

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

Original articles

Научная статья

УДК 616-076

DOI: 10.14489/lcmp.2023.02.pp.004-011

РЕЗУЛЬТАТИВНОСТЬ МОДИФИКАЦИИ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЛАБОРАТОРНОГО ЭТАПА ПЦР С ЦЕЛЬЮ ВЫЯВЛЕНИЯ СКРЫТЫХ УРОГЕНИТАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ У МУЖЧИН

Д. Г. Почерников¹, Н. Т. Постовойтенко², Ж. Ю. Давидова³

¹ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России, Иваново, Россия, urologkmn@mail.ru

²Клиника «Мать и Дитя», Владимир, Россия, nikpostov@mail.ru

³Подольский диагностический центр, Подольск, Россия, icsschool.2019@gmail.com

Цель исследования. Оценить диагностические возможности выявления микроорганизмов в цельном эякуляте и его осадке.

Материалы и методы. Было обследовано 42 мужчины-волонтера, в возрасте от 28 до 69 лет, состоявших в браке и имевших детей. Мужчины обращались в целях профилактического осмотра и для исключения бессимптомных инфекций мужских добавочных половых желез. У всех пациентов отсутствовали активные жалобы, характерные для воспалительных заболеваний мочеполового тракта. Исследование цельного эякулята и его осадка выполнено методом ПЦР в режиме реального времени на амплификаторах ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) с применением теста Андрофлор[®].

Результаты. Значение общей бактериальной массы в осадке эякулята статистически не значимо больше по сравнению с цельным эякулятом ($p > 0,05$). *Candida spp.* статистически значимо чаще встречалась в осадке спермы ($p < 0,05$). Также в осадке чаще выявлялись *Enterobacteriaceae spp.* / *Enterococcus spp.*, *Haemophilus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Bacteroides spp.* / *Porphyromonas spp.* / *Prevotella spp.* и *Anaerococcus spp.* ($p > 0,05$). В 11,9 % наблюдений при отсутствии бактерий в цельном эякуляте, в его осадке были идентифицированы микроорганизмы в низких титрах.

Заключение. Согласно полученным данным, результативность биологического образца осадка эякулята выше по сравнению с цельным образцом. Предложенная модификация преаналитического лабораторного этапа методики ПЦР, а именно диагностика осадка эякулята с помощью МАНК/ПЦР-РВ-Андрофлор позволяет более точно определить возбудителей, в том числе персистирующих в виде биопленок в добавочных мужских половых железах, даже в низких концентрациях.

Ключевые слова: Андрофлор, ПЦР, ПЦР в реальном времени, цельный эякулят, осадок эякулята, инфекции добавочных мужских половых желез, бессимптомная бактериоспермия.

Для цитирования: Почерников Д.Г., Постовойтенко Н.Т., Давидова Ж.Ю. Результативность модификации преаналитического лабораторного этапа ПЦР с целью выявления скрытых урогенитальных инфекций у мужчин // Лабораторная и клиническая медицина. Фармация. 2023. Т. 3, № 2. С. 4 – 11. DOI: 10.14489/lcmp.2023.02.pp.004-011

Research Article

THE BENEFITS FROM UPDATE LABORATORY PREANALYTICAL STAGE IN PCR ON THE WAY TO IDENTIFY OCCULT UROLOGICAL INFECTIONS IN MALE

D. G. Pochernikov¹, N. T. Postovoitenko², Zh. Yu. Davidova³

¹Department of Faculty Surgery and Urology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Ivanovo State Medical Academy" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Ivanovo, Russia

²The «Mother and Child» Vladimir clinic, Vladimir, Russia

³Podolsk Diagnostic Center, Head of Clinical Diagnostic Laboratory, Podolsk, Russia

Aim of the study. Assess the diagnostic capabilities of detecting microorganisms in the wild ejaculate and sediment ejaculate.

Materials and methods. 42 male volunteers were examined, aged 28 to 69, who were married and had children. Men applied for a preventive examination and to exclude asymptomatic male accessory gland infections. All patients had no active complaints characteristic of inflammatory diseases of the genitourinary tract. The study of the wild ejaculate and sediment ejaculate was performed by PCR real-time on DT-96 amplifiers (NPO DNA-Technology LLC, Russia) using the Androflor[®] test.

Results. The value of the total bacterial mass in the sediment of the ejaculate is not statistically significantly higher compared to the wild ejaculate ($p > 0.05$). *Candida* spp. was statistically significantly more common in semen sediment ($p < 0.05$). In the sediment of the ejaculate were more often identified *Enterobacteriaceae* spp. / *Enterococcus* spp., *Haemophilus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Bacteroides* spp. / *Porphyromonas* spp. / *Prevotella* spp. and *Anaerococcus* spp. ($p > 0.05$). In 11.9 % of observations, in the absence of bacteria in the wild ejaculate, microorganisms in low titers were identified in sediment ejaculate.

Conclusion. According to the data obtained, the performance of the biological sample of the ejaculate sediment is higher compared to the sample of the wild ejaculate. The proposed modification of the preanalytical laboratory stage of the PCR technique, namely the diagnosis of ejaculate sediment using PCR real-time with the Androflor[®] test, makes it possible to more accurately determine pathogens, including those persisting in the form of biofilms in male accessory gland, even at low concentrations.

Key words: Androflor, PCR, PCR real-time, wild ejaculate, sediment ejaculate, male accessory gland infections, asymptomatic bacteriospermia.

For citation: Pochernikov DG, Postovoitenko NT, Davidova ZhYu. The benefits from update laboratory preanalytical stage in PCR on the way to identify occult urological infections in male. *Laboratory and Clinical Medicine. Pharmacy.* 2023;3(2):4-11. (In Russ). DOI: 10.14489/lcmp.2023.02.pp.004-011

Актуальность

С 2016 года в лабораторную и клиническую практику внедрен метод амплификации нуклеиновых кислот с полимеразно-цепной реакцией в режиме реального времени с тестом Андрофлор[®] у мужчин (МАНК/ПЦР-РВ-Андрофлор) [1]. Эта методика позволила значительно расширить спектр выявляемых микроорганизмов в мужских добавочных половых железах (МДПЖ), включая труднокультивируемые, и детализировать количественную оценку условно-патогенных бактерий [2]. Получение точного результата анализа любого лабораторного метода напрямую зависит от необходимости соблюдения требований внелабораторного преаналитического этапа, в том числе от выбора биоматериала для исследования и методики

взятия [1, 2]. По данным литературы, бактериоспермия у мужчин в бесплодном браке встречается от 20 до 51,7 % случаев [3 – 5]. В клинических рекомендациях последних лет [6, 7] для верификации бактерий мочеполового тракта у супружеских пар, проходящих прегравидарную подготовку или страдающих бесплодием, с подозрением на инфекции добавочных половых желез (male accessory gland infection – MAGI) широко используется МАНК/ПЦР-РВ [2, 7]. В настоящее время для поиска этиологического фактора простатита используется эякулят [6 – 8], как наиболее информативный и доступный биоматериал, но по данным литературы и клиническому опыту в 10 – 15 % случаев полученные результаты остаются неинформативными [9 – 15]. Для улучшения качества диагностики в настоящее время стало возможным использование

не только цельного эякулята (ЦЭя), но и осадка эякулята (ОЭя), как наиболее концентрированного и лишенного высокобелковой спермоплазмы образца, в целях дальнейшего цитологического, молекулярно-генетического и микробиологического исследования [12 – 15].

Цель исследования. Оценить диагностические возможности выявления микроорганизмов в ЦЭя и ОЭя.

Материалы и методы. Обследовано 42 мужчины-волонтера, в возрасте от 28 до 69 лет ($41,1 \pm 10,5$), обратившихся для профилактического осмотра и исключения бессимптомных инфекций МДПЖ. У всех пациентов отсутствовали активные жалобы, характерные для специфического или неспецифического уретрита, хронического или острого простатита, орхита, эпидидимита. Все мужчины были в браке и имели от одного до трех здоровых детей; не имели в анамнезе венерические заболевания и инфекции, передаваемые половым путем (ИППП). Критерием исключения из исследования было применение пациентами антибактериальных, иммунотропных и противовирусных препаратов за последние четыре недели до обследования. Для исследования пациенты собирали сперму согласно методическим рекомендациям [1]. Перед сбором эякулята мужчины проводили туалет наружных половых органов, мочились, полностью опорожнив мочевого пузырь. Сперму получали методом мастурбации, размещали в стерильные контейнеры и в течение суток с момента отбора образцов с соблюдением

холодовой цепи $+2 \dots +8 \text{ }^\circ\text{C}$ доставляли в научно-исследовательскую лабораторию ООО «НПО ДНК-Технология» (Москва, Россия) [1]. Для получения осадка эякулята нативную сперму переносили из транспортировочных контейнеров в конусовидные одноразовые полипропиленовые пробирки, центрифугировали при 1500 об/мин 15 мин на центрифуге (СИА «ЭЛМИ», Латвия), стерильной пипеткой Пастера удаляли надосадочную жидкость (спермоплазму), далее 50 мкл ОЭя переносили стерильным наконечником с помощью дозатора в пробирку типа Эппендорф с транспортной средой для последующего теста Андрофлор® при повторном стандартном центрифугировании при 17 000 об/мин. Исследование проводилось на амплификаторах ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Статистический анализ данных проведен с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2013 и Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.) с применением непараметрического метода математической статистики Хи-квадрат Пирсона. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. Значение общей бактериальной массы (ОБМ) в ОЭя и ЦЭя составило $10^{3,5 \pm 2,1}$ ГЭ/мл, $10^{3,2 \pm 2,1}$ ГЭ/мл соответственно, что статистически не значимо ($p > 0,05$). Значимая бактериоспермия ($\text{ОБМ} \geq 10^4$ ГЭ/мл) в ЦЭя встречалась в 17 случаях (17; 40,5%), в ОЭя – в 15 случаях (15; 35,7%), что также статистически незначимо ($p > 0,05$).

На рис. 1 представлена встречаемость бактерий в ЦЭя и ОЭя. При сравнении встречаемости

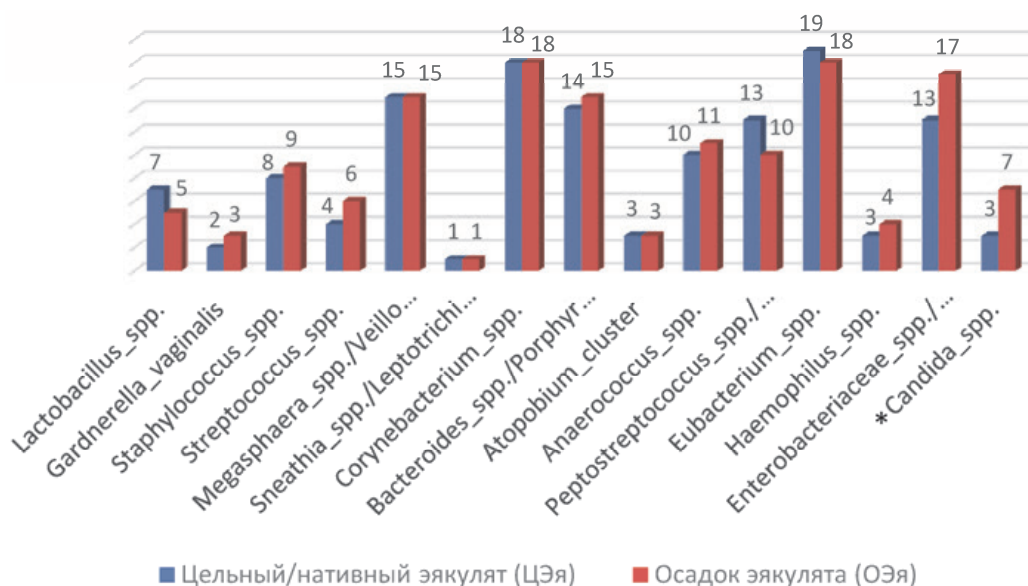


Рис. 1. Встречаемость микроорганизмов в нативном эякуляте (ЦЭя) и его осадке (ОЭя) по результатам ПЦР-РВ с тестом Андрофлор®

Fig. 1. The occurrence of microorganisms in the wild ejaculate and ejaculate sediment according to the results of PCR-RT-Androflor®

микроорганизмов между ЦЭя и ОЭя статистически значимые различия выявлены только по *Candida* spp. – три (3; 7,1 %) против семи (7; 16,7 %), случаев соответственно, $p < 0,05$. В нативном эякуляте чаще встречались *Peptostreptococcus* spp. / *Parvimonas* spp., *Eubacterium* spp. и *Lactobacillus* spp. Также имеется тенденция более частого выявления в ОЭя *Enterobacteriaceae* spp. / *Enterococcus* spp. – 17 (17; 40,5 %) против 13 (13; 31 %) случаев; $p > 0,05$, *Haemophilus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Bacteroides* spp. / *Porphyromonas* spp. / *Prevotella* spp., *Anaerococcus* spp., но статистически достоверной разницы не выявлено. В пяти случаях при отсутствии бактерий в ЦЭя в ОЭя были идентифицированы микроорганизмы в низких титрах. В трех наблюдениях в ЦЭя было недостаточное количество ОБМ, что затрудняло идентификацию и интерпретацию результатов МАНК/ПЦР-РВ по сравнению с ОЭя, где была идентифицирована микрофлора в незначительных, но клинически-значимых концентрациях.

Обсуждение. Согласно полученным данным, результативность биологического образца ОЭя выше по сравнению с образцом ЦЭя на пути диагностики бактериоспермии с помощью МАНК/ПЦР-РВ-Андрофлор, что, вероятно, связано с неравномерным распределением микробных клеток в биоматериале, в том числе представленных биопленками. В большинстве случаев перед проведением ПЦР-РВ для снижения вязкости образца часто приходится использовать среду с муколитиком, что снижает диагностическую ценность методики [1]. Также более высокая частота выявляемости бактерий в осадке эякулята по сравнению с ЦЭя возможно связана с особенностями спермоплазмы некоторых пациентов препятствовать проведению ПЦР-РВ [16, 17]. Осадок эякулята представляет собой очищенный от белковых примесей материал, что способствует полноценному выполнению ПЦР, исключая ингибирование белками спермоплазмы.

Одной из причин низкой концентрации ОБМ при анализе нативного эякулята является персистенция микроорганизмов как внутриклеточно, так и в виде биопленок [18 – 21]. После применения короткого курса Бовгиалуронидазы азоксимера наблюдается увеличение выявляемости микроорганизмов в сперме и секрете простаты [10], что с большой долей вероятности связано с разрушением биопленок [21, 22] и дренированием ацинусов предстательной железы и добавочных половых желез [10]. Предложенный нами метод использования Бовгиалуронидазы азоксимера в

целях повышения частоты обнаружения бактерий в эякуляте подтвержден в работах других отечественных авторов [23, 24]. Иногда для выявления скрытых инфекций недостаточно времени для применения «провокации» с помощью Бовгиалуронидазы азоксимера [22 – 24]. В отдельных случаях перед лечащим врачом стоит задача как можно быстрее верифицировать бактериальный агент, вызывающий воспаление в МДПЖ.

Клинический пример. Пациент Б., 41 год обратился для прегравидарной подготовки. Половой партнер постоянный – супруга. Регулярные вагинальные половые контакты с применением барьерной контрацепции в виде презерватива. На момент обращения активных жалоб не предъявлял. Из анамнеза известно, что за последние три месяца отмечал частые рецидивы баланопостита после полового акта. Применение местных лекарственных препаратов с временным положительным эффектом.

По результатам МАНК/ПЦР-РВ Андрофлор® в ЦЭя:

- ОБМ – $10^{3,0}$ ГЭ/мл;
- микроорганизмов не выявлено.

По результатам МАНК/ПЦР-РВ Андрофлор® в ОЭя:

- ОБМ – $10^{4,5}$ ГЭ/мл;
- *Streptococcus* spp. – $10^{3,4}$;
- *Corynebacterium* spp. – $10^{4,4}$;
- *Megasphaera* spp. / *Veillonella* spp. / *Dialister* spp. – $10^{3,3}$;
- *Ureaplasma urealyticum* – $10^{4,5}$;
- *Ureaplasma parvum* – $10^{4,0}$;
- *Mycoplasma hominis* – $10^{3,9}$;
- *Bacteroides* spp. / *Porphyromonas* spp. / *Prevotella* spp. – $10^{3,9}$;
- *Anaerococcus* spp. – $10^{3,4}$;
- *Peptostreptococcus* spp. / *Parvimonas* spp. – $10^{3,3}$;
- *Eubacterium* spp. – $10^{4,2}$;
- *Enterobacteriaceae* spp. / *Enterococcus* spp. – $10^{4,1}$.

По результатам МАНК/ПЦР-РВ Фемофлор® супруги в цервикальном канале:

- *Lactobacillus* spp. – 100 %;
- других микроорганизмов не выявлено.

По результатам МАНК/ПЦР-РВ Андрофлор® в ОЭя пациенту назначена таргетная специфическая лекарственная терапия.

При контрольном анализе МАНК/ПЦР-РВ Андрофлор® в ОЭя:

- ОБМ $10^{4,0}$ ГЭ/мл;

- *Staphylococcus_spp.* 10^{3,6};
- *Streptococcus_spp.* 10^{3,1};
- *Corynebacterium_spp.* 10^{4,5};
- *Ureaplasma urealyticum* не выявлено;
- *Ureaplasma parvum* не выявлено;
- *Mycoplasma hominis* не выявлено;
- *Bacteroides_spp.* / *Porphyromonas_spp.* / *Prevotella_spp.* – 10^{3,9};
- *Anaerococcus_spp.* – 10^{3,2};
- *Eubacterium_spp.* – 10^{3,9}.

После проведенного лечения пациент активных жалоб не предъявляет, рецидивов баланопостита нет. Такой подход сокращает диагностический интервал, что позволяет своевременно установить причины дискомфорта у мужчин [13].

Заключение. Предложенная модификация преаналитического лабораторного этапа методики ПЦР, а именно диагностика ОЯ с помощью МАНК/ПЦР-РВ-Андрофлор, в исследовании с небольшой выборкой пациентов позволила более точно определить возбудителей, в том числе персистирующих в виде биопленок в добавочных мужских половых железах, даже в малом количестве, при этом гипердиагностики при использовании этой методики не выявлено.

Список литературы

1. Зорина В.В. Основы полимеразной цепной реакции: Методическое пособие. М.: ООО «ДНК Технология», 2019. 150 с.
2. Почерников Д.Г., Сапожкова Ж.Ю. Тенденции использования ПЦР в обследовании мужчин на инфекции передающиеся половым путем // *Лабораторная и клиническая медицина. Фармация.* 2022. Т. 2, № 3. С. 18-26. DOI: 10.14489/lcmp.2022.03.pp.018-026
3. Boeri L., Pederzoli F., Capogrosso P., et al. Semen infections in men with primary infertility in the real-life setting // *Fertil Steril.* 2020. Vol. 113, N 6. P. 1174-1182. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2020.01.034
4. Schuppe H.C., Pilatz A., Hossain H., et al. Urogenital Infection as a Risk Factor for Male Infertility // *DtschArztebl Int.* 2017. Vol. 114, N 19. P. 339-346. DOI: 10.3238/arztebl.2017.0339
5. Altmäe S., Franasiak J.M., Mändar R. The seminal microbiome in health and disease // *NatRev Urol.* 2019. Vol. 16, N 12. P. 703-721. DOI: 10.1038/s41585-019-0250-y
6. Аляев Ю.Г., Глыбочко П.В., Пушкарь Д.Ю., ред. Урология. Российские клинические рекомендации. М.: Медфорум, 2018. 544 с.
7. Щеплев П. А., ред. Андрология для урологов. Клинические рекомендации. 2-е изд., испр. и доп. М.: Медконгресс, 2021. 420 с.
8. Benelli A., Hossain H., Pilatz A.M., et al. Prostatitis and its Management. *European Urology Supplements.* 2017. N 16. P.132-137.
9. Ворошилина Е.С., Зорников, Д.Л., Паначева Е.А. Сравнительное исследование микробиоты эякулята методом количественной ПЦР и культуральным методом // *Вестник РГМУ.* 2019. № 1. С. 44-49. DOI: 10.24075/vrgmu.2019.009
10. Почерников Д.Г., Постовойтенко Н.Т., Стрельников А.И. Сравнительный анализ культурального и молекулярно-генетического методов в исследовании микробиоты эякулята при мужской infertility // *Андрология и генитальная хирургия.* 2019. № 20(2). С. 40-47. <https://doi.org/10.17650/2070-9781-2019-20-2-40-47>
11. Боровец С.Ю. Диагностическая значимость исследования микрофлоры эякулята у больных хроническим бактериальным простатитом методом PCR-RT «Андрофлор» // *Урологические ведомости.* 2019. Т. 9, № 1S. С. 22-23.
12. Sapozhkova Z., Kasoyan K., Kovalchuk E., et al. SpermSedimentCytology: ANewTechniqueforDiagnosingOccultUrologicInfections // *ActaCytologica.* 2017. Vol. 61, N 3. P. 247-251. DOI: 10.1159/000469653
13. Сапожкова Ж.Ю., Милованова Г.А., Почерников Д.Г., и др. Диагностические возможности исследования осадка эякулята с помощью амплификации нуклеиновых кислот методом полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени и микробиологического исследования при поиске причин нарушения мужской репродуктивной функции // *Медицинские технологии. Оценка и выбор.* 2022. № 44(2). С. 62-71. <https://doi.org/10.17116/medtech20224402162>
14. Сапожкова Ж.Ю., Почерников Д.Г., Галкина И.С. Роль цитологии осадка эякулята и ПЦР-диагностики в поиске возможной причины мужского бесплодия и ранней онкопатологии // *Акушерство и гинекология.* 2019. № 4. Приложение. С. 75-76. [Sapozhkova Z.Y., Pochernikov D.G., Galkina I.S. Infectious and non-infectious findings in infertile men with asymptomatic chronic prostatitis: sperm sediment cytology vs DNA screening *ActaCytologica* 2019;63(suppl 1):89].
15. Huang Q., Chen D., Du C., et al. Highly multiplex PCR assays by coupling the 5'-flap endonuclease activity of Taq DNA polymerase and molecular beacon reporters // *Proc Natl Acad Sci USA.* 2022. Vol. 119, No. 9. P. e2110672119.
16. Bhadra S., Maranhao A.C., Paik I., et al. One-Enzyme Reverse Transcription qPCR Using Taq DNA Polymerase // *Biochemistry.* 2020. Vol. 59, N 49. P.4638-4645. DOI: 10.1021/acs.biochem.0c00778
17. Turvey M.W., Gabriel K.N., Lee W., et al. Single-molecule Taq DNA polymerase dynamics // *Sci Adv.* 2022. Vol. 8, N 10. P. eabl3522. DOI: 10.1126/sciadv.abl3522
18. Mazzoli S. Biofilms in chronic bacterial prostatitis (NIH-II) and in prostatic calcifications // *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2010. Vol. 59, N 3. P. 337-344. DOI: 10.1111/j.1574695X.2010.00659.x
19. Gupta P., Sarkar S., Das B., et al. Biofilm, pathogenesis and prevention a journey to break the wall: a review // *Arch Microbiol.* 2016. Vol. 198, N1. P. 1-15. DOI: 10.1007/s00203-015-1148-6

20. Nahar S., Mizan M.F.R., Ha A.J., et al. Advances and Future Prospects of Enzyme-Based Biofilm Prevention Approaches in the Food Industry // *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2018. Vol. 17, N 6. P. 1484-1502. DOI: 10.1111/1541-4337.12382

21. Тризна Е.Ю., Байдамшина Д.Р., Виницкий А.А., и др. Влияние in vitro изолированного и сочетанного с антибактериальными средствами применения бовгиалуронидазазоксимер на целостность бактериальной биопленки и жизнеспособность микроорганизмов // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2020. № 83(2). С. 38-44. <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2020-83-2-38-44>

22. Trizna E., Baidamshina D., Gorshkova A., et al. Improving the Efficacy of Antimicrobials against Biofilm-Embedded Bacteria Using Bovine Hyaluronidase Azoximer (Longidaza®) // *Pharmaceutics* 2021. N 13. P. 1740. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13111740>

23. Кульчавеня Е.В., Шевченко С.Ю., Чередниченко А.Г., и др. Новые возможности применения гиалуронидазы при хроническом простатите // *Урология*. 2020. № 3. С. 56-62. <https://dx.doi.org/10.18565/urology.2020.3.56-62>

24. Цуканов А.Ю., Сатыбалдин Д.О., Семикина С.П. Повышение результативности микробиологического исследования эякулята при диагностике причин мужского бесплодия // *Урология*. 2019. № 6. С. 26-30. <https://dx.doi.org/10.18565/urology.2019.6.26-30>

References

1. Zorina VV. *Osnovy` polimeraznoj cepnoj reakcii: Metodicheskoe posobie*. Moscow: ООО «DNK Tekhnologiya»; 2019. 150 p. (in Russ).

2. Pochernikov DG, Sapozhkova ZhYu. Tendencii ispol'zovaniya PCzR v obsledovanii muzhchin na infekcii peredayushhiesya polovym putem. *Laboratornaya i klinicheskaya medicina. Farmaciya*. 2022;2(3):18-26. DOI: 10.14489/lcmp.2022.03.pp.018-026 (in Russ).

3. Boeri L, Pederzoli F, Capogrosso P, et al. Semen infections in men with primary infertility in the real-life setting. *Fertil Steril*. 2020Jun;113(6):1174-82. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2020.01.034

4. Schuppe HC, Pilatz A, Hossain H, et al. Urogenital Infection as a Risk Factor for Male Infertility. *DtschArztebl Int*. 2017May12;114(19):339-46. DOI: 10.3238/arztebl.2017.0339

5. Altmäe S, Franasiak JM, Mändar R. The seminal microbiome in health and disease. *NatRev Urol*. 2019Dec;16(12):703-21. DOI: 10.1038/s41585-019-0250-y

6. Alyaeva YuG, Gly'bochko PV, Pushkaryu DYu, editors. *Urologiya. Rossijskie klinicheskie rekomendacii*. Moscow: Medforum; 2018. 544 p. (in Russ).

7. Shhepleva PA, editor. *Andrologiya dlya urologov. Klinicheskie rekomendacii. 2-e izdanie, ispravlennoe i dopolnennoe*. Moscow; Medkongress: 2021. 420 p. (in Russ).

8. Benelli A, Hossain H, Pilatz AM, et al. Prostatitis and its Management. *European Urology Supplements*. 2017;16:132-7.

9. Voroshilina ES, Zornikov DL, Panacheva EA. Sravnitel'noe issledovanie mikrobioty` e'yakulyata metodom kolichestvennoj PCzR i kul'tural'ny'm metodom. *Vestnik RGMU*. 2019;1:44-49. (in Russ). DOI: 10.24075/vrgmu.2019.009

10. Pochernikov DG, Postovojtenko NT, Strel'nikov AI. Sravnitel'ny'j analiz kul'tural'nogo i molekulyarnogeneticheskogo metodov v issledovanii mikrobioty` e'yakulyata pri muzhskoj infertil'nosti. *Andrologiya i genital'naya xirurgiya*. 2019;20(2):40-47. (in Russ). <https://doi.org/10.17650/2070-9781-2019-20-2-40-47>

11. Borovecz SYu. Diagnosticheskaya znachimost' issledovaniya mikroflory` e'yakulyata u bol'ny'x xronicheskim bakterial'ny'm prostatitom metodom PCR-RT «Androflor». *Urologicheskie vedomosti*. 2019;9(1S):22-23. (in Russ).

12. Sapozhkova Z, Kasoyan K, Kovalchuk E, et al. Sperm Sediment Cytology: A New Technique for Diagnosing Occult Urologic Infections. *ActaCytologica*. 2017;61(3):247-51. (in Russ). DOI: 10.1159/000469653

13. Sapozhkova ZhYu, Milovanova GA, Pochernikov DG, et al. Diagnosticheskie vozmozhnosti issledovaniya osadka e'yakulyata s pomoshh'yu amplifikacii nukleiny'x kislot metodom polimerazno-cepnoj reakcii v rezhime real'nogo vremeni i mikrobiologicheskogo issledovaniya pri poiske prichin narusheniya muzhskoj reproduktivnoj funkicii. *Medicinskie texnologii. Ocenka i vy'bor*. 2022;44(2):62-71. (in Russ). <https://doi.org/10.17116/medtech20224402162>

14. Sapozhkova ZhYu, Pochernikov DG, Galkina IS. Rol' citologii osadka e'yakulyata i PCzR-diagnostiki v poiske vozmozhnoj prichiny` muzhskogo besplodiya i rannejonkopatologii. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2019;4(Suppl):75-76. (in Russ). [Sapozhkova ZY, Pochernikov DG, Galkina IS. Infectious and non-infectious findings in infertile men with asymptomatic chronic prostatitis: sperm sediment cytology vs DNA screening. *ActaCytologica*. 2019;63 (suppl 1):89. (in Russ).]

15. Huang Q, Chen D, Du C, et al. Highly multiplex PCR assays by coupling the 5'-flap endonuclease activity of Taq DNA polymerase and molecular beacon reporters. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2022;119(9):e2110672119.

16. Bhadra S, Maranhao AC, Paik I, et al. One-Enzyme Reverse Transcription qPCR Using Taq DNA Polymerase. *Biochemistry*. 2020Dec15;59(49):4638-45. DOI: 10.1021/acs.biochem.0c00778

17. Turvey MW, Gabriel KN, Lee W, et al. Single-molecule Taq DNA polymerase dynamics. *Sci Adv*. 2022Mar11;8(10):eabl3522. DOI: 10.1126/sciadv.abl3522

18. Mazzoli S. Biofilms in chronic bacterial prostatitis (NIH-II) and in prostatic calcifications. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2010Aug;59(3):337-44. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2010.00659.x

19. Gupta P, Sarkar S, Das B, et al. Biofilm, pathogenesis and prevention a journey to break the wall: a review. *Arch Microbiol*. 2016Jan;198(1):1-15. DOI: 10.1007/s00203-015-1148-6

20. Nahar S, Mizan MFR, Ha AJ, et al. Advances and Future Prospects of Enzyme-Based Biofilm Prevention

Approaches in the Food Industry. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2018Nov;17(6):1484-502. DOI: 10.1111/1541-4337.12382

21. Trizna EYu, Bajdamshina DR, Viniczkiy AA, et al. Vliyanie in vitro izolirovannogo i sochetannogo s antibakterial'ny'mi sredstvami primeneniya bov'gialuronidazy` azoksimer na celostnost' bakterial'noj bioplenki i zhiznesposobnost' mikroorganizmov. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya.* 2020;83(2):38-44. (in Russ). <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2020-83-2-38-44>

22. Trizna E, Bajdamshina D, Gorshkova A, et al. Improving the Efficacy of Antimicrobials against Biofilm-

Embedded Bacteria Using Bovine Hyaluronidase Azoximer (Longidaza®). *Pharmaceutics.* 2021;13:1740. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13111740>

23. Kul'chavenya EV, Shevchenko SYu, Cherednichenko AG, et al. Novy'e vozmozhnosti primeneniya gialuronidazy` pri xronicheskom prostatite. *Urologiya.* 2020;3:56-62. <https://dx.doi.org/10.18565/urology.2020.3.56-62>

24. Czukanov AYu, Saty`baldin DO, Semikina SP. Povy`shenie rezul'tativnosti mikrobiologicheskogo issledovaniya e`yakulyata pri diagnostike prichin muzhskogo besplodiya. *Urologiya.* 2019;6:26-30. (in Russ). <https://dx.doi.org/10.18565/urology.2019.6.26-30>

Поступила в редакцию / Received 16.05.2023

Принята к публикации / Accepted 14.06.2023

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was conducted without sponsorship.

Вклад авторов.

Почерников Д. Г. – планирование исследования, анализ литературы, интерпретация и анализ данных, подготовка черновика рукописи, подготовка финального варианта статьи;

Постовойтенко Н. Т. – анализ литературы, сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка черновика рукописи, подготовка финального варианта статьи;

Давидова Ж. Ю. – планирование исследования, интерпретация данных, подготовка черновика рукописи, подготовка финального варианта статьи.

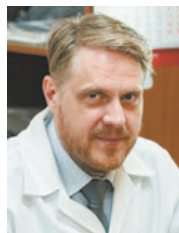
Authors' contributions.

Pochernikov D. G. – research planning, literature analysis, data interpretation and analysis, preparation of a draft manuscript, preparation of the final version of the article;

Postovoitenko N. T. – literature analysis, data collection, analysis and interpretation, preparation of a draft manuscript, preparation of the final version of the article;

Davidova Zh. Yu. – research planning, data interpretation, preparation of a draft manuscript, preparation of the final version of the article.

Сведения об авторах / Information about authors



Денис Геннадиевич Почерников – к.м.н., доцент кафедры факультетской хирургии и урологии ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России, Иваново, Россия.

Denis G. Pochernikov – MD, PhD, Associate Professor Department of Faculty Surgery and Urology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Ivanovo State Medical Academy” of the Ministry of Healthcare, Ivanovo, Russian Federation.

E-mail: urologkmn@mail.ru. **SPIN РИНЦ:** 3490-8453

ORCID: 0000-0002-8944-7524



Никита Тарасович Постовойтенко – уролог-андролог, Клиника «Мать и Дитя», Владимир, Россия.

Nikita T. Postovoytenko – urologist-andrologist, The «Mother and Child» Vladimir clinic, Vladimir, Russian Federation.

E-mail: nikpostov@mail.ru.

ORCID: 0000-0001-7573-6942



Жанна Юрьевна Давидова – к.м.н., руководитель Международной Школы Цитологии и Медицинской Школы Инноваций, Москва, Россия; руководитель клинко-диагностической лаборатории Подольский диагностический центр, Подольск, Россия.

Zhanna Yu. Davidova – MD, PhD, Head of the International School of Cytology and Medical School of Innovations, Moscow, Russian Federation; Head of the Clinical Diagnostic Laboratory Podolsk Diagnostic Center, Podolsk, Russian Federation.

E-mail: icsschool.2019@gmail.com. **SPIN РИНЦ:** 3191-4189

ORCID: 0000-0003-3068-2260