

Информативность биоматериала для исследования микробиоты урогенитального тракта мужчин методом ПЦР РВ (пилотное исследование)

Д.Г. Почерников¹, Ю.Г. Витвицкая², М.Н. Болдырева², И.С. Галкина²

¹ФГБОУ «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Иваново, Россия

²Группа компаний «ДНК-Технология», Россия

Сведения об авторах:

Почерников Д.Г. – к.м.н., доцент кафедры факультетской хирургии и урологии ФГБОУ ВО «ИвГМА», urologknn@mail.ru, AuthorID 414373

Pochernikov D.G. – PhD, associate Professor of the Department of faculty surgery and urology «Ivanovo state medical Academy» of the Ministry of health of the Russian Federation, Ivanovo; urologknn@mail.ru, ORCID 0000-0002-8944-7524

Болдырева М.Н. – д.м.н., медицинский директор Группы компаний «ДНК-Технология», boldyreva@dna-technology.ru

Boldyreva M.N. – Dr. Sc., medical Director of the Group of companies «DNA-Technology», boldyreva@dna-technology.ru

Витвицкая Ю.Г. – к.м.н., научный сотрудник Группы компаний «ДНК-Технология», vitvitskaya@dna-technology.ru

Vitvitskaya Yu.G. – PhD, researcher of the Group of companies «DNA-Technology», vitvitskaya@dna-technology.ru

Галкина И.С. – к.х.н., директор по маркетингу Группы компаний «ДНК-Технология», galkina@dna-technology.ru

Galkina I.S. – PhD, marketing Director of the Group of companies «DNA-Technology», galkina@dna-technology.ru

В последнее десятилетие особое внимание исследователей, а также практических врачей уделено бессимптомным инфекционно-воспалительным процессам урогенитального тракта мужчин, ассоциированным с условно-патогенными микроорганизмами (УПМ), встречающимися при бесплодии [1].

Выявление УПМ с помощью традиционных диагностических инструментов (микроскопическое, культуральное исследование) затруднено в силу объективных ограничений методов. По данным Европейской ассоциации урологов (EAU, 2019) с помощью рутинных методов диагностики УПМ удается выявить только в 5-10% случаев и, соответственно, только в 5-10% случаев имеется рациональная основа для проведения антибактериальной терапии [2]. В остальных случаях лечение проводится эмпирически с использованием многочисленных лекарственных препаратов длительными курсами и, с многочисленными побочными эффектами, хронизацией воспалительного процесса и возникновением осложнений. Хронические воспалительные процессы, в том числе в передней уретре, являются основной причиной таких осложнений как простатит, эпидидимит и орхит [3,4]. По данным Национального института

здоровья (National Institutes of Health, США, 1999) у мужчин, страдающих урологическими заболеваниями, простатит выявляют у каждого четвертого пациента [5]. В 1995 году ими была предложена классификация простатита, которая является актуальной и на сегодняшний день, при этом простатит категории IV (асимптоматический простатит) встречается в 6-10% случаев [4,5].

Особого внимания заслуживает вопрос диагностики и лечения асимптоматического простатита. Развитие симптомов заболевания может быть обусловлено не только изменением качественно-количественного состава микроорганизмов, встречающихся в предстательной железе (ПЖ), но и быть результатом патологического взаимодействия психологических факторов и дисфункций иммунной, нервной и эндокринной систем [6,7]. Вследствие разнообразия клинических проявлений и различий в их степени выраженности, хронический простатит (ХП) относится к трудно диагностируемым заболеваниям. ХП может протекать изначально со слабо выраженной клинической симптоматикой на фоне длительно текущего воспаления или быть следствием постепенно стихающего воспалительного процесса после острого поражения ПЖ [8,9].

Количественные значения микроорганизмов при ХП в сравнении с

острым процессом будут значительно меньше, т.к. УПМ подвергаются частичной элиминации из ПЖ, запустив процесс продуктивного воспаления, а оставшегося количества микроорганизмов достаточно для поддержания патологического процесса [10]. Однако только 10% ХП предшествуют острые простатиты, что еще больше затрудняет диагностику заболевания рутинными диагностическими методами [9].

Распространенный в лабораторной практике метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) является качественным исследованием и позволяет быстро и достоверно определить как возбудителей инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), так и УПМ. Однако УПМ могут присутствовать в организме и в норме, поэтому качественное определение данных микроорганизмов не имеет диагностического значения. Именно поэтому современные клинические рекомендации указывают на важность определения не только вида возбудителя, но и его количества, титра [4,11-14].

С 2016 года в арсенале практикующего врача появился новый метод выявления качественно-количественного соотношения УПМ в урогенитальном тракте мужчин и, соответственно, диагностики инфекционно-воспалительных заболеваний, об-

условленных не только основными ИППП, но и УПМ, основанный на методе ПЦР в режиме реального времени. Важное преимущество новой технологии – точное количественное определение компонентов микрофлоры, соответствующее содержанию бактерий в исследуемой локализации, по компонентам генома. Фактически результат анализа представляет собой «кальку» биотопа, включая количественные результаты по некультивируемым облигатным анаэробам, клинически значимым в развитии острых и хронических форм заболеваний репродуктивной системы мужчин. Методика определения качественно-количественного состава микроорганизмов, встречающихся в мужской мочеполовой системе, основанная на ПЦР в режиме реального времени, может использоваться для оценки инфекционного фактора при бесплодии, в том числе и при лейкоцитоспермии, в обследовании при подготовке к ЭКО, случаях неэффективного лечения острых и хронических форм урологических заболеваний.

На исследование могут быть направлены различные виды биоматериала (эякулят, секрет ПЖ, соскоб уретры, постмассажная моча). Выбор материала зависит от локализации инфекционного процесса: при уретрите целесообразно получать соскоб из уретры, баланите/баланопостите – соскоб головки полового члена, везикулите – эякулят, простатите – секрет ПЖ, постмассажную мочу, биоптат. Учитывая, что секрет ПЖ, содержащий микроорганизмы предстательной железы, является одной из составляющей эякулята, зачастую для диагностики инфекционно-воспалительного процесса в предстательной железе используют эякулят.

Определение микробного «пейзажа» эякулята и секрета предстательной железы, а также сравнение информативности исследования биоматериала различных локализаций УГТ при бессимптомном течении хронического простатита методом ПЦР в режиме реального времени явилось целью данной работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В урологической клинике ФГБОУ ВО «ИвГМА» было обследовано 22 мужчины в возрасте от 30 до 55 лет (средний возраст составил $38,45 \pm 7,25$ лет), обратившихся по поводу бесплодия и с целью прегравидарной подготовки. Критерии включения в исследование: отсутствие ИППП на момент исследования, отсутствие жалоб и клинической симптоматики на момент исследования при наличии хронического бессимптомного течения простатита, отсутствие незащищенных половых контактов в течение 3 суток до процедуры, для снижения риска «выбраковки» биоматериала из-за превышения пороговых значений транзитной микрофлоры, а также наличие письменного информированного согласия на проведение исследований. Всем пациентам были проведены: сбор анамнеза, жалоб, клинический осмотр, пальпаторное исследование предстательной железы, лабораторная диагностика: трансректальное ультразвуковое исследование (ТРУЗИ) предстательной железы, микроскопическое исследование секрета ПЖ выполненное с помощью светового микроскопа при увеличении $\times 400$ (объектив $\times 40$, окуляр $\times 10$). ПЦР в режиме реального времени проводили с помощью теста «Андрофлор®» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) на приборе «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Для исследования методом ПЦР в режиме реального времени материал получали в течение одного дня из трех точек возможной локализации инфекционно-воспалительного процесса: соскоб из уретры, эякулят, секрет предстательной железы. Соскоб из уретры получали одноразовым стерильным урогенитальным зондом, вводя его в уретру на 3-4 см и совершая вращательные движения к наружному отверстию. Материал помещали в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл объемом типа Эппендорф с 1,0 мл транспортной среды («Транспортная среда с муколити-

ком», ООО «ИнтерЛабСервис»). Круговыми движениями зонд споласкивали, отжимали избыток жидкости о края пробирки, зонд утилизировали. Пробирку центрифугировали при 13000 об/мин в течение 10 мин, удаляли надосадочную жидкость (осадок + жидкая фракция), оставив в пробирке примерно 50 мкл. Секрет ПЖ получали после массажа ПЖ в контейнер лабораторный для проб с завинчивающейся крышкой и ложкой. Эякулят мужчина получал путем мастурбации в лабораторный контейнер для проб. Для исследования спермы, секрета ПЖ, 20-30 мкл жидкого материала переносили с помощью пипетки в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл типа Эппендорф с 1,0 мл транспортной среды («Транспортная среда с муколитиком», ООО «ИнтерЛабСервис»), центрифугировали пробирку при 13 000 об/мин в течение 10 мин, удаляли надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл, которую использовали для последующего выделения ДНК.

Надосадочную жидкость использовали для последующего выделения ДНК с помощью комплекта реагентов ПРОБА-ГС-ПЛЮС (ООО «НПО ДНК-Технология», Москва) в соответствии с инструкцией производителя.

Учитывая, что все пациенты длительное время обследовались и лечились в ФГБОУ ВО «ИвГМА» на момент исследования всем пациентам был установлен основной диагноз «Бессимптомный воспалительный простатит IV».

Клиническая трактовка результата осуществлялась по относительным показателям – доли группы микроорганизмов в общей бактериальной массе, что нивелирует ошибки интерпретации по абсолютным количествам, фиксируя только достоверные различия в структуре микрофлоры.

Статистический анализ проведен с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2013 и Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., США). Статистическую значимость различий анализировали с помощью критерия Фишера, различия считали значимыми при $p < 0,05$. ■

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Все мужчины 22 (100%) были пациентами клиники в течение длительного времени. При изучении анамнеза было установлено, что более половины пациентов предъявляют жалобы на бесплодие (14; 63,63%), в т.ч и вторичное (3; 13,64%). Перенесенные ИППП в анамнезе были у 4 (18,18%) пациентов, при этом, более одного полового партнера указывали также 4 (18,18%) мужчин. При изучении воздействия экзогенных факторов 5 (22,72%) пациентов сообщили, что выкуривают до 1 пачки сигарет в день; 1 (4,54%) указал на воздействие производственных вредностей; алкоголь принимают в умеренных количествах 15 (68,11%) пациентов, исключили прием алкоголя 7 (31,89%) пациентов. Регулярно стрессовые воздействия испытывают 11 (50%) пациентов, редко – 6 (27,27%), не испытывают – 5 (22,72%) мужчин. Таким образом, исходя из полученных нами данных анамнеза, можно предположить, что стресс – наиболее частый патогенетический фактор риска хронического воспалительного процесса, воздействующий на исследуемую группу.

При исследовании гормонального статуса в 59,09% (n=13) случаев было выявлено нарушение последнего, что также может оказывать влияние на состав биоты урогенитального тракта мужчин и требует дальнейшего изучения.

Следует отметить, что на момент обследования у всех пациентов клиническая симптоматика отсутствовала и единственной жалобой было бесплодие.

По результатам ТРУЗИ в 86,36% (n=19) случаев были выявлены признаки хронического простатита.

При микроскопическом исследовании секрета предстательной железы повышение лейкоцитов было выявлено у 9 (40,9%) пациентов, эритроцитов – в 2 (9,09%) случаях. Лецитиновые зерна в большом количестве были обнаружены у 10 (45,45%) мужчин, снижение количества лецитиновых зерен до умеренных значений выявлено у 8 (36,36%) пациентов, небольшое количество и отсутствие диагностировано в 4 (18,18%) случаях. Таким образом, по совокупности выявленных показателей микроскопические признаки воспаления были выявлены в 45,46% (n=10) случаев, абсолютная норма при микроскопии ПЖ – у 12 (54,54%) пациентов.

Результаты исследования соскоба из уретры, секрета ПЖ и эякулята с помощью ПЦР в режиме реального времени у пациентов с нормальным результатом микроскопии секрета ПЖ не выявили инфекционного процесса ни в одном исследуемом отделе лишь у трех (13,64 %) мужчин, однако все трое предъявляли жалобы на бесплодие, которое, вероятно, было обусловлено у двоих пациентов вариационной нормой, у одного присоединением

аутоиммунного компонента.

У 8 (36,36%) мужчин с абсолютной нормой при микроскопии методом ПЦР РВ в соскобе из уретры был выявлен «Дисбиоз»: у 6 (27,27%) пациентов, в соскобе из уретры был выявлен дисбиоз без указания степени выраженности, т.е. общая бактериальная масса не превышала 10^5 , у двоих (9,09%) – «Дисбиоз умеренный» и «Дисбиоз выраженный». У 5 (22,73%) пациентов при наличии дисбиоза в уретре, результаты исследования эякулята и секрета ПЖ соответствовали норме. У 2 (9,09%) пациентов при наличии дисбиоза в уретре, дисбиоз был выявлен в секрете ПЖ при показателях нормы в эякуляте; у одного – и в секрете ПЖ, и в эякуляте.

У пациентов, имеющих признаки инфекционно-воспалительного процесса по результатам микроскопии секрета ПЖ (10; 45,45%), с помощью метода ПЦР РВ были получены следующие результаты: дисбиоз в соскобе из уретры выявлен в 7 (31,82%) случаях; в 4 (18,18%) случаях без указания степени выраженности; в 2 (9,09%) – «Дисбиоз выраженный»; в одном – «Дисбиоз умеренный». При наличии дисбиоза в уретре последний в секрете ПЖ был выявлен у 3 (13,63%) пациентов, в соскобе из уретры, эякуляте, секрете ПЖ только у 2 (9,09%) пациентов. В остальных случаях 2 (9,09%) зафиксирован вариант нормы.

У троих (13,63%) пациентов при наличии признаков инфекционно-

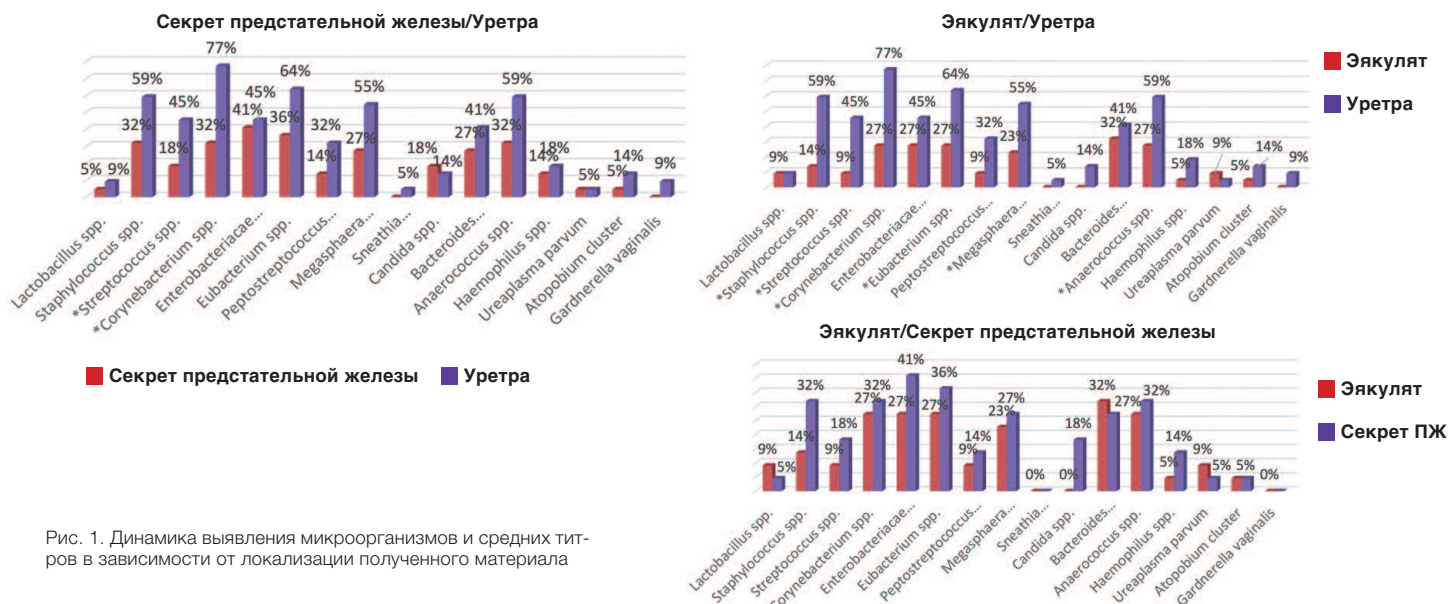


Рис. 1. Динамика выявления микроорганизмов и средних титров в зависимости от локализации полученного материала

воспалительного процесса в микроскопическом исследовании секрета ПЖ метод ПЦР РВ дисбиотических изменений не выявил.

На рисунке 1 представлены данные выявленных микроорганизмов и средние титры в зависимости от локализации полученного материала.

По результатам теста Андроплор® наименьшее значение бактериальной обсемененности в геном-эквивалентах (ГЭ) идентифицировано в эякуляте $3\pm 1,3$ ГЭ, в секрете ПЖ данный показатель составил $3,9\pm 1,3$ ГЭ, в уретре выявлено наибольшее значение $4,5\pm 1,3$ ГЭ. Больше чем у половины мужчин в уретре встречались *Corynebacterium spp.*, *Eubacterium spp.*, *Anaerococcus spp.* и *Staphylococcus spp.*, при этом в эякуляте и секрете предстательной железы эти бактерии выявлялись значительно реже. Одинаково часто, как в эякуляте, так и в уретре встречались *Lactobacillus spp.* *Ureaplasma parvum* чаще встречалась в эякуляте, чем в секрете предстательной железы и уретре. Стоит отметить, что *Sneathia spp./Leptotrichia spp./Fusobacterium spp.* и *Gardnerella vaginalis* идентифицированы только в уретре и не обнаружены в секрете ПЖ и эякуляте. При статистическом анализе полученных результатов отмечается отсутствие статистически значимых различий в выявляемости микроорганизмов в секрете ПЖ и эякуляте, но это, по-видимому, связано с недостаточной выборкой, имеются статистически значимые различия между биотопом эякулята и уретры ($p < 0,05$), а также в биотопах секрета ПЖ и уретры ($p < 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что микроорганизмы на поверхности уротелия преимущественно существуют в виде биопленки, планктонные формы малочисленны, поэтому для получения адекватного результата исследования необходимо получать не отделяемое, а соскоб эпителиальных клеток с прикрепленным к ним участком биопленки.

В нашем исследовании были отмечены случаи несовпадения мик-

робного пейзажа нижних и верхних отделов УГТ (дисбиоз различной степени выраженности в уретре против нормоценоза микрофлоры секрета ПЖ и эякулята). Можно предположить, что при прохождении эякулята или секрета ПЖ через уретру недостаточно для массовного обсеменения эякулята и секрета ПЖ микроорганизмами, находящимися в просвете уретры, т.к. при прохождении секрета ПЖ или эякулята через уретру биоматериал захватывает только часть микроорганизмов, большая часть которых плотно фиксирована в составе биопленки. Наличие в клинической трактовке исследования с помощью метода ПЦР РВ такой возможности как оценка состояния биоценоза по относительным показателям позволяет нивелировать искажения, фиксируя только достоверные различия в структуре микрофлоры.

Наличие дисбиоза в уретре поддерживает течение хронического процесса, что согласуется с данными литературы [1,3]. Учитывая, что передняя уретра – источник восходящей инфекции, обследование пациента всегда необходимо начинать с оценки состояния биоты передней уретры. Анализ полученных результатов показал, что при наличии патологического процесса в ПЖ, подтвержденный тестом ПЦР РВ с заключением «Дисбиоз выраженный», аналогичные результаты, но с меньшей степенью выраженности были зафиксированы и в заключении исследования эякулята. При получении результата «Дисбиоз умеренный» при исследовании секрета ПЖ, в заключении исследования эякулята мы получали норму или невозможность указания степени дисбиоза вследствие снижения уровня общей бактериальной массы ниже 10^5 .

Таким образом, на основании полученных данных, мы считаем, что для выявления этиологического фактора инфекционно-воспалительного процесса, локализующегося в предстательной железе, при хронических вялотекущих процессах, при выборе

вида биоматериала между эякулятом и секретом предстательной железы, предпочтение необходимо отдавать секрету ПЖ.

Те пациенты, у которых при исследовании секрета ПЖ не было выявлено качественно-количественного дисбаланса УПМ при наличии микроскопических признаков воспаления в секрете ПЖ требуют дальнейшего обследования для выявления этиологического фактора возникновения воспалительной реакции.

ВЫВОДЫ

1. При обследовании 22 пациентов с диагнозом «Бессимптомный воспалительный простатит IV» и одномоментном исследовании материала из уретры, эякулята и секрета ПЖ было выявлено, что передняя уретра у мужчин может выступать в качестве резервуара хронической инфекции, не вызывая клинических проявлений, поэтому обследование пациента всегда необходимо начинать с оценки состояния биоты передней уретры.

2. Для выявления хронического малосимптомного патологического процесса в предстательной железе во избежание гиподиагностики, несвоевременного лечения и, соответственно, развития осложнений, при выборе материала для исследования между эякулятом и секретом ПЖ, предпочтение необходимо отдавать секрету ПЖ. Безусловно, было обследовано небольшое количество пациентов, вследствие того, что не все мужчины давали согласие на получение материала в течение одного дня из трех точек возможной локализации патологического процесса, поэтому для подтверждения полученных нами результатов необходимо проведение дальнейших исследований, используя новую прогрессивную методику, основанную на количественном определении компонентов биоты УГТ, соответствующее содержание бактерий в исследуемой локализации с помощью метода ПЦР в режиме реального времени. ■

Ключевые слова: хронический простатит, ПЦР в режиме реального времени, соскоб из уретры, эякулят, секрет ПЖ, условно-патогенные микроорганизмы, ДНК микроорганизмов.

Key words: chronic prostatitis, real-time PCR, urethral scraping, ejaculate, prostate secretion, conditionally pathogenic microorganisms, DNA microorganisms.

DOI 10.29188/2222-8543-2019-11-2-128-132

Резюме:

Введение. При хронических формах воспалительных процессов наиболее частыми этиологическими агентами являются условно-патогенные микроорганизмы, выявление которых традиционными способами затруднено в силу объективных ограничений методов. Использование современной молекулярно-генетической технологии – ПЦР в режиме реального времени (ПЦР РВ) позволяет быстро и достоверно количественно определить ведущие группы УПМ, ассоциированных с развитием хронического простатита (ХП) и других инфекционно-воспалительных заболеваний репродуктивного тракта. Какому биоматериалу отдать предпочтение для получения достоверного результата: соскобу из уретры, эякуляту, секрету ПЖ?

Цель данного исследования – определение вида биоматериала для количественной оценки микробиоты методом ПЦР РВ у пациентов с ХП, что даст возможность врачу получить информативный результат анализа и провести этиологически обоснованную лекарственную терапию.

Обследовано 22 пациента в урологической клинике ФГБОУ ВО «ИвГМА», обратившихся по поводу бесплодия и с целью преграavidарной подготовки. У всех пациентов в течение одного дня был получен биоматериал: соскоб из уретры, эякулят, секрет ПЖ для последующего исследования с помощью метода ПЦР РВ.

Результаты. 1. Учитывая, что передняя уретра у мужчин может выступать в качестве резервуара хронической инфекции, обследование пациента всегда необходимо начинать с оценки состояния микробиоты передней уретры.

2. Для выявления ХП во избежание гиподиагностики, при выборе материала для исследования между эякулятом и секретом простаты, предпочтение необходимо отдавать секрету простаты.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Summary:

The information content of biological material for the study of the urogenital tract in men by real-time PCR (pilot trail)

D.G. Pochernikov, Yu.G. Vitvitskaya, M.N. Boldyreva, I.S. Galkina

Purpose. In chronic forms of inflammation, the most frequent etiological agents in the occurrence of chronic prostatitis (CP) are conditionally pathogenic microorganisms (CPM), the detection of which by traditional diagnostic methods is difficult due to the objective limitations of the methods. Real-time (RT-PCR) allows quick and reliable identification of CPM responsible for the occurrence of CP and other chronic inflammatory diseases of urogenital tract. It is not clear what is the most reliable biomaterial for diagnosis: swab from the urethra, ejaculate, or the prostate secret?

Purpose of this study is to determine the choice of an adequate biomaterial type of microbiota's quantitative evaluation by RT-PCR in patients with CP, in order to allow the doctors to obtain informative results and provide an opportunity for etiologically approved drug therapy. 22 patients in the urological clinic of Ivanovo State Medical Academy, who applied with infertility and for the purpose of pregravidary preparation were examined. The following biomaterials were obtained from all patients simultaneously: swab from the urethra, ejaculate, and prostate secretion for subsequent examination using the RT-PCR method.

Results. 1. Considering that the anterior urethra in men can act as a reservoir of chronic infection, the examination of the patient should always begin with an assessment of the micro biome of the anterior urethra.

2. To identify CP in order to avoid underdiagnosis, when choosing biomaterial for research between the ejaculate and prostate secretion, prostate secretion is preferable.

Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

ЛИТЕРАТУРА

1. Курило Л.Ф. и соавт. Влияние бессимптомных инфекций урогенитального тракта на показатели эякулята у мужчин с бесплодием и варикоцеле. *Андрология и генитальная хирургия.* 2016; 17(2): 98-103. doi:10.17650/2-070-9781-2016-17-2-98-103.
2. Guidelines on Urological infections© / G. Bonkat, R.R. Bartoletti [et. al.] // *European Association of Urology* 2019. <http://www.uroweb.org/guidelines>.
3. Ashok Agarwal, R. John Aitken, Juan G. Alvarez Editors. *Studies on Mens Health and Fertility.* Human Press, LLC 2012. P. 671. Doi: 10.1007/978-1-61779-776-7
4. Клинические рекомендации по андрологической урологии/ под ред. П. А. Щеплева. М.: Медфорум. 2016. 120 с.
5. Krieger JN, Nyberg L Jr, Nickel JC. NIH consensus definition and classification of prostatitis. *JAMA* 1999; 282: 236-7.
6. Magri V, Wagenlehner F, Perletti G, Schneider S, Marras E, Naber KG, Weidner W. Use of the UPOINT chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome classification in European patient cohorts: sexual function domain improves correlations. *J Urol.* 2010 Dec;184(6): 2339-45. doi: 10.1016/j.juro.2010.08.025
7. Nickel J.C. Is chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome an infectious disease of the prostate? *Investig Clin Urol.* 2017 May; 58(3): 149-151. <https://doi.org/10.4111/icu.2017.58.3.149>.
8. Коган М.И., Мационис А.Э., Белоусов И.И., Повилайтите П.Е. Морфологические доказательства ишемической природы фиброза предстательной железы при классическом синдроме хронической тазовой боли/хроническом простатите ПИБ. *Урология.* 2018; (3): 12-18. doi:10.18565/urology.2018.3.12-18
9. Magri V. et al. Multidisciplinary approach to prostatitis. *Arch Ital Urol Androl.* 2019 Jan 18; 90(4):227-248. doi: 10.4081/aiua.2018.4.227.
10. Schuppe H.C. et al. Urogenital Infection as a Risk Factor for Male Infertility. *Dtsch Arztebl Int.* 2017 May 12;114(19):339-346. doi: 10.3238/arztebl.2017.0339.
11. Яковлев С.В., Рафальский В.В., Сидоренко С.В., Спичак Т.В. Стратегия и тактика рационального применения антимикробных средств в амбулаторной практике: Евразийские клинические рекомендации. М.: Пре100 Принт; 2016; 144.
12. Рахматулина МР, Соколовский ЕВ, Малова ИО, Серов ВН, Аполихина ИА, Мелкумян АГ. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных хламидийной инфекцией. *Акуш. и гин.* 2016; (4 Прилож.): 57-63.
13. Перепанова ТС, Козлов РС, Руднов ВА, Синякова ЛА. Антимикробная терапия и профилактика инфекций почек, мочевыводящих путей и мужских половых органов. Федеральные клинические рекомендации. М: 2015; 72.
14. Урология. Российские клинические рекомендации/ под ред. Ю.Г. Аляева, П.В. Глыбочко, Д.Ю. Пушкаря. М. «Медфорум»: 2018:544 с.

REFERENCES (1, 4, 8, 11-14)

1. Kurilo L.F. i soavt. Vliyanie bessimptomnyh infekcij urogenital'nogo trakta na pokazateli eyakulyata u muzhchin s besplodiem i varikocele. *Andrologiya i genital'naya hirurgiya.* 2016; 17(2): 98-103. doi:10.17650/2-070-9781-2016-17-2-98-103. (In Russian)
4. Klinicheskie rekomendacii po andrologicheskoy urologii/ pod red. P. A. SHCHepleva. M.: Medforum. 2016. 120 s. (In Russian)
8. Kogan M.I., Macionis A.E., Belousov I.I., Povilajtite P.E. Morfologicheskie dokazatel'stva ishemicheskoy prirody fibroza predstatel'noj zhelezy pri klassicheskom sindrome hronicheskoy tazovoj boli/hronicheskom prostatite PIB. *Urologiya.* 2018; (3): 12-18. doi:10.18565/urology.2018.3.12-18(In Russian)
11. YAkovlev S.V., Rafal'skij V.V., Sidorenko S.V., Spichak T.V. Strategiya i taktika racional'nogo primeneniya antimikrobnih sredstv v ambulatojnoj praktike: Evrazijskie klinicheskie rekomendacii. M.: Pre100 Print; 2016; 144. (In Russian)
12. Rahmatulina MR, Sokolovskij EV, Malova IO, Serov VN, Apolihina IA, Melkumyan AG. Federal'nye klinicheskie rekomendacii po vedeniyu bol'nyh hlamidijnoj infekciej. *Akush. i gin.* 2016; (4 Prilozh.): 57-63. (In Russian)
13. Perepanova TS, Kozlov RS, Rudnov VA, Sinyakova LA. Antimikrobnaya terapiya i profilaktika infekcij pochek, mochevyvodyashchih putej i muzhskih polovyyh organov. Federal'nye klinicheskie rekomendacii. M: 2015; 72. (In Russian)
14. Urologiya. Rossijskie klinicheskie rekomendacii/ pod red. YU.G. Alyaeva, P.V. Glybochko, D.YU. Pushkary. M. «Medforum»: 2018. – 544 s. (In Russian)