛЬНОЙ МИКРОБИОТОЙ

Д. Л. Зорников¹✉, А. А. Бехтер¹, Д. О. Корнилов¹, В. М. Симарзина¹, Д. М. Нечаева¹, А. Е. Карякина¹, М. А. Лешукова¹, П. Г. Аминева^{1,3}, Е. С. Ворошилина^{1,2}

¹ Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Екатеринбург, Россия

² Медицинский центр «Гармония», Екатеринбург, Россия

³ ООО «Кволити Мед», Екатеринбург, Россия

Существенным методологическим ограничением в изучении микробиома эндометрия выступает риск контаминации проб цервикальной микробиотой в ходе трансцервикального взятия материала. Целью работы было экспериментально оценить эффективность урогенитальных зондов типов Пайпель-С1 (Пайпель-биопсия) и Пайпель-С2 (ЭндоБраш) в предотвращении данного вида контаминации. Для этого была разработана *in vitro* модель шейки матки двух типов (с цилиндрическим и щелевидным каналом), заполненная модельной цервикальной слизью с известным количеством бактериальной ДНК. После прохождения зондами через модельный цервикальный канал выполняли забор «эндометриальной» пробы (стерильный воздух) с последующим количественным ПЦР-анализом. Оба типа зондов продемонстрировали значительный перенос бактериальной ДНК из цервикальной слизи в эндометриальную пробу. Медианный перенос общей бактериальной ДНК составил 81,6% [54,4–107] для Пайпель-С1 и 29,8% [14,8–56,3] для Пайпель-С2 ($p = 0,009$). Ни один из зондов не обеспечивал защиты от контаминации на уровне, позволяющем достоверно интерпретировать состав микробиоты эндометрия. Эффективность зондов в предотвращении контаминации зависела от анатомической формы канала и конкретной группы микроорганизмов. Полученные результаты свидетельствуют, что ни один из исследованных зондов не обеспечивает надежной защиты от контаминации, что затрудняет интерпретацию данных о составе микробиоты эндометрия в трансцервикально полученных образцах и указывает на целесообразность изучения совокупной цервико-эндометриальной микробиоты.

Ключевые слова: микробиота эндометрия, цервикальный канал, контаминация, зонд Пайпель, ПЦР в реальном времени, молекулярная диагностика

Вклад авторов: Д. Л. Зорников — организация исследования, анализ данных, статистический анализ, написание и редактирование статьи; А. А. Бехтер — разработка и изготовление *in vitro* моделей шейки матки; Д. О. Корнилов — разработка и изготовление *in vitro* моделей шейки матки, подготовка иллюстраций; В. М. Симарзина — проведение экспериментальных работ (взятие проб на моделях), подготовка рукописи; Д. М. Нечаева — проведение экспериментальных работ (взятие проб на моделях), проведение молекулярно-генетических исследований (ПЦР), подготовка рукописи; А. Е. Карякина — проведение молекулярно-генетических исследований (ПЦР), подготовка рукописи и иллюстраций; М. А. Лешукова — подготовка рукописи; П. Г. Аминева — подготовка и предоставление бактериальных культур для анализа; Е. С. Ворошилина — научное руководство и координация, анализ и интерпретация данных, написание и редактирование статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России (протокол № 3 от 20 июня 2025 г.).

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

Статья получена: 18.11.2025 Статья принята к печати: 05.12.2025 Опубликована онлайн: 13.12.2025

DOI: 10.24075/vrgmu.2025.073

PIPELLE AND ENDOBRUSH CATHETERS DO NOT PREVENT CONTAMINATION OF ENDOMETRIAL SAMPLES BY CERVICAL MICROBIOTA

Zornikov DL¹✉, Bekhter AA¹, Kornilov DO¹, Simarzina VM¹, Nechaeva DM¹, Karyakina AE¹, Leshukova MA¹, Amineva PG^{1,3}, Voroshilina ES^{1,2}

¹ Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia

² Medical Center "Garmonia", Yekaterinburg, Russia

³ LLC "Quality Med", Yekaterinburg, Russia

The risk of contamination by cervical microbiota during transcervical sampling represents a fundamental methodological challenge in endometrial microbiome research. This study aimed to experimentally evaluate the efficacy of Pipelle and Endobrush endometrial sampling catheters in preventing this contamination. An *in vitro* cervix model with two anatomically distinct canal types (cylindrical and slit-like) was developed and filled with a synthetic cervical mucus containing a defined quantity of bacterial DNA. After catheter passage through the model cervical canal, a simulated 'endometrial' sample (sterile air) was collected and subjected to quantitative PCR analysis. Both catheter types facilitated substantial transfer of bacterial DNA from the cervical mucus into the endometrial sample. The median transfer of total bacterial DNA was 81.6% [54.4–107] for the Pipelle catheter and 29.8% [14.8–56.3] for the Endobrush catheter ($p = 0.009$), indicating that neither device provided sufficient protection for reliable characterization of the endometrial microbiota. Catheter efficacy was further dependent on cervical canal morphology and the specific microbial group analyzed. These findings demonstrate that transcervical sampling with either catheter type introduces a significant and variable degree of cervical contamination, thereby confounding the interpretation of endometrial microbiota data and underscoring the need to conceptualize and study a combined cervico-endometrial microbiota.

Keywords: endometrial microbiota, cervical canal, contamination, Pipelle catheter, Endobrush catheter, real-time PCR, molecular diagnostics

Author contribution: Zornikov DL — study organization, data analysis, statistical analysis, writing and editing of the article; Bekhter AA — development and creation of *in vitro* cervical models; Kornilov DO — development and creation of *in vitro* cervical models, preparation of illustrations; Simarzina VM — execution of experimental work (sampling from models), manuscript preparation; Nechaeva DM — execution of experimental work (sampling from models), performance of molecular genetic studies (PCR), manuscript preparation; Karyakina AE — performance of molecular genetic studies (PCR), preparation of the manuscript and illustrations; Leshukova MA — manuscript preparation; Amineva PG — preparation and provision of bacterial cultures for analysis; Voroshilina ES — scientific supervision and coordination, analysis and interpretation of data, writing and editing of the article.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of Ural State Medical University (Protocol № 3 dated June 20, 2025).

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

Received: 18.11.2025 Accepted: 05.12.2025 Published online: 13.12.2025

DOI: 10.24075/brsmu.2025.073

С тех пор как молекулярно-генетическими методами в полости матки обнаружена резидентная микробиота [1], исследования микробиоты эндометрия являются одним из приоритетных направлений в области микробиома человека [2, 3]. При этом вышеуказанное, основополагающее исследование Mitchell с соавторами [1] было выполнено на матках после гистерэктомии, что гарантирует отсутствие контаминации вагинальной и цервикальной микробиотой и подтверждает наличие резидентных микроорганизмов именно в эндометрии. В последующих аналогичных исследованиях на экстеригированных матках было показано, что общее количество бактериальной ДНК в эндометрии примерно в 10 раз ниже [4] или сопоставимо с таковым в цервикальной слизи [5].

Очевидно, что в реальной клинической практике в исследованиях микробиома эндометрия практически всегда используют трансцервикальное взятие образцов из полости матки: катетером для интрацитоплазматической инъекции сперматозоидов или переноса эмбрионов [6, 7], гистероскопически [8–10], зондами типа Пайпель-С1 (Пайпель-биопсия) и С2 (Эндобраш) [11–20] или схожей с зондом С2 конструкцией с наружным и внутренним проводниками [21, 22]. В большинстве исследований предпринимаются дополнительные меры для снижения риска контаминации, включая предварительную обработку влагалища/цервикаса физиологическим раствором или антисептиками и сравнительный анализ микробиоты разных отделов репродуктивного тракта [6, 7, 9–22]. Однако надежность этих подходов, особенно в контексте молекулярно-генетической диагностики, остается предметом дискуссий. По результатам исследования трансцервикально собранных образцов эндометрия были выявлены ассоциации между микробиотой эндометрия и невынашиванием беременности [23], хроническим эндометритом [24], эндометриальными полипами [10, 18], гиперплазией эндометрия [20], эндометриозом [25] и синдромом поликистозных яичников [26].

Из-за особенностей анатомии женского уrogenитального тракта (УГТ) любой способ трансцервикального взятия биоматериала из полости матки сопровождается рисками контаминации образца вагинальной и особенно цервикальной микробиотой, тем более, что проба эндометрия содержит заведомо меньшее количество микроорганизмов [4]. Большая часть представленных работ не описывают возможного влияния данной контаминации на полученные результаты, что заставляет задуматься о реальном происхождении полученной микробиоты. Этот методологический пробел ставит под вопрос обоснованность заключений в части опубликованных данных о «микробиоме эндометрия», который может представлять собой смесь микробиоты цервикаса и эндометрия или же артефакт, вызванный контаминацией. Помимо возможного искажения результатов микробиологического исследования, важно отметить, что трансцервикальное взятие материала из полости матки является инвазивной процедурой, сопровождающейся риском заноса патогенных микроорганизмов из нижних отделов УГТ.

Принимая во внимание вышеизложенные риски, нужно основательно взвешивать все возможности и потенциальные ограничения исследования микробиоты эндометрия в трансцервикально отобранных образцах, в том числе с использованием зондов типа Пайпель С1 и С2 как наиболее популярных инструментов, используемых с данной целью [11–20]. Для оценки данных возможностей и ограничений необходимо понимать

реальную эффективность зондов типа Пайпель С1 и С2 в предотвращении контаминации эндометриальных образцов цервикальной микробиотой.

Цель исследования — экспериментально оценить эффективность урогенитальных зондов типов С1 и С2 в предотвращении контаминации цервикальной микробиотой образцов эндометрия, предназначенных для исследования микробиоты.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Разработка экспериментальной модели шейки матки

Для экспериментальной оценки эффективности зондов была разработана *in vitro* модель, имитирующая прохождение через цервикальный канал, заполненный слизью с бактериями.

Изготовление анатомических моделей шейки матки

Модели цервикального канала двух типов создавали из 2%-й агарозы. Были разработаны два типа моделей: модель с цилиндрическим каналом ($n = 18$), имитирующая шейку матки нерожавшей женщины, и модель со щелевидным каналом ($n = 18$), имитирующая шейку матки рожавшей женщины.

В стерильные пробирки типа Эплендорф со срезанным дном и с отверстием диаметром 5 мм в крышке помещали формообразующие стержни: для цилиндрического канала — стержень диаметром 1,5 мм (внутренняя часть зонда С2), для щелевидного канала — пластиковую призму 3 × 0,5 мм. Пробирки заполняли агарозой и после полимеризации извлекали формовочные элементы. Оба отверстия пробирки (дно и крышка) герметизировали слоями стерильной парафиновой ленты. Непосредственно перед экспериментом цервикальные каналы моделей заполняли приготовленной модельной слизью и инкубировали при 37 °C. Фото готовых моделей представлены на рис. 1.

Приготовление модели цервикальной слизи

Непосредственно перед экспериментом готовили модель цервикальной слизи на основе нестерильного геля из желатина (желатин быстрорастворимый пищевой в гранулах 220 блум, Тилло Желло, Таджикистан) и альгината натрия (порошок Альгината натрия пищевого вязкость 300–400, Qingdao Nanshan Yuanquan Seaweed Co., Ltd., Китай). Сначала готовили два отдельных раствора: 4%-й раствор желатина (40 мг в 1 мл стерильной воды с 20 мкл 10% CaCl_2) и 3%-й раствор альгината натрия (30 мг в 1 мл стерильной воды). Оба исходных раствора инкубировали при 60 °C в течение 30 мин в термостате «Гном» («ДНК-Технология», Россия) и тщательно перемешивали на вортексе.

Равные объемы (по 2 мл) приготовленных растворов переносили в отдельные шприцы, соединяли переходником Luer Lock и аккуратно перемешивали вручную в течение 2 мин, в результате получали финальный гель с концентрацией 2% желатина и 1,5% альгината натрия, растяжимостью 1–2 см. Для целенаправленной контаминации слизи в шприц с финальным гелем аспирировали 200 мкл смеси бактериальных культур, содержащей равные объемы клинических изолятов *Lactobacillus acidophilus*, *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* (оптическая плотность 0,5 по Макфарленду для каждого). После добавления бактерий гель повторно перемешивали через переходник для

равномерного распределения микроорганизмов. Для приготовления демонстрационных моделей с целью лучшей визуализации цервикального канала в слизь дополнительно вносили 0,3%-й водный раствор метиленового синего.

Использованные для отбора проб зонды

Для отбора проб использовали три типа зондов (рис. 2): универсальный урогенитальный зонд А2 («Медицинские изделия», Россия); зонд типа С «Пайпель», модель 1 («Юникорнмед», Китай); зонд типа С «Пайпель», модель 2 («Юникорнмед», Китай). Зонд А2 использовали для отбора проб цервикальной слизи из канала модели шейки матки, зонды типа «Пайпель» — для взятия пробы воздуха после прохождения цервикального канала моделей шейки матки (имитация стерильной полости матки).

Дизайн исследования и протокол взятия проб

В общей сложности использовали 36 моделей шейки матки: 18 с цилиндрическим и 18 с щелевидным каналом. Для каждого экспериментального запуска использовали по три модели с цилиндрическим и три модели со щелевидным каналом. Всего было проведено по три независимых повторных эксперимента для зондов типа С1 и для зондов типа С2. Протокол взятия проб включал два этапа.

На первом этапе универсальным зондом типа А2 забирали пробу слизи из цервикального канала с глубины 1–1,5 см и переносили ее в стерильный физиологический раствор.

На втором этапе, после взятия цервикальной пробы, зондом типа С1 или С2 полностью проходили цервикальный канал для забора пробы за пределами внутреннего зева (имитация полости матки). При использовании зонда С1 после выхода на 3 см за пределы канала аспирировали пробу воздуха. При использовании зонда С2 щетку раскрывали, совершали несколько поворотных движений и закрывали.

После взятия пробы зонд извлекали (С2, в закрытом состоянии), наружную поверхность обрабатывали 96%-м этианолом для удаления остатков цервикальной слизи и предотвращения контаминации пробы ее микробиотой, после чего пробу переносили в физиологический раствор. В качестве отрицательного контрольного образца (ОКО) в конце каждого эксперимента выполняли забор пробы воздуха зондами С1/С2 без предварительного прохождения через модельную систему.

Молекулярно-генетический анализ

Выделение тотальной ДНК из всех образцов проводили с использованием набора «Проба-НК-ПЛЮС» («ДНК-Технология», Россия). Количественный анализ микробиоты выполняли с помощью ПЦР-набора «Андрофлор» («ДНК-Технология», Россия) с детекцией следующих мишеней: общая бактериальная масса (ОБМ), *Lactobacillus* spp., *Staphylococcus* spp. и группы *Enterobacteriaceae*/*Enterococcus* (группа ЕЕ). Минимальный порог обнаружения для ОБМ и всех целевых групп микроорганизмов — 10^3 геном-эквивалентов на образец (ГЭ/образец). Для каждого отобранного образца выполняли одну постановку в ПЦР. Амплификацию целевой ДНК и детекцию продуктов амплификации проводили в приборах ДТ-Прайм 5М с использованием штатного программного обеспечения производителя («ДНК-

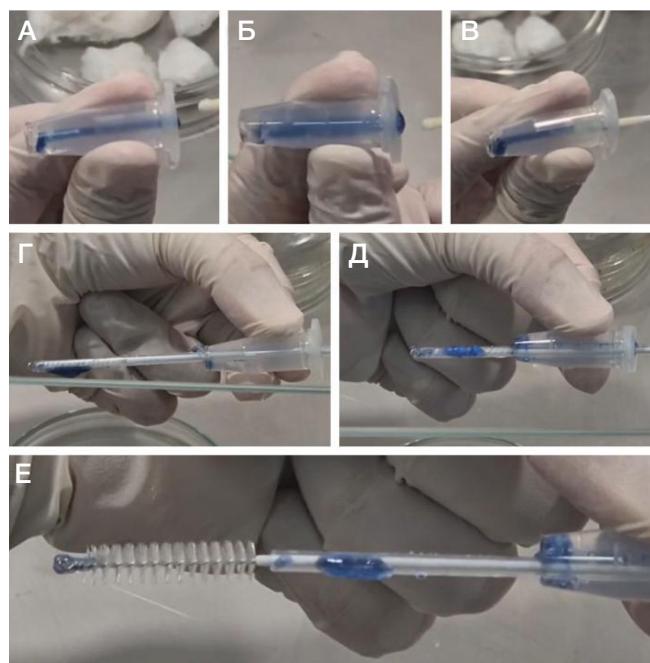


Рис. 1. Анатомические модели шейки матки с каналом, заполненным модельной желатин-алгинатной слизью. Для лучшей визуализации слизь окрашена водным раствором метиленового синего. **А.** Модель с цилиндрическим каналом. **Б.** Модель с щелевидным каналом. **В.** Взятие образца из цервикального канала универсальным зондом А2. **Г.** «Удачный» выход зондом типа Пайпель-С2 за пределы цервикального канала; зонд в закрытом виде, минимальное количество слизи на защитном проводнике. **Д.** «Неудачный» выход зондом типа Пайпель-С2 за пределы цервикального канала; зонд в закрытом виде, обильное количество слизи на защитном проводнике. **Е.** Попадание цервикальной слизи на щетку зонда из предыдущей панели после его раскрытия

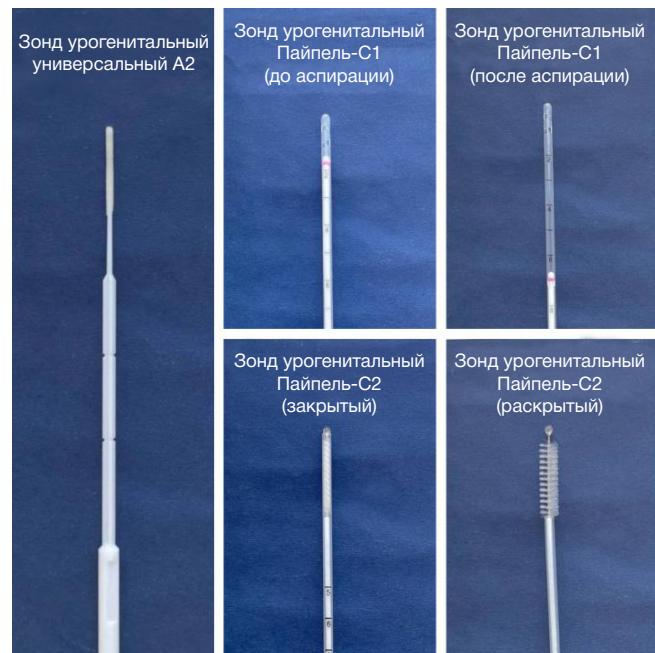


Рис. 2. Использованные для взятия биоматериала зонды. Универсальный урогенитальный зонд типа А2 для взятия модельной слизи из цервикального канала. Зонды типа Пайпель С1 и С2, использованные для отбора проб из полости матки. Зонды типа Пайпель показаны в двух состояниях: до прохождения цервикального канала (центральная панель) и после прохождения цервикального канала — в момент сбора биоматериала из полости матки (правая панель)

Технология», Россия). Результат представляли как медиану по всем экспериментальным образцам со значениями 1-го и 3-го квартилей.

Таблица 1. Микробный состав цервикальной слизи после взятия универсальным урогенитальным зондом типа А2 в моделях с цилиндрическим и щелевидным каналами. Количество микробной ДНК в ГЭ/образец (медиана, Q_1 – Q_3)

Параметр	Цилиндрический канал	Щелевидный канал	p
Общая бактериальная масса	$10^{4.9}$ ($10^{4.8}$ – $10^{5.0}$)	10^5 ($10^{4.9}$ – $10^{5.1}$)	0,128
<i>Lactobacillus</i> spp.	$10^{3.5}$ ($10^{3.2}$ – $10^{3.9}$)	$10^{3.7}$ ($10^{3.4}$ – $10^{3.9}$)	0,375
<i>Staphylococcus</i> spp.	$10^{3.4}$ ($10^{3.1}$ – $10^{3.7}$)	$10^{3.6}$ ($10^{3.2}$ – $10^{3.9}$)	0,41
Группа ЕЕ	$10^{4.3}$ ($10^{4.1}$ – $10^{4.6}$)	$10^{4.5}$ ($10^{4.4}$ – $10^{4.7}$)	0,199

Оценка эффективности зондов в предотвращении контаминации

Для оценки эффективности зондов в предотвращении контаминации цервикальной микробиотой для каждой модели рассчитывали процент переноса бактериальной ДНК из цервикальной слизи в свободную от бактериальной ДНК пробу полости матки по формуле:

$$\% \text{ переноса} = \frac{\text{ДНК}_{\text{MO, полость матки (C1/C2)}}}{\text{ДНК}_{\text{MO, цервикальная слизь (A2)}}} \times 100\%,$$

где % переноса — процент перенесенной ДНК-матрицы; $\text{ДНК}_{\text{MO, полость матки (C1/C2)}}$ — количество ДНК целевого микроорганизма в пробе «стерильной полости матки», отобранный исследуемым зондом С1 или С2; $\text{ДНК}_{\text{MO, цервикальная слизь (A2)}}$ — количество ДНК целевого микроорганизма в цервикальной слизи той же модели, отобранный универсальным зондом А2.

Статистический анализ

Статистическую обработку и визуализацию данных проводили в среде R версия 4.5.2 (R Foundation for Statistical Computing; Вена, Австрия). Количественные показатели представлены в виде медианы и значений 1-го и 3-го квартилей. Для сравнения двух независимых групп применяли непараметрический *U*-критерий Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исходный состав микробиоты моделей

Для оценки исходной контаминации цервикальной слизи отобрали образцы из всех 36 анатомических моделей

Таблица 2. Микробный состав цервикальной слизи в моделях, использованных для оценки эффективности зондов С1 и С2. Количество микробной ДНК в ГЭ/образец (медиана, Q_1 – Q_3)

Параметр	Тип С1 (Пайпель-биопсия)	Тип С2 (Эндобраш)	p
Общая бактериальная масса	10^5 ($10^{4.9}$ – $10^{5.1}$)	$10^{4.9}$ ($10^{4.8}$ – $10^{5.1}$)	0,612
<i>Lactobacillus</i> spp.	$10^{3.8}$ ($10^{3.4}$ – $10^{3.9}$)	$10^{3.6}$ ($10^{3.3}$ – $10^{3.8}$)	0,526
<i>Staphylococcus</i> spp.	$10^{3.1}$ ($10^{2.9}$ – $10^{3.4}$)	$10^{3.8}$ ($10^{3.5}$ – $10^{4.0}$)	< 0,001
Группа ЕЕ	$10^{4.6}$ ($10^{4.4}$ – $10^{4.8}$)	$10^{4.4}$ ($10^{4.2}$ – $10^{4.5}$)	0,049

Таблица 3. Эффективность урогенитальных зондов типа С1 и С2 в предотвращении контаминации микроорганизмами цервикальной слизи. Уровень контаминации, % переноса ДНК из цервикальной слизи (медиана, Q_1 – Q_3)

Параметр	Тип С1 (Пайпель-биопсия)	Тип С2 (Эндобраш)	p
Общая бактериальная масса	81,6 (54,4–107)	29,8 (14,8–56,3)	0,009
<i>Lactobacillus</i> spp.	25,8 (0–38,7)	36,2 (24,8–61,2)	0,078
<i>Staphylococcus</i> spp.	0 (0–0)	14,8 (0–27,2)	0,004
Группа ЕЕ	27,6 (11,5–38,7)	19 (9,6–29,4)	0,428

шейки матки (18 с цилиндрическим и 18 с щелевидным каналом) с помощью универсального зонда типа А2. Микробные составы образцов, отобранных из моделей с цилиндрическим и щелевидным каналами, статистически значимо не различались (табл. 1). Медианные уровни бактериальной ДНК были сопоставимы между группами моделей по всем исследуемым параметрам: ОБМ ($10^{4.9}$ и 10^5 , $p = 0,128$), *Lactobacillus* spp. ($10^{3.5}$ и $10^{3.7}$, $p = 0,375$), *Staphylococcus* spp. ($10^{3.4}$ и $10^{3.6}$, $p = 0,410$) и группе ЕЕ ($10^{4.3}$ и $10^{4.5}$, $p = 0,199$).

Эффективность зондов Пайпель-С1 и Пайпель-С2

Перед сравнительным анализом эффективности зондов С1 и С2 проводили проверку сопоставимости исходных моделей, предназначенных для их тестирования. Выявлено, что в группе моделей для зонда С1 исходное содержание *Staphylococcus* spp. было статистически значимо ниже ($10^{3.1}$ против $10^{3.8}$, $p < 0,001$), а бактерий группы ЕЕ — значимо выше ($10^{4.6}$ против $10^{4.4}$, $p = 0,049$), чем в группе для зонда С2. Уровни ОБМ (10^5 и $10^{4.9}$, $p = 0,612$) и *Lactobacillus* spp. ($10^{3.8}$ и $10^{3.6}$, $p = 0,526$) между группами значимо не различались (табл. 2).

При использовании зондов Пайпель-С1 наблюдали значительный перенос бактериальной ДНК из цервикальной слизи в стерильные образцы «полости матки». Уровень переноса ОБМ варьировал от 14 до 172% (медиана — 81,6%, Q_1 – Q_3 : 54,4–107%; табл. 3). В 12 из 18 моделей перенос составил менее 100%, в шести пробах количество ОБМ в стерильных образцах полости матки превысило исходный уровень в цервикальной слизи. Уровень переноса ДНК специфичных групп бактерий составил для *Lactobacillus* spp. — 25,8% (0–38,7%), для группы ЕЕ — 27,6% (11,5–38,7%), для *Staphylococcus* spp. — 0% (0–0%), в 100% случаев ниже порога детекции (10^3 ГЭ/образец).

При использовании зондов Пайпель-С2 отмечали перенос от 3,9 до 131% бактериальной ДНК (ОБМ) из

Таблица 4. Эффективность зондов Пайпель-С1 и С2 в зависимости от формы цервикального канала. Уровень контаминации, % переноса ДНК из цервикальной слизи (медиана, Q_1 – Q_3)

Параметр	Цилиндрический канал	Щелевидный канал	<i>p</i>
Зонд Пайпель-С1			
Общая бактериальная масса	71,3 (54,4–107)	81,6 (54,4–107)	0,73
<i>Lactobacillus</i> spp.	0 (0–29,6)	35,2 (25,8–67,1)	0,032
<i>Staphylococcus</i> spp.	0 (0–0)	0 (0–0)	0,35
Группа ЕЕ	19,7 (4,7–27,6)	37,5 (32,4–51,7)	0,027
Зонд Пайпель-С2			
Общая бактериальная масса	50,8 (24,1–100)	17,2 (9,3–33,8)	0,052
<i>Lactobacillus</i> spp.	41,5 (31,6–76,3)	33,8 (22,5–41,5)	0,309
<i>Staphylococcus</i> spp.	19,7 (0–44,4)	10 (0–24,1)	0,413
Группа ЕЕ	19,7 (18,4–62,2)	16,1 (8,2–19,7)	0,136

цервикальной слизи в стерильные образцы полости матки (медиана — 29,8%, Q_1 – Q_3 : 14,8–56,3%, статистически значимо меньше, чем для типа С1, $p = 0,009$; табл. 3). В 12 из 18 моделей перенос составил менее 50%, в четырех пробах — от 50 до 100%, в двух пробах количество ОБМ в стерильных образцах полости матки превысило исходный уровень в цервикальной слизи. Уровень переноса для *Lactobacillus* spp. и группы ЕЕ был сопоставим с показателями зонда С1 и составил 36,2% (24,8–61,2%) и 19% (9,6–29,4%) соответственно. Уровень переноса *Staphylococcus* spp. оказался значимо выше, чем для зондов С1, и составил 14,8% (0–27,2%) ($p = 0,004$).

Влияние формы канала на эффективность зондов Пайпель-С1 и Пайпель-С2

Зонды С1 и С2 различались по эффективности в зависимости от формы цервикального канала и группы микроорганизмов (табл. 4).

Для зонда С1 в цилиндрических каналах наблюдали значительно меньший уровень контаминации *Lactobacillus* spp. (0% против 35,2%, $p = 0,032$) и группой ЕЕ (19,7% против 37,5%, $p = 0,027$). Для *Staphylococcus* spp. (0% против 0%, $p = 0,350$) и ОБМ (71,3% против 81,6%, $p = 0,730$) значимых различий между формами каналов не выявлено.

Для зонда С2, напротив, отмечена тенденция к лучшим показателям в щелевидных каналах по уровню контаминации ОБМ (17,2% против 50,8%, $p = 0,052$), тогда как для остальных параметров уровня контаминации были сопоставимы между моделями с цилиндрическим и щелевидным каналами: *Lactobacillus* spp. (41,5% против 33,8%, $p = 0,309$), *Staphylococcus* spp. (19,7% против 10%, $p = 0,413$) и группа ЕЕ (19,7% против 16,1%, $p = 0,136$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В большинстве исследований микробиоты эндометрия перед трансцервикальным взятием пробы предпринимаются меры по снижению риска контаминации, включая визуальный контроль и обработку физиологическим раствором/антисептиками [6, 7, 9–13, 15–22]. Однако вызывает сомнение эффективность антисептиков в деконтаминации в силу короткой экспозиции, особенно в случае молекулярно-генетических исследований, которые детектируют ДНК как живых, так и погибших микроорганизмов. Скорее эффект антисептиков будет обусловлен только механическим удалением части микробных клеток. Авторы ряда работ дополнительно анализируют микробиоту влагалища

и/или цервикального канала [6, 13, 14, 16, 17, 19, 22], что позволяет выявить грубые случаи контаминации из дистальных отделов, но не решает проблему смешения микробиот разных анатомических ниш.

Изначальное назначение зондов типа Пайпель С1/С2 — взятие образцов эндометрия для гистологических или цитологических исследований [27, 28]. Аспирацию образца в случае использования зонда типа С1 производят только после прохождения цервикального канала [27]. Зонд типа С2 снабжен специальным 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. Данные конструктивные решения позволяют минимизировать попадание в образец клеток цервикального происхождения.

При использовании зондов С1/С2 для микробиологического исследования эндометрия предполагается, что их конструкция обеспечит защиту от контаминации цервикальной микробиотой. Однако в этом случае необходимо учитывать два критических нюанса: заведомо меньшее количество бактерий в полости матки по сравнению с цервикальным каналом [4] и невозможность дифференцировать происхождение бактерий в образце (в отличие от гисто- и цитологических исследований, где клетки цервикса и эндометрия различаются по морфологии).

Для оценки реального риска контаминации в полностью контролируемых условиях, исключающих ограничения клинических методов контроля, нами была разработана экспериментальная *in vitro* модель, имитирующая прохождение через цервикальный канал, заполненный слизью с бактериями (рис. 1). Растворимость использованной в моделях цервикальной слизи составляла 1–2 см, что соответствовало средней растворимости реальной цервикальной слизи в пролиферативную фазу менструального цикла [29]. Общее количество бактериальной ДНК (ОБМ) в образцах модельной слизи составляло 10^5 ГЭ/образец, что соответствовало медианному уровню ОБМ в цервикальных образцах женщин при использовании аналогичной ПЦР тест-системы в ранее проведенных нами исследованиях (неопубликованные данные). Возможное присутствие в геле нецелевой бактериальной ДНК не являлось препятствием для решения поставленной задачи, поскольку контаминацию оценивали по проценту микробной ДНК-матрицы, перенесенной в эндометриальную пробу из пробы цервикальной слизи той же модели.

Медианный уровень переноса бактериальной ДНК из цервикальной слизи в образцы полости матки составил 81,6% и 29,8% для зондов типа С1 и С2 соответственно (табл. 3). Обычно количество бактериальной ДНК в пробах из полости матки не превышает или ниже количества бактериальной ДНК в цервикальном канале [4, 5], поэтому такой перенос приводит к существенному или даже критическому искажению результатов. При использовании зондов С1 фактически вместо исследования эндометриального образца происходило повторное исследование пробы из цервикального канала. В шести из 18 случаев взятия зондами типа С1 и в двух из 18 случаев взятия зондами типа С2 концентрация бактериальной ДНК в эндометриальной пробе оказалась даже выше, чем в цервикальной пробе, что может быть связано с более эффективным взятием цервикальной слизи зондами С1/С2 по сравнению с зондом А2 для данных пар образцов.

Уровни переноса ДНК *Lactobacillus* spp. и группы ЕЕ значимо не отличались при использовании зондов С1 и С2: медианные уровни переноса составили 19–36,2%. Для *Staphylococcus* spp. уровень переноса для зондов С1 оказался значимо ниже, чем для зондов С2 (0% против 14,8%, $p = 0,004$). Однако эти различия, вероятнее всего, объяснимы исходно низким содержанием *Staphylococcus* spp. в моделях, использованных для тестирования зондов С1 ($10^{3,1}$ против $10^{3,8}$ в моделях для зондов С2, $p < 0,001$) (табл. 2). Разница в исходных концентрациях, в свою очередь, вероятно, обусловлена разрушением стафилококков с деградацией их ДНК в исходной смеси микроорганизмов, которая хранилась в холодильнике в течение трех недель между сериями экспериментов (серия экспериментов с зондами С1 была проведена после получения результатов экспериментов с зондами С2). При аналитической чувствительности использованной ПЦР тест-системы 10^3 ГЭ/образец практически любое снижение от исходной концентрации $10^{3,1}$ приводило к отрицательному результату для данной группы микроорганизмов.

Результаты исследования продемонстрировали зависимость между формой цервикального канала и уровнем переноса бактериальной ДНК (табл. 4). При использовании зондов С1 отмечен значимо больший перенос ДНК *Lactobacillus* spp. и группы ЕЕ в случае щелевидной формы каналов (типичная форма цервикального канала для рожавших женщин). Тогда как при использовании зондов типа С2 отмечали тенденцию к большему переносу ОБМ для моделей шеек матки с цилиндрической формой каналов (типичная форма цервикального канала у нерожавших женщин).

Следует отметить, что нам скорее всего не удалось полностью воссоздать реальные условия: сопротивление стенок цервикального канала, химический состав и точные реологические свойства слизи, возможный градиент микроорганизмов в цервикальном канале. Следовательно, полученные значения процента переноса бактериальной ДНК не могут быть напрямую экстраполированы на клиническую практику. Тем не менее, результаты убедительно демонстрируют, что взятие биоматериала из полости матки зондами типа Пайпель-С1 и Пайпель-С2 всегда сопровождается переносом части

цервикальной микробиоты в эндометриальный образец. Основная контаминация при взятии пробы зондом С2, по всей видимости, происходит после прохождения цервикального канала — в момент раскрытия зонда в полости матки на щетку попадает цервикальная слизь, налипшая на защитный проводник во время прохождения цервикального канала (рис. 1Д, Е). Можно предположить, что аналогичная проблема возникает и при использовании других вариантов трансцервикального взятия образцов, поскольку любое устройство для взятия фиксирует на себе и проталкивает цервикальную слизь в полость матки. Более того, трансцервикальное взятие биоматериала в секреторную фазу, может приводить к еще большей контаминации из-за увеличения растяжимости слизи [29].

Установленный факт контаминации цервикальной микробиотой при использовании зондов типа Пайпель С1/С2, с одной стороны, ставит под сомнение эндометриальное происхождение микробиоты в подобных образцах, а с другой — подтверждает реальный риск ятогенного заноса инфекции в полость матки при выполнении данной процедуры. В связи с принципиальной невозможностью разделения цервикальной и эндометриальной микробиоты в полученных образцах представляется логичной переориентация исследований с анализа «микробиоты эндометрия» на изучение совокупной цервико-эндометриальной микробиоты в общем образце, взятом одновременно из цервикального канала и полости матки.

ВЫВОДЫ

В проведённом исследовании урогенитальные зонды типа Пайпель-С1 и Пайпель-С2 не обеспечивали надежной защиты эндометриальных образцов от контаминации цервикальной микробиотой. Оба типа зондов пропускали значительное количество бактериальной ДНК: медианный уровень переноса составил 81,6% для С1 и 29,8% для С2. Хотя для зонда С2 отмечали 2,5–3-кратное превосходство в эффективности по сравнению с С1, уровень контаминации в 29,8% до сих пор является критическим, учитывая что у большинства пациенток количество микроорганизмов в полости матки заведомо ниже, чем в цервикальном канале. Эффективность зондов зависела от анатомической формы цервикального канала и исследуемой группы микроорганизмов: для зонда С1 эффективность значимо снижалась в щелевидных каналах для *Lactobacillus* spp. и *Enterococcus/Enterobacteriaceae*, тогда как для зонда С2 отмечена тенденция к ухудшению показателей в цилиндрических каналах по уровню общей бактериальной контаминации. Полученные данные заставляют переосмыслить результаты исследования микробиоты полости матки в образцах, полученных с помощью зондов типов Пайпель-С1 и Пайпель-С2, а также других способов трансцервикального отбора проб. В качестве конструктивной альтернативы представляется целесообразным переориентировать исследования с анализа микробиоты эндометрия на изучение совокупной цервико-эндометриальной микробиоты в общем образце, взятом одновременно из цервикального канала и полости матки, что позволит избежать методологических артефактов, связанных с контаминацией.

Литература

- Mitchell CM, Haick A, Nkwopara E, Garcia R, Rendi M, Agnew K, et al. Colonization of the upper genital tract by vaginal bacterial species in nonpregnant women. *Am J Obstet Gynecol*. 2015; 212 (5): 611.e1–611.e9.
- Polifke A, Schwedler A von, Gulba R, Bensmann R, Dilthey A, Nassar NN, et al. Differential characteristics of vaginal versus endometrial microbiota in IVF patients. *Sci Rep*. 2024; 14 (1).
- Franasiak JM, Scott RT. Endometrial microbiome. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2017; 29 (3): 146–52.
- Chen C, Song X, Wei W, Zhong H, Dai J, Lan Z, et al. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. *Nat Commun*. 2017; 8: 875.
- Winters AD, Romero R, Gervasi M, Gomez-Lopez N, Tran MR, Garcia-Flores V, et al. Does the endometrial cavity have a molecular microbial signature? *Sci Rep*. 2019; 9: 9905.
- Riganelli L, Iebba V, Piccioni M, Illuminati I, Bonfiglio G, Neroni B, et al. Structural Variations of Vaginal and Endometrial Microbiota: Hints on Female Infertility. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020; 10: 350.
- Кебурия Л. К., Смольникова В. Ю., Припутневич Т. В., Муравьева В. В., Трофимов Д. Ю., Шубина Е. С. и др. Микробиота полости матки и неудачи имплантации. Есть ли связь? Акушерство и гинекология. 2021; 7: 133–43.
- Тапильская Н. И., Будиловская О. В., Крысанова А. А., Толивова Г. Х., Копылова А. А., Цыпурдева Н. Д. и др. Микробиота эндометрия женщин с хроническим эндометритом и идиопатическим бесплодием. Акушерство и гинекология. 2020; 4: 72–81.
- Qiu T, Liu L, Zhou H, Sheng H, He Y, Liu M, et al. Analysis of endometrial microbiota in intrauterine adhesion by high-throughput sequencing. *Ann Transl Med*. 2021; 9 (3): 195.
- Ванакова А. И., Долгушина Н. В., Денисов П. А., Гончарук О. Д., Муравьева В. В., Припутневич Т. В. Особенности микробиоты полости матки у пациенток с полипами эндометрия. Вестник Российского государственного медицинского университета. 2025; 1 (6): 6.
- Verstraelen H, Vilchez-Vargas R, Desimpel F, Jauregui R, Vankeirsbilck N, Weyers S, et al. Characterisation of the human uterine microbiome in non-pregnant women through deep sequencing of the V1-2 region of the 16S rRNA gene. *Peer J*. 2016; 4: e1602.
- Ворошилина Е. С., Зорников Д. Л., Колосова О. В., Исламиди Д. К., Игнатова К. Ю., Абакумова Е. И. и др. Возможности оценки микробиоты полости матки с использованием ПЦР в реальном времени. Вестник РГМУ. 2020; 1: 14–21.
- Карахалис Л. Ю., Кононенко Т. С. Таксономический профиль микробиома эндометрия при хроническом эндометрите. Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения. 2022; 10 (4): 23–30.
- Peuranpää P, Holster T, Saqib S, Kalliala I, Tiitinen A, Salonen A, et al. Female reproductive tract microbiota and recurrent pregnancy loss: a nested case-control study. *Reproductive BioMedicine Online*. 2022; 45 (5): 1021–1031.
- Bui BN, van Hoogenhuijze N, Viveen M, Mol F, Teklenburg G, de Bruin J-P, et al. The endometrial microbiota of women with or without a live birth within 12 months after a first failed IVF/ICSI cycle. *Scientific reports*. 2023; 13 (1): 3444.
- Jain M, Mladova E, Dobychina A, Kirillova K, Shichanina A, Anokhin D, et al. Comparison of microbial profiles and viral status along the vagina-cervix-endometrium continuum of infertile patients. *Systems Biology in Reproductive Medicine*. 2023; 69 (4): 310–19.
- Zhang R, Wang M, Zhong J, Xue H. Altered endometrial microbiota profile is associated with poor endometrial receptivity of repeated implantation failure. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2024; 92 (5): e70005.
- Zhao Y, Liao Y, Xu G, Wang Y. Endometrial microbiota alteration in female patients with endometrial polyps based on 16S rRNA gene sequencing analysis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2024; 14: 1351329.
- Крысанова А. А., Сторожева К. В., Будиловская О. В., Хуснутдинова Т. А., Шалепо К. В., Тапильская Н. И. и др. Архитектоника микробиоты эндометрия у женщин с бесплодием различного генеза. Клиническая лабораторная диагностика. 2024; 69 (9): 478–86.
- Ying X, et al. An altered uterine microbiota with endometrial hyperplasia. *BMC Microbiol*. 2024; 24 (1): 258.
- Liu Y, Wong KKW, Ko EYL, Chen X, Huang J, Tsui SKW, et al. Systematic comparison of bacterial colonization of endometrial tissue and fluid samples in recurrent miscarriage patients: implications for future endometrial microbiome studies. *Clin Chem*. 2018; 64 (12): 1743–52.
- Reschini M, Benaglia L, Ceriotti F, Borroni R, Ferrari S, Castiglioni M, et al. Endometrial microbiome: sampling, assessment, and possible impact on embryo implantation. *Sci Rep*. 2022; 12: 8467.
- Moreno I, et al. The first glimpse of the endometrial microbiota in early pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2020; 222 (4): 296–305.
- Zhang H, Zou H, Zhang C, Li X, Wang Z, Liu C, et al. Chronic endometritis and the endometrial microbiota: implications for reproductive success in patients with recurrent implantation failure. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2024; 23: 49.
- Khan KN, Fujishita A, Masumoto H, Muto H, Kitajima M, Masuzaki H, et al. Molecular detection of intrauterine microbial colonization in women with endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2016; 199: 69–75.
- Lee S, et al. The reproductive tract microbiome in women with polycystic ovary syndrome and across different menstrual cycle phases. *Hum Reprod*. 2025; 40 (3): 518–28.
- Cornier E. The Pipelle: a disposable device for endometrial biopsy. *Am J Obstet Gynecol*. 1984; 148 (1): 109–10.
- Vuopala S, Klemi PJ, Mäenpää J, Salmi T, Mäkäräinen L. Endobrush sampling for endometrial cancer. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1989; 68 (4): 345350.
- Cohen MR, Stein IF, Kaye BM. Spinnbarkeit: A Characteristic of Cervical Mucus: Significance at Ovulation Time. *Fertil Steril*. 1952; 3 (3): 201–09.

References

- 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; 212 (5): 611.e1–611.e9.
- Polifke A, Schwedler A von, Gulba R, Bensmann R, Dilthey A, Nassar NN, et al. Differential characteristics of vaginal versus endometrial microbiota in IVF patients. *Sci Rep*. 2024; 14 (1).
- Franasiak JM, Scott RT. Endometrial microbiome. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2017; 29 (3): 146–52.
- Chen C, Song X, Wei W, Zhong H, Dai J, Lan Z, et al. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. *Nat Commun*. 2017; 8: 875.
- Winters AD, Romero R, Gervasi M, Gomez-Lopez N, Tran MR, Garcia-Flores V, et al. Does the endometrial cavity have a molecular microbial signature? *Sci Rep*. 2019; 9: 9905.
- Riganelli L, Iebba V, Piccioni M, Illuminati I, Bonfiglio G, Neroni B, et al. Structural Variations of Vaginal and Endometrial Microbiota: Hints on Female Infertility. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020; 10: 350.
- Кебурия Л. К., Смольникова В. Ю., Припутневич Т. В., Муравьева В. В., Трофимов Д. Ю., Шубина Е. С. и др. Микробиота полости матки и неудачи имплантации. Есть ли связь? Акушерство и гинекология. 2021; 7: 133–43. Russian.
- Тапильская Н. И., Будиловская О. В., Крысанова А. А., Толивова Г. Х., Копылова А. А., Цыпурдева Н. Д. и др. Микробиота эндометрия при хроническом эндометрите. Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения. 2022; 10 (4): 23–30. Russian.
- Peuranpää P, Holster T, Saqib S, Kalliala I, Tiitinen A, Salonen A, et al. Female reproductive tract microbiota and recurrent pregnancy loss: a nested case-control study. *Reproductive BioMedicine Online*. 2022; 45 (5): 1021–1031.
- Riganelli L, Iebba V, Piccioni M, Illuminati I, Bonfiglio G, Neroni B, et al. Structural Variations of Vaginal and Endometrial Microbiota: Hints on Female Infertility. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020; 10: 350.
- Кебурия Л. К., Смольникова В. Ю., Припутневич Т. В., Муравьева В. В., Трофимов Д. Ю., Шубина Е. С. и др. Микробиота полости матки и неудачи имплантации. Есть ли связь? Акушерство и гинекология. 2021; 7: 133–43. Russian.
- Tapilskaya NI, Budilovskaya OV, Krysanova AA, Tolibova GH, Kopylova AA, Cypurdeeva ND, i dr. Mikrobiota endometriya zhenshchin s hronicheskim endometritom i idiopaticheskim besplodiem. Akusherstvo i ginekologiya. 2020; 4: 72–81. Russian.
- Qiu T, Liu L, Zhou H, Sheng H, He Y, Liu M, et al. Analysis of endometrial microbiota in intrauterine adhesion by high-throughput sequencing. *Ann Transl Med*. 2021; 9 (3): 195.
- Vanakova AI, Dolgushina NV, Denisov PA, Goncharuk OD,

- Muraveva VV, Priputnevich TV. Osobennosti mikrobioty polosti matki u pacientok s polipami endometriya. *Vestnik Rossijskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*. 2025; 1 (6): 6. Russian.
11. Verstraelen H, Vilchez-Vargas R, Desimpel F, Jauregui R, Vankeirsbilck N, Weyers S, et al. Characterisation of the human uterine microbiome in non-pregnant women through deep sequencing of the V1-2 region of the 16S rRNA gene. *Peer J*. 2016; 4: e1602.
 12. Voroshilina ES, Zornikov DL, Koposova OV, Islamidi DK, Ignatova KYu, Abakumova EI, i dr. Vozmozhnosti ocenki mikrobioty polosti matki s ispol'zovaniem PCR v real'nom vremeni. *Vestnik RGMU*. 2020; 1: 14–21. Russian.
 13. Karahalis LYu, Kononenko TS. Taksonomicheskij profil' mikrobioma endometriya pri hronicheskem endometrite. *Akusherstvo i ginekologiya: Novosti. Mneniya. Obucheniya*. 2022; 10 (4): 23–30. Russian.
 14. Peurapää P, Holster T, Saqib S, Kalliala I, Tiiainen A, Salonen A, et al. Female reproductive tract microbiota and recurrent pregnancy loss: a nested case-control study. *Reproductive BioMedicine Online*. 2022; 45 (5): 1021–1031.
 15. Bui BN, van Hoogenhuijze N, Viveen M, Mol F, Teklenburg G, de Bruin J-P, et al. The endometrial microbiota of women with or without a live birth within 12 months after a first failed IVF/ICSI cycle. *Scientific reports*. 2023; 13 (1): 3444.
 16. Jain M, Mladova E, Dobychina A, Kirillova K, Shichanina A, Anokhin D, et al. Comparison of microbial profiles and viral status along the vagina-cervix-endometrium continuum of infertile patients. *Systems Biology in Reproductive Medicine*. 2023; 69 (4): 310–19.
 17. Zhang R, Wang M, Zhong J, Xue H. Altered endometrial microbiota profile is associated with poor endometrial receptivity of repeated implantation failure. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2024; 92 (5): e70005.
 18. Zhao Y, Liao Y, Xu G, Wang Y. Endometrial microbiota alteration in female patients with endometrial polyps based on 16S rRNA gene sequencing analysis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2024; 14: 1351329.
 19. Krysanova AA, Storozheva KV, Budilovskaya OV, Husnutdinova TA, SHalepo KV, Tapiskaya NI, i dr. Arhitektonika mikrobioti endometriya u zhenshchin s besplodiem razlichnogo geneza. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2024; 69 (9): 478–86.
 20. Ying X, et al. An altered uterine microbiota with endometrial hyperplasia. *BMC Microbiol*. 2024; 24 (1): 258.
 21. Liu Y, Wong KKW, Ko EYL, Chen X, Huang J, Tsui SKW, et al. Systematic comparison of bacterial colonization of endometrial tissue and fluid samples in recurrent miscarriage patients: implications for future endometrial microbiome studies. *Clin Chem*. 2018; 64 (12): 1743–52.
 22. Reschini M, Benaglia L, Ceriotti F, Borroni R, Ferrari S, Castiglioni M, et al. Endometrial microbiome: sampling, assessment, and possible impact on embryo implantation. *Sci Rep*. 2022; 12: 8467.
 23. Moreno I, et al. The first glimpse of the endometrial microbiota in early pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2020; 222 (4): 296–305.
 24. Zhang H, Zou H, Zhang C, Li X, Wang Z, Liu C, et al. Chronic endometritis and the endometrial microbiota: implications for reproductive success in patients with recurrent implantation failure. *Ann Clin MicrobiolAntimicrob*. 2024; 23: 49.
 25. Khan KN, Fujishita A, Masumoto H, Muto H, Kitajima M, Masuzaki H, et al. Molecular detection of intrauterine microbial colonization in women with endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2016; 199: 69–75.
 26. Lee S, et al. The reproductive tract microbiome in women with polycystic ovary syndrome and across different menstrual cycle phases. *Hum Reprod*. 2025; 40 (3): 518–28.
 27. Cornier E. The Pipelle: a disposable device for endometrial biopsy. *Am J Obstet Gynecol*. 1984; 148 (1): 109–10.
 28. Vuopala S, Klemi PJ, Mäenpää J, Salmi T, Mäkäräinen L. Endobrush sampling for endometrial cancer. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1989; 68 (4): 345350.
 29. Cohen MR, Stein IF, Kaye BM. Spinnbarkeit: A Characteristic of Cervical Mucus: Significance at Ovulation Time. *Fertil Steril*. 1952; 3 (3): 201–09.