МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ - СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО МИКРОБИОЛОГИЯ

Д-р Симеон Димитров Рангелов
УМБАЛ "Царица Йоанна - ИСУЛ" ЕАД

МИКРОБИОЛОГИЧНИ ПРОУЧВАНИЯ ВЪРХУ ПОЛОВО ПРЕДАВАНИ ИНФЕКЦИИ И РОЛЯТА ИМ ЗА ВЪЗНИКВАНЕ НА МЪЖКИ ИНФЕРТИЛИТЕТ

ДИСЕРТАЦИЯ
за присъждане на образователна и научна степен „Доктор"

НАУЧНИ РЪКОВОДИТЕЛИ:
Чл. кор. Проф. д-р Иван Гергов Митов, дмн
Проф. д-р Йорданка Великова Узунова, дмн

Научна специалност
01.06.12.Микробиология

София, 2015

Съдържание

	Използвани съкращения.....	4
I.	ВЪВЕДЕНИЕ.....	5
II.	ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР.....	8
1.	ПОЛОВО ПРЕДАВАНИ ИНФЕКЦИИ (ППИ) И ТЕХНИТЕ ПРИЧИНИТЕЛИ.....	8
1.1.	Хламидиите като причинители на ППИ.....	13
1.1.1.	Обща характеристика и медицинско значение.....	13
1.1.2.	Лабораторна диагностика на хламидиалните инфекции.....	21
1. 2.	Neisseria gonorhoeae като причинител на ППИ.....	27
1.2.1.	Обща характеристика.....	27
1.2.2.	Лабораторна диагностика на гонореята.....	31
1.3.	Микоплазмите като причинители на ППИ.....	32
1.3.1.	Таксономия, морфология и физиология на микоплазмите.....	32
1.3.2.	Медицинско значение на микоплазмите.....	33
1.3.3.	Епидемиология на микоплазмите.....	34
1.3.4.	Лабораторна диагностика на микоплазмите.....	36
1.4.	Trichomonas vaginalis като причинител на ППИ.....	37
1.4.1.	Морфология и физиология на трихомоните.....	37
1.4.2.	Патогенеза на трихомоназата.....	38
1.4.3.	Медицинско значение на трихомоните.....	39
1.4.4.	Епидемиология на трихомоназата.....	40
1.4.5.	Лабораторна диагностика на трихомоназата.....	40
2.	ИНФЕРТИЛИТЕТ ПРИ МЪЖА.....	42
2.1.	Възможност за зачеване.....	42
2.2.	Определение за безплодие.....	43
2.3.	Разпространение на безплодието.....	43
2.4.	Скрининг.....	47
2.5.	Критерии за оценка на спермалния анализ.....	48
3.	Лечение на полово предавани инфекции.....	50
III.	ЦЕЛ И ЗАДАЧИ.....	54
IV.	МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ.....	55
1.	МАТЕРИАЛ.....	56
1.1.	Анамнестични данни, събрани при провеждане на прегледите.....	56
1.2.	Клинична симптоматика при заболявания на половите органи.....	57
2.	МЕТОДИ.....	57
2.1.	Микробиологични методи за изследване на хламидии.....	57
2.1.1.	Получаване и транспорт на материалите.....	57

2.1.2. Клетъчно култивиране и имунофлуоресцентен метод (ИФМ) за доказване на хламидии..... 58
2.1.3. Изолиране на хромозомна и плазмидна ДНК от клинични материали и контролни щамове..... 59
2.1.4. Полимеразна верижна реакция (PCR) за доказване причинители на ППИ..... 59
2.1.5. Наблюдение на нативен препарат за подвижни трихомони и изолиране на T. vaginalis чрез TV4 среда..... 60
2.2. Сперматологични методи..... 61
2.2.1. Спермален анализ (конвенционален) на еякулат..... 61
2.2.2. Процедура по даване на еякулат за спермален анализ..... 62
2.2.3. Изисквания към лабораторията..... 63
2.2.4. Макроскопски изследвания..... 64
2.2.5. Микроскопско изследване..... 65
2.2.6. Методи за определяне на виталитета..... 66
2.2.7. Методи за определяне на виталитета..... 66
2.2.8. Морфология на сперматозоидите и нейната класификация..... 66
2.2.9. Използваните референтни стойности..... 67
2.2.10. Анализ на материала..... 68
2.2.11. Статистически методи 69
V. СОБСТВЕНИ РЕЗУЛТАТИ 71
1. Анамнеза..... 71
2. Клинична симптоматика..... 72
3. Резултати от микробиологичните изследвания..... 81
4. Резултати от сперматологичните изследвания..... 85
5. Анализ на резултатите преди лечение..... 94
6. Лечение и профилактика на ППИ..... 96
7. Анализ на резултатите от откритите микроорганизми след лечение..... 101
8. Анализ на резултатите от спермограмите след лечение..... 103
VI. ОБСЪЖДАНЕ 104
Изводи 137
Приноси 138
VII. ЛИТЕРАТУРА 140
VIII. ПРИЛОЖЕНИЯ 151
Списък с публикациите 176

Използвани съкращения

АРТ	- Асистирана репродуктивна техника
АТФ	- аденозинтрифосфорната киселина
БВ	- Бактериална вагиноза
ДНК	- Дезоксирибонуклеиновата киселина
ДИФ	- Директна имунофлуоресценция на натривки
DIF	- Директна имунофлуоресценция на натривки
ЕТ	- Елементарни телца
ИТ	- Инклузионни телца
ИФТ	- Имунофлуоресцентна технология
НГУ	- Негонококов уретрит
НК	- Нуклеинови киселини
ППИ	- Полово предавани инфекции
ЧПВ	- Човешки папилома вирус
РТ	- Ретикуларни телца
РПХ	- Реакция пасивна хемолиза
MOMP	- Major outer membrane protein главния протеин на външната мембрана
РНК	- Рибонуклеинова киселина
СТ	- Chlamydia trachomatis
ЛПЗ	- Липополизахариден антиген
ПАП	- Цитонамазка
ОКГДП	- Остър катар на горните дихателни пътища
ECDC	- Европейски център за контрол и превенция на заболяванията
HSV2	- Генитален херпес симплекс вирус
LGV	- Lymphogranuloma venereum - венерическа лимфогрануломатоза
РСК	- Реакция за свързване на комплемента
NGU (Ngu)	- Негонококов уретрит
PID	- Тазова възпалителна болест
HBMI	- Висок индекс на телесна маса
BMI	- Индекс на телесна маса
ELISA (EIAs)	- Ензим-свързан-имуносорбентен серологичен анализ
ICSI	- Intracytoplasmic sperm injection
CDC	- Център за контрол и превенция на заболяванията към СЗО
PID	- Pelvic inflammatory disease
PR	- Прогресивно подвижни
GISP	- Gonococcal Isolate Surveillance Project
IVF	- Ин витро оплождане
PCR	- Полимеразна верижна реакция
RT-PCR	- Reverse transcription-polymerase chain reaction
ROS	- Активни свободни кислородни радикали
TMA	- Transcription Mediated Amplification
LCR	- Лигазна верижна реакция
LGV	- Lymphogranuloma venereum
TMA	- Transcription Mediated Amplification
SDA	- Strand Displacement Amplification
STD	- Сексуално предавани инфекции
HIV	- Човешки имунодефицитен вирус
GISP	- Gonococcal Isolate Surveillance Project
WHO или СЗО	- Световна Здравна Организация

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Полово предаваните инфекции (ППИ) са проблем от глобален мащаб със сериозни физиологични и психологически последствия както за мъжете, така и за жените, като нерядко биват засегнати и децата. Причините за това са много. Така например по-голямата част от полово предаваните инфекции протичат без клинични изяви (по данни на СЗО приблизително 70-75% от инфектираните с ППИ остават безсимптомни за дълъг период от време или клиничната изява е бедна и хората пренебрегват наличието ѝ).

Някои ППИ може да увеличат риска от развитие на други заболявания три или повече пъти. Лекарствената резистентност, особено при гонореята, е сериозна заплаха за разпространението на ППИ в световен мащаб.

ППИ може да имат сериозни последствия извън непосредственото въздействие на самата инфекция. Например предаването на инфекции от майката към детето, както и развитието на хронични заболявания.

Най-често наблюдаваните клинични изяви, асоциирани с ППИ, са: уретрит (негонококов и постгонококов уретрит), епидидимит, орхит, простатит, инфертилитет, стерилитет и/или еректилна дисфункция - при мъжете; тазово-възпалителна болест (PID), перихепатит, ектопична бременност, инфертилитет и преждевременно раждане - при жените.

Към ППИ се отнасят гонореята, сифилисът, C. trachomatis инфекциите, HIV инфекцията, папилома и херпес вирусните ППИ, кандидозата, трихомоназата, микоплазмените ППИ и други. По полов път могат да се предават и хепатитните вируси B и C. Проучвания на СЗО сочат, че повече от 1 млн. души придобиват полово предавани инфекции всеки ден. Всяка година около 500 млн. души заболяват от една от четирите ППИ: хламидиална, гонорея, сифилис и трихомоназа.

Нерядко ППИ имат като последствие развитието на много усложнения, едно от които е стерилитетът. Инфертилитетът се определя като неспособност да се зачене след дванадесет месеца незащитен полов акт [83]. Глобалните прогнози за безплодие варират между 8 и 12% при двойките с жени в детеродна възраст, които засягат между 50 и 80 млн. души.

Безплодието често се възприема като нарушение предимно при жените, въпреки че мъжкият фактор е също толкова широко разпространен и представлява половината от причините за инфертилитет [215]. При около 20% от инфертилните двойки безплодието не се дължи на нито един от половете и е с неизвестен произход [237]. Може би поради множеството причини, които водят до развитието на инфертилитет както сред жените, така и сред мъжете, липсват данни в световен мащаб за преобладаване на мъжкия стерилитет.

Този проблем е налице както по света, така и у нас. И ако се коментира проблемът от страна на мъжкия фактор, то причините за развитието му варират от хормонални нарушения до физиологични и психологически проблеми. Сред тях водещо място заемат инфекциите и по-специално ППИ.

В България съществуват данни за епидемиологията, клиниката, лечението и организацията на борбата с гонококцията. Те са проучени и анализирани за периода 1974-1989 г. [23]. От тогава такива проучвания се провеждат регулярно само в определени микробиологични центрове [20] и не обхващат територията на цялата страна, макар прилаганите методи да са съвременни, високо чувствителни и специфични.

Изследвания за разпространението на ППИ в нашата страна има, но те, като изключим заболяванията, които подлежат на диспансеризация, не се изследват регулярно, целенасочено, по програми, обхващащи голям контингент от хора, а спорадично. Така например данните за полово предаваната хламидиална инфекция у нас се базират на проучвания на отделни колективи, а използваните методи и тестове са с различна чувствителност и специфичност, невъзможни за възпроизводимост и трудни за съпоставка. Напредък в развитието и съвременната диагностика на C. trachomatis ППИ в България се отбелязва с въвеждането на културелния метод [23, 25].

Проучванията за честотата на микоплазмените ППИ у нас са малко, недостатъчни и налагащи допълнителна интерпретация във връзка с вероятността част от тези бактерии да бъдат нормална микрофлора в уринарния тракт при мъжа и жената.

В настоящия труд са представени резултати, касаещи разпространението и клиничната роля на значимите за България бактериални причинители на ППИ - *C.*

trachomatis, N. gonorrhoeae, U. urealyiticum, M. genitalium u Mycoplasma hominis, T. vaginalis и тяхното влияние върху инфертилитета при мъжа.

Комбинирането на съвременни диагностични методи и тестове в лабораторната практика като култивиране на *C. trachomatis* в клетъчни линии и последващото им доказване чрез имунофлуоресценция с използването на специфични моноклонални антитела, както и PCR за доказване на ДНК на различни видове микроорганизми в един и същи клиничен материал, е важен момент в навременното откриване на инфекциите в уро-гениталния тракт и съответно в успешното лечение на инфекциозно причинения инфертилитет у мъжа.

II. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

1. ПОЛОВО ПРЕДАВАНИ ИНФЕКЦИИ (ППИ) И ТЕХНИТЕ ПРИЧИНИТЕЛИ

Полово предаваните инфекции (ППИ) имат дълбоко влияние върху сексуалното и репродуктивно здраве в световен мащаб и се нареждат сред топ пет на категориите болести, които са обект на профилактика и лечение.

По данни на СЗО [313] повече от 1 млн. души придобиват полово предавана инфекция всеки ден. Всяка година около 500 млн. души се заразяват с една от четирите полово предавани инфекции: хламидиална, гонорея, сифилис и трихомоназа. Още над 530 млн. души живеят с HSV2.

Всяка година СЗО регистрира приблизително между 78 и 330 млн. нови случая на инфекции от страна на урогениталната система, причинени от *C. trachomatis, N. gonorrhoeae, U. urealyiticum u M. genitalium* [302].

По-долу са представени данните за очаквани нови случаи на лечими полово предавани инфекции (гонорея, хламидия, сифилис и трихомоназа) от регион, обследван от СЗО [313]. Полово предаваните инфекции могат да имат сериозни последствия - освен непосредственото им въздействие, те могат да увеличат риска от придобиване на ХИВ три или повече пъти [23].



В доклада от 2011г. на Световната организация на здравеопазването [201] е представена оценката на главните ППИ (*C. trachomatis, N. Gonorrhoeae, T. vaginalis* и сифилис) за 2005 г., при пациенти във възрастта между 14-49 г. Общият брой на новите случаи се оценява на 101 млн. за *C. trachomatis* и на 88 млн. души за *N. Gonorrhoeae*.

От 2009 г. Европейският център за превенция и контрол на заболяванията (ECDC) координира наблюдението на ППИ в Европа. Първият мониторингов доклад обхваща периода 1990-2009 г. [310].

Полово предаваните болести от майка на дете водят до раждане на мъртво дете, неонатална смърт, раждане на бебета с ниско тегло, преждевременно раждане, сепсис, пневмония, неонатален конюнктивит, както и вродени малформации.

Сифилисът по време на бременност води до приблизително 305 000 фетални и неонатални смъртни случая всяка година и излага 215 000 бебета на повишен риск от смърт при преждевременно раждане, ниско тегло или вродено заболяване [313].

Полово предавани болести с причинители гонорея и хламидия са главните причини за тазово-възпалителна болест, неблагоприятни последствия за бременност и стерилитет както при жените, така също и при мъжете

Повече от 30 са причинителите на ППИ - бактерии, вируси и паразити, като предаването на инфекцията става предимно чрез полов контакт, включващ вагиналния, аналния и оралния секс. В табл. 1 са представени етиологичните причини на ППИ.

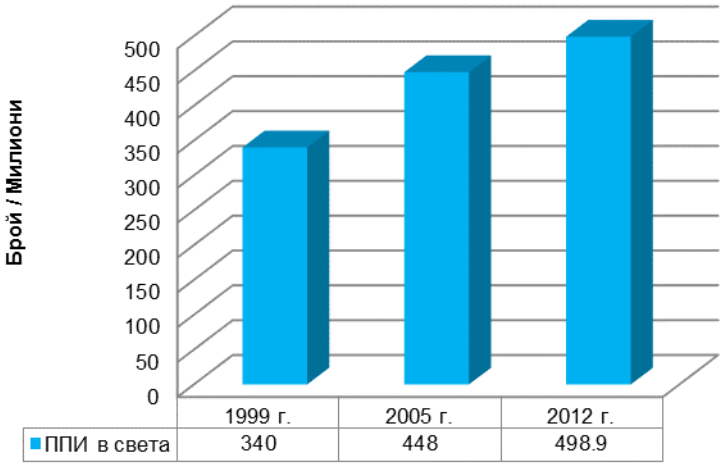
Таблица 1. Най-често търсени и доказвани етиологични причинители на ППИ.

Бактерии	**Вируси**
Neisseria gonorrhoeae	*Human herpes virus 1 u 2*
Chlamydia trachomatis	*Hepatitis B u C virus*
Mycoplasma genitalium	*Human herpes virus 5 (*Cytomegalovirus*)*
Ureaplasma urealyticum	HPV
Treponema pallidum	*Molluscum contagiosum virus*
Gardnerella vaginalis	*HIV*
Hemophilus ducreyi	**Ектопаразити**
Klebsiella granulomatis	*Phthirus pubis*
Протозои	*Sarcoptes scabei*
Trichomonas vaginalis	**Гъбички**
Entamoeba histolytica	*Candida albicans*
Giardia lamblia	

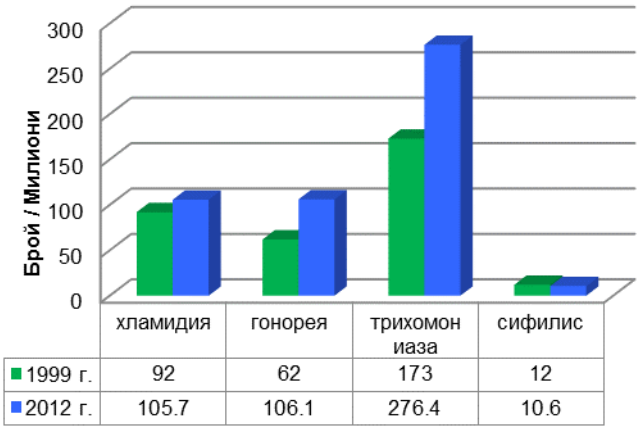
Полово предаваните инфекции са сериозен проблем от глобален мащаб. СЗО установява, че 1 млн. души всеки ден придобиват ППИ, включително човешкия имунодефицитен вирус [279]. Новопоявилите се случаи на лечими ППИ (*C. trachomatis, N. gonorrhoeae*, трихомоназа и сифилис) при 15–49- годишните за

1999 г., 2005 г. и 2012 г. [279, 298, 313] са представени общо на фиг. 1 и причинителите за 1999 г. и 2012 г. [279, 298] – на фиг. 2.

Някои ППИ могат да се разпространяват чрез кожата и лигавиците. Организмите, които причиняват полово предавани болести, могат да се разпространят чрез несексуални средства, като например кръвни продукти и трансфер на тъкан. Много ППИ - гонорея, хепатит B, HIV, ЧПВ, HSV2 и сифилис, могат да се предават от майка на дете по време на бременността и раждането.



Фиг. 1. Нови случаи на лечими ППИ сред световното население при 15-49-годишна възраст (1999, 2005 и 2012 г.).



Фиг. 2. Нови случаи на лечими ППИ (причинители) сред световното население при 15-49-годишна възраст (1999 г. и 2012 г.).

Едно лице може да има ППИ без видими симптоми на болестта. Ето защо терминът "сексуално предавани инфекции" е по-широко понятие от "венерическа болест" (STD).

Осем от повече от 30 известни микроорганизма, които се предават чрез сексуален контакт, са свързани в най-голяма степен с честотата на заболяването. От тези осем инфекции четири в момента са лечими: сифилис, гонорея, хламидиална и трихомоназа. Останалите четири инфекции са вирусни и са нелечими, но могат да бъдат смекчени или модулирани чрез третиране с различни медикаменти: хепатит В, херпес, HIV.

В числото на причинителите на инфекции, водещи до патологични състояния в урогениталния тракт, все по-активно се проучват гениталните микоплазми и уреаплазми, за които сигурно установените взаимовръзки с инфертилитета са малко, а дебатите за тях са оспорвани.

ППИ са проблем не само поради възникването на остро състояние, водещо до дискомфорт. Симптоматичните и безсимптомните недиагностицирани и/или неадекватно лекувани ППИ могат да се усложнят и да се превърнат в причина за развитието на състояния с тежък здравословен и финансов товар както за самия пациент и партньора/ите, така и за обществото. Оставяйки настрана сериозността на всяка една от ППИ, трябва да се има предвид и фактът, че те играят роля при половото предаване на HIV инфекцията. Самото наличие на нелекувана ППИ може да промени риска за придобиване и пренасяне на HIV с фактор със стойност повече от 10%. От друга страна, контролът и терапията на ППИ може да намали честотата на HIV-1 инфекцията в популацията с приблизително 40% [107]. Ето защо превенцията и лечението на ППИ се явяват основен компонент в стратегията за HIV инфекцията, както и в стратегията за овладяване на част от причините за инфертилитет.

Клиничните състояния, които се развиват при ППИ, включват: уретрит, бартолинит, цервицит, епидидимит, тазово-възпалителна болест (PID - Pelvic inflammatory disease), ендометрит, салпингит, перитонит, тубооварнален абсцес, инфертилитет, спонтанен аборт, ектопична бременност и/или преждевременно раждане, простатит, фарингиална инфекция, проктит, офталмия неонаторум и дисеминиране на инфекцията (Табл. 2).

Таблица 2. Причинители на ППИ и свързани с тях клинични заболявания.

Причинител	Заболяване
Neisseria gonorhoeae	Гонорея (уретрит, цервицит, проктит, фарингит, бленорея, ендометрит, възпаление в малкия таз, перихепатит, бартолинит, дисеминирана гонорея)
Chlamydia trachotnatis	Серовари D – K: негонококов уретрит, епидидимит, цервицит, салпингит, бартолинит, епидидимит, проктит, синдром на Райтер, перинатална пневмония;
	L1, L2, L3 - lymphogranuloma venereum
Treponema pallidum	Сифилис
Mycoplasma genitalium	Негонококов уретрит
Ureaplasma urealyticum	
Haemophilus ducreyi	Шанкроид (мек шанкър)
Klebsiella granulomatis	Granuloma inguinale (донованоза)
*Papillomavirus (*Генотипове 6, 11, 16, 18)	Condylomata accuminata (генитални брадавици), ларингеална папилома на новороденото, дисплазия => карцином на цервикса, пениса и др.
HIV 1 и HIV 2	HIV инфекция (носителство), СПИН, асептичен менингит, подостри неврологични синдроми, персистираща генерализирана аденопатия, вторични инфекции и т.н.
Herpes symplex virus 1 и 2 (HSV1 и 2)	Първичен и рецидивиращ генитален херпес, асептичен менингит, неонатален херпес
Cytomegalovirus (HHV5)	Вродени малформации
Hepatitis B virus (HBV)	Хепатит В
Molluscum contagiosum virus	Генитален Molluscum contagiosum
Candida albicans	Вулвовагинит, кандидоза на пениса
Trichomonas vaginalis	Трихомонаден вагинит
Phtirius pubis	Въшливост по пубиса и ± вежди и аксили
Sarcoptes scabiei	Краста

За съжаление въпреки наличието на етиологична терапия за част от ППИ те остават нерешен здравен обществен проблем както за развитите, така и за развиващите се страни. Причина за това са множество фактори, в това число качеството на предлаганите здравни услуги по отношение на ППИ, което, от своя страна, определя доколко хора с подобни проблеми могат и реално търсят помощ

и лечение; доброто познаване на съответните заболявания и техните клинични прояви; качеството и методите за достоверна диагностика; и не на последно място - организацията на здравната мрежа за докладване и наблюдение на всички пациенти. В допълнение идват фактори като безсимптомните или атипични прояви при част от заболяванията, както и стигмата сред обществото за налична ППИ и нежеланието на клинично изявения пациент да се обърне за адекватна помощ към специалистите в областта.

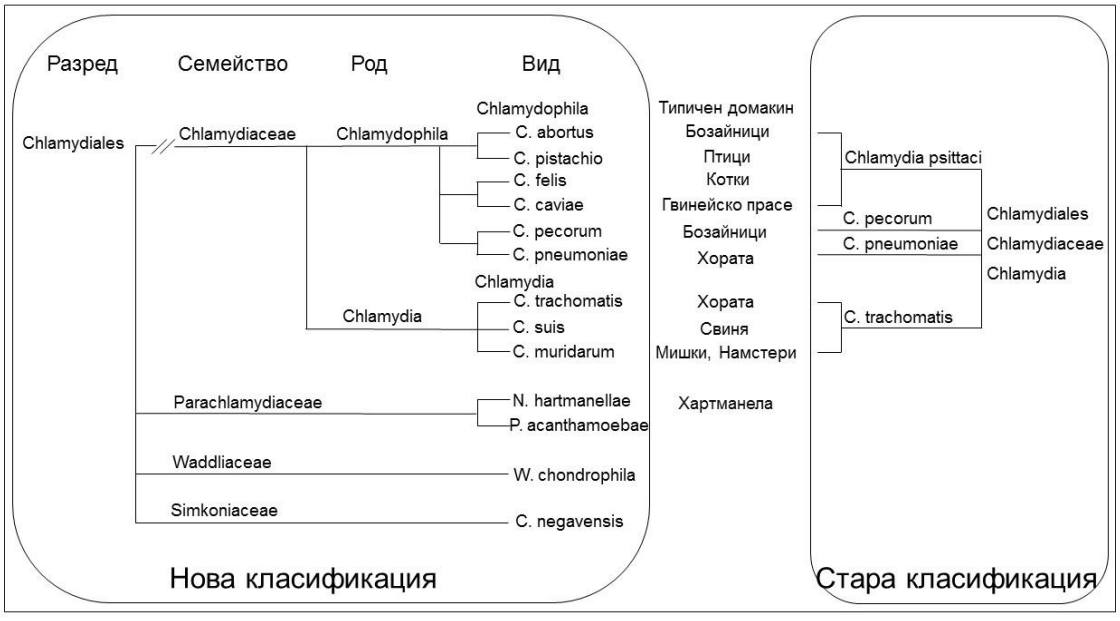
1.1. Хламидиите като причинители на ППИ

1.1.1. Обща характеристика и медицинско значение

Хламидиите са облигатни вътреклетъчни Грам-отрицателни бактерии с уникален цикъл на развитие и голямо значение за човешката патология. Данните за причинявани от тях заболявания съществуват от много години. Така например трахомата е описана още през древността. Лимфогрануломатозата, конюнктивитът с включвания, пситакозата и негонококовият уретрит, обаче, се дефинират и описват през 19-и и 20-и век.

От 1999 г. е в сила обновена номенклатура на хламидиите, предложена от Everett на базата на по-точни молекулярно-генетични изследвания [95]. Според съвременната таксономия сем. Chlamydiaceae включва два рода - genus Chlamydia и genus Chlamydophila и девет вида (Табл. 3).

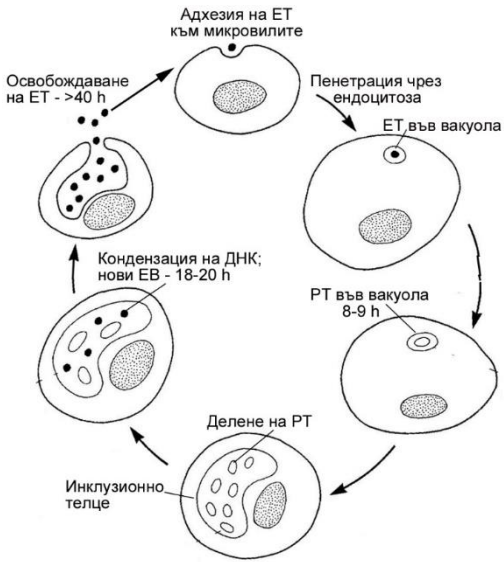
Таблица 3. Класификация на хламидиите.



Хламидиите са коковидни Грам-отрицателни, неподвижни облигатни вътреклетъчни бактерии. Не притежават ресни, пили, капсули и спори. Хламидиите имат външна мембрана и клетъчна стена, сходни с клетъчната стена на други Грам-отрицателни бактерии, но пептидогликанен слой в тях не е доказан. Хромозомата е двойно верижна, пръстеновидна с ДНК с около 660 kDa [104] (МТ - 7 x 108), която кодира приблизително 600 протеини. Хламидиалният геном на референтни C. trachomatis и C. pneumoniae щамове е изцяло секвенсиран като част от хламидиалния геномен проект (Chlamydia Genome Project) [136, 257]. Повечето щамове C. trachomatis и C. psittaci притежават криптичен плазмид. При C. trachomatis именно 7.5-kb плазмид се използва като възможна и предпочитана мишена в полимеразната верижна реакция (PCR) в диагностиката на хламидиалните инфекции. Две са причините за това плазмидът да се използва в диагностичната практика. Първата е, че геномът на всички установени плазмиди на C. trachomatis изолати от човек притежават изключително сходство, като различие се доказва едва в 1% от нуклеотидната секвенция. C. trachomatis плазмидите са с размер приблизително 7,500 нуклеотида [265]. Втората е наличието на приблизително 7-10 копия на плазмида във всяка хламидиална частица [259], което увеличава шанса за детекция на тази структура. Съществуват обаче и щамове C. trachomatis, при които липсва плазмид [98, 185].

Хламидиите се размножават само в еукариотни клетки. Те не синтезират пуринови и пирамидинови нуклеотиди, с изключение на цитозин трифосфат. Образуват изключително малко или въобще не образуват аденозинтрифосфат. Това ги прави зависими от гостоприемниковите клетки, явяващи се за тях източници на нуклеотиди и енергия.

Въпреки че хламидиите притежават един от най-малките геноми сред клас Eubacteria, те се размножават чрез уникален по своята същност двуетапен цикъл (Фиг. 3).



Фиг. 3. Растежен цикъл на хламидиите.

Хламидиите съществуват в две обособени морфологично различни форми -

елементарни телца (ЕТ) и ретикуларни телца (РТ), преминаващи една в друга в процеса на сложен цикъл на развитие с продължителност между 48 – 72 ч. при различните видови представители [190, 288] (Табл.4). ЕТ са извънклетъчната, инфекциозна форма на микроорганизма с големина около 0,2-0,4 μm. ЕТ са метаболитно неактивни, с компактен ядрен материал, няколко рибозоми и ригидна трислойна клетъчна стена.

Таблица 4. Характеристика на важните за патологията при човека видове от сем. Chlamydiaceae.

Вид	Гостоприемник	Локализация	G + C %, Плазмид	Характеристика на ИТ ** и ЕТ**
Chlamydia trachomatis: Biovar trachoma - Серовари A, B, Ba и C - Серовари D - K Biovar LGV*** - Серовари L1, L2 и L3	Човек	Очи Урогенитален тракт, очи, стави, бял дроб Гениталии	42-45, Криптичен 7,5 kb плазмид в повечето щамове	ИТ: овални, зърнести, с вакуоли, съдържат гликоген и се оцветяват с йод ЕТ: кръгли
Chlamydophila psittaci (*Chlamydia psittaci**)	Птици, алтернативен гостоприемник – човек	Бял дроб, слезка, черен дроб, мозък, очи, черва и др.	39 - 43, Криптичен плазмид, различен от този на *C. trachomatis*	ИТ: с по-разнообразна форма, по-компактни и плътни, не съдържат гликоген и не се оцветяват с йод ЕТ: кръгли
Chlamydophila pneumoniae: (*Chlamydia pneumoniae**) Biovar TWAR Biovar Koala Biovar Equine	Човек Коала Кон	Бял дроб, артерии, стави, мозък и др.	40, Не е открит плазмид	ИТ: овални, компактни и плътни, не съдържат гликоген и не се оцветяват с йод ЕТ: крушовидни

* Предшестващи наименования на видовете; ** ИТ – инклузионни телца, ЕТ – елементарни телца; *** LGV – Lymphogranuloma venereum

Цикълът на размножаване започва с прикрепване на ЕТ към таргетна клетка. Следва процес на интернализация посредством рецептор-медиирана ендоцитоза и пиноцитоза. Специфичните хламидиални адхезини и клетъчни рецептори не са добре проучени. Проучвания на Zhang и Stephens [309], доказват ролята на хепаран-

сулфат-подобен адхезин, синтезиран от C. trachomatis, серотип LGV2 (L2), участващ в прикрепването на хламидиите към HeLa клетъчната линия. Хепаран сулфат - подобен глюкозаминогликан се предполага, че е вероятен клетъчен рецептор за C. pneumoniae в човешки епителни клетки [303]. След свързването с прицелната клетка и интернализирането на ЕТ се формира вакуола, често наричана инклузионна. Така образуваната вакуола се транспортира перинуклеарно. Важен момент в растежния цикъл на хламидиите, както и механизъм за вътреклетъчно оцеляване, е специфичното инхибиране - сливането на лизозомите с фагозомите (инклузионната вакуола) и препятстване образуването на фаголизозома. Между 6 и 8 часа са необходими на интернализираното ЕТ, за да се диференцира, реорганизира и превърне в ретикуларно телце с гъвкава трислойна мембрана, богато на РНК.

Ретикуларните телца – РТ, са с големина около 1 μm. Характеризират се с по-малка плътност спрямо ЕТ, фибриларен ядрен материал, значително по-голямо количество рибозоми и по-флексибилна клетъчна стена. Те са вътреклетъчната, неинфекциозна, метаболитно активна и репликативна форма на хламидиите. Репликацията се осъществява чрез просто делене, като постепенно вакуолата се уголемява и РТ се реорганизират в ЕТ, които при C. pneumoniae са с крушовидна форма. В края на цикъла едно инклузионно телце може да съдържа хиляди ЕТ и размерът му да надвишава многократно този на ядрото на клетката - гостоприемник. Цикълът най-често завършва с разрушаване на гостоприемниковата епителна клетка и освобождаването на множество ЕТ. Съществуват данни, че е наблюдавано и изхвърляне на интактни инклузионни вакуоли, както и екзоцитоза - подобен механизъм, като вероятен друг начин на освобождаване на ЕТ в междуклетъчните пространства. В зависимост от вида на хламидиите, както и от условията им за развитие, дележният цикъл може да бъде с различна продължителност – най-често около 48 ч. при C. trachomatis и 72 ч. при C. pneumoniae.

Хламидиите са облигатни вътреклетъчни паразити с изразен тропизъм към епителните клетки на лигавиците, но е възможно инфектиране и на други клетки. C. trachomatis L2 се размножава предимно в регионалните (ингвинални) лимфни възли, което се свързва с развитието на хроничен възпалителен процес и формирането на мононуклеарна инфилтрация. C. psittaci проявява тропизъм към белия дроб и към клетките и органите на ретикуло-ендотелната система.

Изразена пневмотропност проявява и C. pneumoniae. Доказана е чувствителността на моноцити, макрофаги, гладки мускулни клетки и ендотелни клетки. В лабораторни условия хламидиите се развиват само в чувствителни лабораторни животни, в жълтъчния сак на кокоши ембриони и в клетъчни култури.

Съвременното разбиране за хламидиалния родовоспецифичен антиген е, че той представлява липополизахариден антиген, общ за родовете Chlamydia и Chlamydophila. Хламидиалният ЛПЗ е в R форма и е сходен с Re ЛПЗ на Грам-отрицателните бактерии [52, 54, 198]. Дава кръстосана реактивност с ЛПЗ антигени от Грам-отрицателни бактерии от Re хемотип, което ги прави недостоверни, а оттам - и неприложими в диагностиката на хламидиалните инфекции.

Хламидиите са микроорганизми с важно значение за човешката патология, особено като се има предвид, че те са една от водещите причини за развитието на ППИ в света. Основните инфекциозни състояния, причинени от патогенните за човека хламидии - *C. trachomatis, C. psittaci и C. pneumoniae*, са систематизирани в Табл. 5.

Таблица 5. Медицинско значение на патогенните за човека хламидии и заболяванията, причинени от тях.

ВИД	ЗАБОЛЯВАНЕ
Chlamydia trachomatis Biovar trachoma серовари A, B, Ba, C	Трахома
серовар D, E, F, G, H, I, J и K	**Уретрити, цервицити, ендометрити, салпингити, проктити** **При жените** - мукопуролентен цервицит, уретрит; често асимптоматично носителство в цервикса с опасност от асцендентна инфекция с възпалително заболяване на малкия таз (ендометрит, салпингит, стерилитет, перинефрит, ектопична бременност); бартолинит; **При мъжете** - уретрит, простатит, епидидимит, стерилитет; често асимптоматично носителство **в двата пола** - конюнктивит с включвания, проктит и реактивен артрит (синдром на Райтер); **при новородените** - конюнктивит с включвания и интерстициална пневмония.
Biovar LG серовар L 1, 2, 2a и 3	Lymphogranuloma venereum
Chlamydophila psittaci	Орнитоза (пситакоза) и рядко инфекциозен аборт
Chlamydophila pneumoniae	Острите форми: интерстициална пневмония (ПАП), остър бронхит, синуит, среден отит, ОКГДП, кардит, васкулит, реактивен артрит. Хронични форми: ХОББ, астма, саркоидоза. Връзка с атеросклерозата.

Локализацията, клиничната проява и протичането на хламидиалните инфекции, причинени от различни видове и серовари, се различават чувствително. Така например C. trachomatis серовари A, B, Ba и C причиняват трахома - тежък хроничен кератоконюнктивит и кератит, често водещ до ослепяване.

C. trachomatis серовари B и D-K причиняват урогенитални, очни и неонатални инфекции [208, 224, 292]. C. trachomatis се счита за най-честата причина за ППИ в света. В Европа C. trachomatis е причина за най-често срещаните полово предавани инфекции. През 2009 г. са отчетени 343 958 случая на хламидия в 23 държави-членки, от които 88% в четири страни (Дания, Норвегия, Швеция и Великобритания).

Във Франция от 1997 г. броят на случаите, определени от мрежите за наблюдение, има постоянно увеличение [312].

От 2002 г. скринингът на безсимптомните форми се разраства бързо.

Национална анкета сред населението от 18 до 68-годишна възраст на случаен принцип е проведена по телефона през 2006 г. Скрининг със самостоятелно вземане на проби е предложен на лица на възраст 18-44 г. Изследвани са общо 2580 души. Разпространението е било 1,4% при мъжете и 1,6% при жените на възраст от 18 до 44 години, а най-високо е отчетено сред 18-29-годишните (мъже: 2,5%; жени: 3,2%) [110]. До 80% от инфекциите при жените и до 50% от инфекциите при мъжете са асимптоматични и затова са опасни като източник на инфекцията [75, 178, 225, 227, 253, 308]. При налична клиника симптомите най-често са представени от леко посткоитално кръвотечение, болки в малкия таз, промяна в качествата на вагиналния секрет, цервицит и дизурия при жените, както и парене, дразнене, дизурия и промяна на уретралния секрет при мъжа. Степента на изява на симптомите варира в широк диапазон – от най-слабо проявени до силно изявени. Приблизително 10-40% от нелекуваните от хламидиална инфекция жени развиват тазово-възпалителната болест, а 20% от тях стигат до ектопична бременност, преждевременно раждане, хроничен болков синдром в областта на малкия таз, включително и до инфертилитет. Рискът от развитие на PID се увеличава с всяко следващо инфектиране с микроорганизма. Други усложнения на недиагностицираната, нелекувана или неправилно лекувана хламидиална инфекция са синдромът Fitz-Hugh-Curtis – перихепатит; тетрадата,

включваща полиартрит, конюнктивит, уретрит и кожно-лигавични лезии, която се проявява като усложнение на уро-генитална инфекция, по-честа сред мъжете [46] и до скоро известна под наименованието „синдром на Reiter“; предаване на инфекцията на новороденото с възможно развитие на неонатален конюнктивит или пневмония, епидидимит, орхит [292].

C. trachomatis LGV серотипове L1, L2 и L3 причиняват венерическа лимфогрануломатоза (LGV-lymphogranuloma venereum) [224]. Щамовете LGV значително се различават от останалите серотипове C. trachomatis по отношение на тяхната способност да растат в клетъчни линии, без да се налага асистираното центрофугиране на материала за проникване на микроорганизмите в чувствителния монослой, както и без предварителното обработване на клетките гостоприемници с поликатионни съединения. От друга страна, се характеризират с по-бърз цикъл на развитие спрямо останалите хламидии. В клинично отношение биовар LGV притежава силно изразен тропизъм към лимфоидната тъкан и способност за предизвикване развитието на системно заболяване. Венерическата лимфогрануломатоза е хронична ППИ, която се среща предимно в Индия, Африка, Югоизточна Азия, но която въпреки това е повсеместно разпространена със спорадични случаи в Северна Америка, Австралия и Европа. В развитите страни, където заболяването се развива предимно сред хомосексуално насочените индивиди или чернокожите [206], гениталната форма на инфекцията е сред разпознаваемите [225]. В САЩ новите случаи LGV на година са приблизително 350 [162].

Бактериите от рода Chlamydia предизвикват очни, респираторни инфекции, и инфекции на гениталиите. На серотиповете Д до К са отговорни за гениталните инфекции. Способността на C. trachomatis да се трансформират редовно, тръгвайки от пасивните форми (елементарни тела) в репликативна форма, позволява постоянното им присъствие в гениталния тракт [256]. Началните етапи на имунния отговор към инфекцията с Chlamydia бяха прегледани наскоро [30]. Повечето инфекции, първоначално "тихи", могат да съществуват в продължение на месеци или години. По-голямата част от жените и мъжете са диагностицирани след рутинен тест или при откриване на следи от сексуални контакти.

Връзката между безплодието и инфекцията с C. trachomatis е силна [160].

В едно чилийско проучване честотата на C. trachomatis инфекцията сред партньорите от мъжки пол при безплодните двойки е 38.6% [282]. При мъжа присъствието на Chlamydia (дори асимптоматично) може да наруши функцията на сперматозоидите [280]. Хроничният простатит, свързан с C. trachomatis, има значително въздействие върху фертилитета на двойките, включително и върху качеството на спермата [174], въпреки че това не е доказано във всички проучвания на безплодните мъже [123]. Въздействието на инфекцията върху мъжкия фертилитет може да се дължи не само на нарушения на спермата [93], но също и на възпаление на гениталния тракт [200]. За други автори основната причина би била предаване на инфекция на женски партньорки, водеща до възпаление и производство на сперматозоидни анти-антитела [282]. Ин витро експозицията на сперматозоидите на елементарни тела на C. trachomatis причинява клетъчна смърт [123].

Разпространението на инфекциите, причинени от C. trachomatis, варира значително в зависимост от пола, възрастта, възпитанието и броя на сексуалните партньори. От голямо значение са и използваните методи за диагностика, които могат да дадат фалшиво положителни реакции, каквито са част от случаите с прилаганите серологични тестове за доказване на антитела - РСК, ELISA, неточни поради кръстосани реакции и преобладаващите инапараентни инфекции в над 60-80% от полово активните индивиди. Сред общата популация разпространението на инфекцията варира от 1,5% - 9% [82, 189, 191, 250, 254], но при някои контингенти от подрастващи и жени, посещаващи клиники за сексуално предавани болести, разпространението на инфекцията може да достигне 30-40% [41, 46, 63, 226, 227]. Разпространението на инфекциите, причинени от C. trachomatis, при мъже с асимптоматично носителство е между 4 и 10% [176, 218, 227], а при мъже, посещаващи клиники за сексуално предавани болести, варира между 15 и 20% [45, 227, 252].

В България не съществува достатъчно обширно проучване за разпространението на полово предаваната хламидиална инфекция, като епидемиологичните данни за разпространението на C. trachomatis са малко на брой. Те са обобщени от Чудомирова през 2000 г. [28]. Базират се на проучвания с помощта на разнообразни методи и тестове, основна част от които са

серологичните такива, като например EIAs (Abbot, Kodac и др.) и следователно не докрай информативни, поради различната им и невинаги добра чувствителност и специфичност. Това дава основание да се предполага, че липсва възможност за съпоставимост и възпроизвеждане на резултатите.

Първите проучвания върху етиологията и разпространението на C. trachomatis инфекциите у нас са проведени през осемдесетте години [1, 6, 7, 12, 16, 22]. Налични са данни за разпространението на C. trachomatis сред пациенти от клиники за полово предавани болести, които варират между 4,9 и 25% [19, 22, 262]. В други проучвания е доказана C. trachomatis инфекция при 35,5 – 93,3% от случаите с негонококов и постгонококов уретрит [6, 17,22] и при 25% от случаите с пиелонефрит [85]. Други изследвания съобщават за генитална инфекция от C. trachomatis при 15,2 – 39% от гинекологичните пациентки [2, 14, 15, 262]. C. trachomatis е доказана при 27,3 – 70,4% от пациентките с цервицит [1, 18], при 34,7 – 44,1% от пациентките със салпингит и възпаление на малкия таз [14, 15] и при 46,7% от пациентките с ектопична бременност [13]. Разпространението на C. trachomatis при асимптоматични носители - мъже и жени - е съответно 4,3% и 4,5 6,1% [4, 262].

1.1.2. Лабораторна диагностика на хламидиалните инфекции

Локализацията, клиничната изява и протичането на хламидиалните инфекции, предизвикани от различните видове и серовари, се различават чувствително. Това е причина за различен подход в лабораторната диагностика на всяка една от инфекциите.

Най-чести в клиничната практика са инфекциите, причинени от C. trachomatis, серовари D до K. Засягат се урогениталният тракт, очите или се развива неонатална респираторна инфекция. Достоверната диагностика при тези състояния се извършва поотделно или в комбинация чрез амплификационен метод и чрез култивиране на микроорганизма и доказване в реакция имунофлуоресценция с моноклонални антитела.

Доскоро културелният метод (изолация на тъканни култури) се смяташе за златен стандарт в диагностиката на *C. trachomatis* инфекциите [42, 45, 219]. Бавното му, изискващо сложна апаратура и добре обучен персонал осъществяване, стана причина методът да се прилага за строго научни цели и в

практиката бе изместен от методи със съпоставима чувствителност и специфичност, каквито са различни варианти на ДНК амплификационните методи: полимеразна верижна реакция (PCR и RT-PCR) и лигазна верижна реакция (LCR), изотермичните Transcription Mediated Amplification (TMA) (GEN-PROBE®), Strand Displacement Amplification (SDA), (Becton Dickinson) [46, 171, 203, 268]. Приложими са и методи за доказване на специфични антигени в клиничния материал (ДИФ - директна имунофлуоресценция на натривки, имуно-ензимни методи и др.) директно в клинични материали. Серологичните методи са с по-ограничено приложение при доказване на C. trachomatis инфекции (освен при неонатална пневмония) [45, 112, 273]. Причина за това е наличието на кръстосано реагиращи антитела към ЛПЗ-антиген на хламидиите, а също и многото инапарентни инфекции, при които трудно се интерпретира резултатът; наличието на фалшиво положителни реакции, както и необходимостта от изследване на IgG, IgM и IgA за по-сигурно доказване на свежа инфекция.

Материалите за микробиологично изследване на хламидиални инфекции зависят от клиниката, локализацията и особеностите на причинителя. Най-често това са уретрални, ендоцервикални и конюнктивиални секрети, простатни секрети, фарингиалнии трахео-бронхиални секрети, храчки, серум, кръв и др. Урината и вагиналните секрети са възможни клинични материали за доказване на C. trachomatis урогенитална инфекция само при използването на високочувствителни и специфични методи като PCR или LCR [89]. Поради биологията на микроорганизмите, които са облигатни вътреклетъчни паразити, е необходимо материалите да се вземат чрез остъргване (продължителна ротация на тампона в уретралния и цервикалния канал) и да съдържат максимален брой епителни клетки. Гнойните секрети са неподходящи за изследване. Материалите се поставят и транспортират максимално бързо в специални транспортни среди, съдържащи захароза, фосфатни соли, глутамат и антибиотици. При невъзможност за обработка в лабораториите се замразяват на 4^0C до 24 часа и на -60^0C или повече при по-дълго време на съхранение.

Голяма част от инфекциите ще останат неразкрити, докато не започнат да се провеждат целеви скрининг програми. [140]. Тъй като инфекцията с *C. trachomatis* при мъжете е толкова разпространена, колкото и при жените, и вероятно играе важна

роля при безплодието, скринингът трябва да бъде фокусиран върху двата пола. Клинична проява на инфекция с Chlamydia trachomatis при мъжете може да бъде възпалително заболяване на мъжката полова система, воедещо до безплодие [32]. Избира се PCR реакция, тъй като тя е с висока чувствителност [4, 23, 180].

Асимптоматичните мъже, които са заразени с C. trachomatis, са по-млади от симптоматичните носители [69]. Това подчертава необходимостта от по-добра проверка или практични мерки за превенция, защото въпреки че до 13,3% от младите мъже може да са с генитална хламидиална инфекция [155], само половината от тях са симптомни, а и много по-малко са тези, които вероятно предприемат лечение.

Методите за лабораторна диагностика на хламидиалните инфекции могат да се разделят в три групи:

1. Директно доказване в клинични материали на микроорганизма (ЕТ, ИТ), на негови специфични антигени или фрагменти от нуклеинови киселини (НК);
2. Изолиране на микроорганизма и доказването му в клетъчни култури;
3. Серологична диагноза, т.е. доказване на специфични антитела в серум.

Директно доказване в клинични материали. Микроскопското изследване на препарати демонстрира ЕТ и/или ИТ на микроорганизма. Имунофлуоресцентният метод с помощта на моноклонални антитела (DIF – ДИФ, директна имунофлуоресценция на натривки) се приема за най-надежден. ДИФ има по-ниска чувствителност спрямо културелния метод, като при идеални условия чувствителността му е 80-90%, а специфичността – 98-99% [42, 45].

Най-често се използва имунофлуоресцентният метод с моноклонални антитела срещу видово- и типовоспецифичните MOMP епитопи или срещу специфични епитопи в хламидиалния ЛПЗ антиген. Прилагат се и имуноензимни методи, използващи моноклонални антитела и поликлонални серуми с различна чувствителност и специфичност [42, 91]. В тези случаи винаги трябва да се отчита възможността от кръстосани реакции, поради наличието на общи антигенни детерминанти с други бактерии.

Доказването на специфични НК фрагменти директно в клиничните материали се осъществява с помощта на генетични сонди, демонстриращи специфични 16S rRNA или други последователности. С висока диагностична стойност са амплификационните методи PCR, LCR и SDA (Strand-Displacement Amplification) за доказване на специфични нуклеотидни последователности в клинични материали чрез амплификация. За постигане на висока чувствителност и специфичност се използват най-често праймери за MOMP, както и за 7,5-kb криптичен плазмид на C. trachomatis [42, 47, 203, 268]. Молекулярните методи дадоха възможност за директно типизиране и определяне на серовара на щамове C. trachomatis чрез амплификация и секвениране на omp1 гена за MOMP [39].

Изолиране и доказване в клетъчни култури. Изолирането на хламидиите в клетъчни култури и доказването им чрез имунофлуоресценция с помощта на моноклонални антитела и до днес се счита за златен стандарт в микробиологичната диагноза. Методът е с висока чувствителност и специфичност, но е скъп, изисква специално оборудване и обучен персонал. Чувствителността на изолация зависи от правилното вземане, транспортиране и съхранение на материалите, както и от квалификацията на персонала. В сравнение с амплификационните методи на детекция, чувствителността на метода най-често варира между 75-85%, но специфичността е около 100% [45].

Култивирането на хламидиите в жълтъчните торбички на 6-7 дневни кокоши ембриони се прилага рядко, и то предимно за научни цели за изолиране на микроорганизма от клинични материали. За изолиране и култивиране на *C. trachomatis* се използват клетъчните линии McCoy, HeLa-229, L929, BHK-21, BGM [219], за *C. pneumoniae* се прилагат най-често клетъчните линии HEp-2 и HL [73, 220], а за C. psittaci – L929, HeLa-229, McCoy, BGM [40] и др. Заразяването на клетъчните монослоеве става най-често чрез центрофугиране (1500 g до 6000 g) на материалите върху клетъчния монослой. Целта е подпомагане навлизането на хламидиите в еукариотните чувствителни клетки. Центрофугирането или третирането на клетъчния монослой с DEAE-dextran (diethylaminoethyl-dextran) увеличава контакта между хламидиалните елементарни телца и гостоприемниковите клетки, като по този начин се увеличава инфекциозността [40]. Култивирането трае от 48 до 72 часа в присъствие на циклохексимид или

друг инхибитор на клетъчния метаболизъм (5-йодо-2-дезоксиуридин, цитохалазин Б и др.), подпомагащ размножаването на хламидиите [40, 45, 219]. Доказването на ИТ се извършва с имунофлуоресценция с помощта на моноклонални антитела и по-рядко с помощта на оцветяване по Giemsa или с йод (за C. trachomatis).

Серологична диагностика. Серологичната диагностика при хламидиалните инфекции, особенно на ППИ, е широко застъпена в клиничната практика. Тя е относително лесна и бърза за изпълнение, но се нуждае от прецизиране, като се има предвид възможността за кръстосано реагиращи антитела между хламидиите и други Грам отрицателни бактерии. Наличните данни за прилаганите в практиката серологични методи включват следните техники: доказването на специфични антитела чрез реакция свързване на комплемента (РСК), ензимносвързан имуносорбентен тест (ELISA) и микроимунофлуоресцентен метод [40, 42, 45, 117, 2217, 273, 287].

В РСК се използва родовоспецифичният ЛПЗ хламидиален антиген, към който са доказани множество кръстосано реагиращи антитела с други Грам-отрицателни бактерии. Използването на РСК е удачно само за диагноза на пситакозата и венерическата лимфогрануломатоза.

ELISA и микроимунофлуоресцентният метод са методи, намерили по-широко приложение в рутинната практика, с възможност за определяне на изотипа на антителата. Най-често при тях за антигени се използват пречистени елементарни телца, като подходящият момент за вземане на проба е времето на острата форма или рековалесценция според клиничното протичане. Тогава се документират високи стойности на антихламидиални антитела в серума:

- наличието на антитела от клас IgM (над определени гранични стойности) при липса на антитела от клас IgG говори за най-ранна фаза на имунен отговор (преди да е започнал синтез на Ат от клас IgG или те са в много ниски стойности), присъщ за т. нар. „свежа инфекция";
- наличието на антитела от клас IgM и IgG във високи стойности – говорят за разгърнат имунен отговор (с превключен синтез и на IgG Ат) при „свежа инфекция";

- наличието на високи стойности на IgG при ниски (нормални) стойности на IgM – говорят за значително напреднала инфекция или хронифицирала такава.

Паралелното изследване на IgM и IgG има значително предимство, тъй като хламидиалната инфекция може да бъде доказана в най-ранната фаза от нейното развитие само по повишените стойности на IgM, в тази фаза IgG са все още в норма. При напреднала инфекция, когато стойностите на IgM се нормализират, инфекцията се доказва по високите нива на IgG.

При изследване само на IgG (без IgM), когато получените стойности са гранични или около горната граница на нормата, но е налице подозрителна клиника, насочваща към такъв вид инфекция, е уместно изследване на IgG в динамика, т.е. втори серум за IgG – две седмици след вземането на първия серум. Покачване стойностите на IgG във втория серум е доказателство за хламидиална инфекция.

След преминала хламидиална инфекция (лечение) понижението на стойностите на IgG може да бъде много бавно, възможно е до 1-2 години да персистират IgG над нормалните стойности.

Серологичните методи трябва да се използват диференцирано и да се интерпретират внимателно, като винаги се отчита възможността от протичането на кръстосани реакции между хламидии и други Грам-отрицателни бактерии на базата на липополизахаридните им антигени. В различни имунологични реакции като реакция пасивна хемолиза (РПХ), имунодифузия, имуноблот, ELISA, имунофлуоресценция и абсорбционни експерименти са доказани антитела, реагиращи кръстосано с ЛПЗ антигени на Грам-отрицателни бактерии от Re хемотип; ЛПЗ антиген на хламидиите и ЛПЗ антиген на Acinetobacter calcoaceticus var. anitratus (A. baumannii) [50, 51, 52, 53, 54, 55, 198, 199]. Тези серологични изследвания доказват наличието на кръстосано-реагиращи детерминанти в родовоспецифичния ЛПЗ антиген на хламидиите. С помощта на получени срещу хламидиалния ЛПЗ антиген МА и на МА срещу синтетични гликоконюгати са доказани кръстосани реакции между ЛПЗ антигени на C. trachomatis, C. psittaci, Salmonella minnesota Re хемотип, Escherichia coli Re хемотип и A. calcoaceticus var. anitratus (A. baumannii) [55, 105, 267].

Поради това е удачно приложението на тестове с пречистени антигени (по възможност рекомбинантни протеини, химично дефинирани и модифицирани ЛПЗ фрагменти без кръстосано-реагиращи епитопи или MOMP), успоредното доказване на IgM, IgA и IgG антитела и проследяването на титъра в динамика. При диагностика на хламидиалната инфекция е желателно да се съпоставят данните от клиничната картина, лабораторните изследвания и епидемиологичната ситуация, а наличието на серология не бива да се приема за метод, поставящ диагнозата.

Проучване разпространението на полово предаваната хламидиална инфекция, използването на съвременни тестове в лабораторната практика, както и съпоставянето на различни диагностични подходи и тестове при изследването на материали от пациенти е важен момент в навременното откриване и съответно в успешното лечение и контрола на хламидиалните ППИ.

1. 2. Neisseria gonorhoeae като причинител на ППИ

1.2.1. Обща характеристика

Представителите на род Neisseria се класифицират към семейство Neisseriaceae, към което се причисляват 31 рода, в това число и родовете Kingella, Eikenella, Simonsiella и Alysiella.

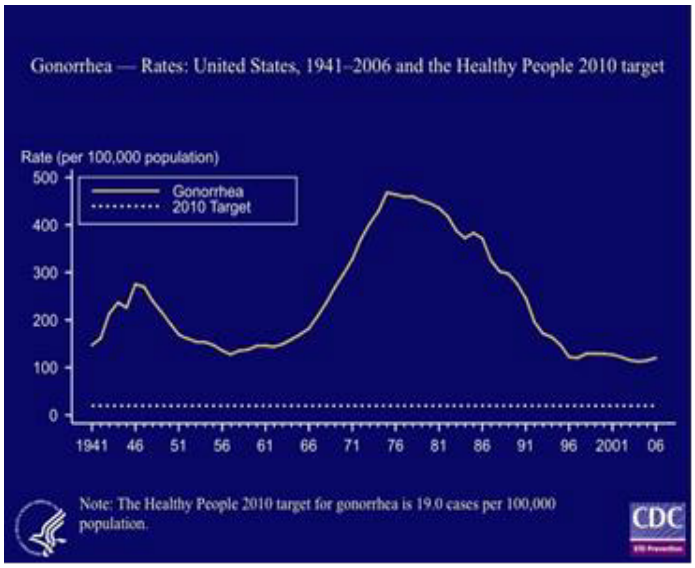
Те са Грам-отрицателни коки, разположени по двойки или в къси верижки. Neisseria gonorrhoeae са диплококи с форма, наподобяваща бобени зърна, обърнати с вдлъбнатата си част едно срещу друго. Те са неподвижни, неспорообразуващи аероби или факултативни анаероби, силно взискателни в своето развитие към хранителната среда и наличието на CO_2 във въздуха. Гонококите са оксидаза позитивни, ферментират глюкозата, като между N. gonorrhoeae и N. meningitidis само вторият ферментира и малтозата.

В естествени условия N. gonorrhoeae причинява заболявания само при човека. За непрекъснатото поддържане на инфекцията в обществото от най-съществено значение са хомосексуализмът и проституцията, промискуитетът, урбанизацията и миграцията на населението. Източници на зараза са болните от остра и по-често от хронична гонорея, както и хора, развили безсимптомна форма на гонококовата инфекция. Заразяването се извършва обикновено при сексуален

контакт. Макар и рядко, заразяването може да бъде и неполово - чрез бельо, кърпи и др., предварително ползвани от болни от гонорея. Най-често входни врати са лигавицата на уретрата у мъжа или жената и лигавицата на шийката на матката при жената. Инфекцията може да проникне и чрез лигавиците на ректума и орофаринкса, както и чрез конюнктивата. Съобразно входните врати гонококите се развиват в цилиндричния епител на лигавиците на цервикалния канал, уретрата и ректума или в многослойния невроговяващ епител на фаринкса и конюнктивата. Рискът от инфектиране при хетеросексуален мъж след еднократен полов контакт е приблизително 20% и повече от 80% след многобройни контакти. Рискът от възникване на гонококова инфекция при жените след еднократен контакт с болен партньор варира между 50% и 70%, което най-вероятно се дължи на чисто анатомични причини [161].

Гонореята е второто по честота докладвано инфекциозно заболяване в САЩ с 358 366 известни случая за 2006 г. (фиг. 4).

Данните сочат, че през 2006 г. честотата на гонореята е била 120,9 случая на 100 000 души от населението, като увеличението на случаите е приблизително с 5,5% спрямо 2005 г. (Фиг. 5). В България има информация за разпространение на гонококцията в периода 1974-1989 г., като епидемиологичното проучване е проведено въз основа на данни от отчетна форма 61 (до 1982 г.) и табулограмите от Автоматизирана информационна система за венерически заболявания. Според тях най-висока заболеваемост е регистрирана през 1974 г. – 11 709 заболели. По данни от научната дисертация на Г. Пехливанов, 1991 г., „Проучвания върху съвременната епидемиология, клиника, лечение и организация на борбата с гонококцията в България”, през 1988 г. средно заболелите на 100000 жители у нас са били 46,1; през 1989 г., както и през 1990 г. –



Фиг. 4. Честота на инфекциите, причинени от N. gonorrhoeae, в САЩ за периода 1941-

по 61,1. Един от изводите, направени от Пехливанов, е, че за проследения 16-годишен период честотата на гонококцията е показала тенденция към занижаване [20]. От тогава до днес, обаче, проучвания за честотата и разпространението на инфекцията липсват, както липсват и сравнителни анализи за честотата на гонококцията в съчетание с хламидиална инфекция или други полово предавани заболявания.

В Европа през 2009 г. са отчетени 29 202 случая на гонорея в 28 държави, като 58% от всички се падат на Обединеното кралство, а общата честота е от 9,7/100 000. Три пъти по-често гонореята се среща при мъжете (15.9 / 100 000), отколкото при жените (6,3 / 100 000), и 44% от диагностицираните са млади хора на възраст от 15 до 24 години. Най-засегнатата възрастова група е тази на 21-30 години при мъжете. Увеличението на годишния брой на N. gonorrhoeae инфекции, отбелязано от 1996 г. насам, се ускори особено през 2009 г. Това се обяснява с повишаване на рисковото поведение и практики (непостоянното използване на презервативи, многото партньори, заразен сексуален партньор ...). Инфекцията N. gonorrhoeae може да бъде свързана с други ППИ (включително C. trachomatis).

Предполага се, че по подобие на хламидиалните инфекции гонореята също е недостатъчно добре диагностицирана и докладвана, което е причина да се приеме, че честотата на новопоявилите се случаи за година са може би около два пъти повече от известните [293].

Макар че гонореята е лечима, при еднократен прием на антибиотично средство, тя продължава да бъде сериозен здравен и обществен проблем поради факта, че нелекувана, инфекцията може да има тежки последствия [10].

Най-честата проява на инфекция с гонорея е уретритът, който обикновено е симптоматичен и придружен с дискомфорт в уретрата, дизурия и гнойна секреция [133, 145]. Фаринксът е най-честият обект на гонококова инфекция при хомосексуалните мъже [141]. Тя може да се представи като ексудативен фарингит, но обикновено е асимптоматична [44].

При мъжа тази бактерия често предизвиква други рядко срещани сложни инфекции на репродуктивните органи под формата на уретрити. Ако не се лекува,

гонореята може да доведе до епидидимит или орхит, или дори обструкция на преминаването на сперматозоидите и безплодие [172, 202].

Сред боледуващите жени гонореята е може би най-сериозната причина за развитието на ТВБ, която се проявява като хронична болка в малкия таз, извънматочна бременност или стерилитет. При мъжете нелекуваната гонорея е причина за развитието на уретрит, епидидимит и/или инфертилитет [133, 145]. От друга страна, наличието на гонорейна инфекция определя и по-голямата вероятност при незащитен полов контакт за инфектиране с HIV [101]. Проучванията показват, че приблизително 30% от инфектираните с N. gonorrhoeae са инфектирани и с C. trachomatis Това е причината при съмнение за едно от двете заболявания да се препоръчва диагностика и на двата микроорганизма [79, 163].

Медицинското значение на гонореята се определя и от факта, че развиващата се антибиотична резистентност на микроорганизма придобива все по-големи размери [64]. Приблизително 13,8 % от гонорейните изолати за 2006 г., тествани по програмата GISP - Gonococcal Isolate Surveillance Project (CDC. Gonococcal Isolate Surveillance Project), са показали флуорохинолонова резистентност - водещ клас антимикробни препарати, доскоро препоръчвани в терапията на гонореята, спрямо 9,4% за 2005 г. и 6,8% за 2004 г. През април 2007 г. CDC ревизира указанията си за лечение на гонореята въз основа на данните за флуорохинолоновата резистентност от 2006 г. както сред хетеросексуалните, така и сред хомосексуалните мъже, и в САЩ от списъка с препоръките за терапия на заболяването отпадат флуорохинолоните като възможни за лечение препарати [66]. Така цефалоспорините остават единствен вариант на медикаменти за контрол на заболяването.

В САЩ, както и в немалко европейски страни, случаите на гонорея трябва да бъдат докладвани и заведени в статистиката на здравните органи, които да обобщават и контролират епидемиологичната обстановка по отношение на заболеваемостта. Въпреки това дори в тези страни данните невинаги са точни и пълни. Независимо от това гонореята се смята за втората по честота полово предавана инфекция в САЩ. Най-често засегнатите индивиди са тези във възрастовата граница между 15 и 24-35 години. Заболяването се предава чрез

полов контакт с инфектирани уретра, цервикс, ректум или фаринкс. Повторни/последващи инфекции с микроорганизма са абсолютно възможни, като за основен резервоар на инфекцията се приемат инфектираните мъже и жени с безсимптомно носителство. Приблизително 50% от инфектираните жени остават безсимптомни. При мъжете в 95% от случаите инфекцията е с клинична изява.

Присъствието на Грам-отрицателни вътреклетъчни диплококи (GNID) на уретралната намазка е показателно за гонококова инфекция, която често се съпровождаот хламидиална инфекция [79, 99, 163, 252].

В САЩ хламидиалната и гонококовата инфекция са основен проблем на общественото здраве, тъй като те остават най-често срещаните инфекциозни заболявания, отчитани в страната. Повече от 1,5 млн. случая на хламидии и гонорея са били докладвани към центровете на заболяванията „Контрол и превенция“ през 2008 г. [67].

1.2.2. Лабораторна диагностика на гонореята

N. gonorrhoeae е силно инфекциозен бактериален полово предаван микроорганизъм. Тестването предвид откриването му в клинични материали от пациенти е ключов момент от скрининга и за други полово предавани заболявания. В микробиологичната практика най-широко приложение намират микроскопското, културелното и молекулярногенетичното изследвания.

Микроскопията на уретралните секрети показва чувствителност >95% при симптоматичните индивиди, но е едва 50-75% при тези без оплаквания [120, 131, 240].

Културелното изследване се състои в посявка на обогатена хранителна среда и инкубация при повишена концентрация CO2 за минимум 48 часа (Фиг. 5).



Фиг. 5. Растеж на изолирана чиста култура N. gonorrhoeae върху Шоколадов агар.

Всички изолирани оксидаза положителни колонии на Грам-отрицателни коки трябва да бъдат идентифицирани чрез биохимични или имунологични тестове. При налично потвърждение на резултата се приема, че култивирането показва 100% специфичност.

Предимство на метода е възможността за определяне на антимикробната чувствителност на бактериите. Редица проучвания показват чувствителност на метода в границите между 85-95% при клинични материали уретрален/цервикален секрет. По отношение на материали от други области чувствителността е по-ниска, особено в сравнение с молекулярно-генетичните техники [31, 108, 144, 187, 205, 277,278].

Молекулярно-генетичните методи за доказване бактериална ДНК имат като предимство възможността за използване на неинвазивни материали, като например първата сутрешна урина. Въпреки че тези техники дават приблизително 95% чувствителност за уретралните находки, с тях не може да се определи антимикробната чувствителност на микроорганизма, тъй като не съществуват молекулярни тестове за доказването на всички познати при този причинител механизми на резистентност спрямо антибиотичните средства. Хибридизационните методи като Gen-Probee са с чувствителност, сравнима с тази на култивирането – приблизително 96,4% за уретралните. Специфичността е около 99% [149].

Въпреки че според Наредба 21 на МЗ от 2005 г. ППИ, в това число и гонококцията, би трябвало да подлежат на регистрация, у нас все още липсва стриктна практика за тяхното лабораторно потвърждаване, докладване и консенсус по отношение на терапията. Проучване на разпространението на инфекцията в България, проследяване на динамиката на епидемиологичното ѝ развитие, както и въвеждането на нови диагностични методи с висока чувствителност и специфичност, съпоставени със златния стандарт - култивиране на микроорганизма, биха дали възможност за ограничаване на инфекцията, за контрол над заболеваемостта, за ранна диагностика и адекватно терапевтично поведение с цел предотвратяване на тежките последствия от нелекуваната инфекция и най-вече на инфертилитета.

1.3. Микоплазмите като причинители на ППИ

1.3.1. Таксономия, морфология и физиология на микоплазмите

Семейство Mycoplasmataceae се отнася към Разред Mycoplasmatales и се състои от 4 рода (Eperythozoon, Haemobartonella, Mycoplasma, Ureaplasma), два от които имат отношение към патологията на човека: Mycoplasma и Ureaplasma,

често обединявани под общото название „микоплазми“. Въпреки наличието на множество видове микоплазми, само четири до момента са доказани като сигурни причинители на заболявания при хората - Mycoplasma pneumoniae, Mycoplasma hominis, Mycoplasma genitalium и Ureaplasma urealyticum. Ролята за патологията на всички останали открити и изолирани от човека представители на това семейство все още не е добре изяснена и предстои да бъде проучвана.

Микоплазмите са най-малките свободно живеещи бактерии. Техните размери варират между 0,2 – 0,8 μm. Безпрепятствено преминават през бактериалните филтри. Притежават най-малкия бактериален геном, поради което голяма част от метаболитните пътища при тях отсъстват и са силно взискателни към средите за изолиране. Микоплазмите са факултативни анаероби, с изключение на M. pneumoniae, който е облигатен аероб. Отличителен белег спрямо останалите познати бактерии е липсата на клетъчна стена в структурата на тяхната обивка. Тази им особеност е причина за липсата на ригидна форма и за възможността им да се моделират според условията, като могат да се наблюдават включително и филаментозни форми. Микоплазмите растат бавно, делят се на две и върху изкуствени хранителни среди образуват колонии, наподобяващи „яйца на очи”, като колониите на M. pneumoniae формират неравни струпвания, наподобяващикъпина. В резултат на бавния им растеж образуването на видими колонии микоплазми може да отнеме от 3 до 5 седмици. Нерядко колониите се наблюдават под микроскоп. Особеност на уреаплазмените такива е още по-малкият им размер, поради което те биват наричани Т-колонии (Т – от tiny – миниатюрни).

За своето развитие и синтеза на мембраната си всички микоплазми се нуждаят от наличието на стероли, необходими за изграждането на цитоплазмената им мембрана. Представителите на видовете M. pneumoniae, M. hominis и U. urealyticum се разграничават по способността си да метаболизират глюкоза, аргинин и урея. M. genitalium е изключително трудно култивируем.

Микоплазмите са извънклетъчни микроорганизми, които имат свойството да се прикрепят към епителни клетки. Ето защо и техните адхезини се явяват едни от основните фактори на патогенност и вирулентност.

Интимният контакт на микоплазмите с епителните гостоприемникови клетки дава възможност на различни токсични вещества като водороден пероксид и

суперпероксид, образувани в резултат на метаболизма на микроорганизма, да се натрупат и окажат своето негативно действие. От друга страна, е доказано, че микоплазмите потискат каталазата на гостоприемниковите клетки, като по този начин водят до увеличаване концентрацията на пероксида.

Установено е, че микоплазмите активират макрофагите и лимфоцитите и стимулират продукцията на цитокини. Така става ясно, че и фактори от страна на макроорганизма оказват влияние за развитието и тежестта на изява на заболяванията, причинени от съответните микоплазми.

1.3.2. Медицинско значение на микоплазмите

M. hominis се асоциира с развитието на пиелонефрит, PID и следродилна треска. M. genitalium и U. urealyticum водят до развитието на негонококов уретрит/цервицит, PID и последствията от усложненията му (Табл. 6).

Таблица 6. Медицинско значение на патогенните за човека микоплазми.

Микроорганизъм	Заболяване
M. hominis	Пиелонефрит, PID, следродилна треска, епидидимит, преждевременно раждане
M. genitalium	Негонококов уретрит
U. urealyticum	Негонококов уретрит, пневмония при новородените, бъбречна калкулоза
M. fermentans	Ревматоиден артрит
M. penetrans	Заболявания при имунокомпрометирани пациенти

1.3.3. Епидемиология на микоплазмите

Ureaplasma spp. и M. hominis могат да бъдат изолирани от долните отдели на урогениталния тракт при значителен брой здрави полово активни хора. Колонизацията на урогениталния тракт с M. hominis и U. urealyticum се осъществява по време на раждането. В болшинството от случаите, обаче, настъпва изчистване на макроорганизма. В редки случаи колонизацията остава персистираща. Със стартиране на половия живот и при контактите индивидите могат отново да бъдат колонизирани и честотата на колонизация е в зависимост от броя на половите партньори, честотата на тяхната смяна и допълнителни фактори. Приблизително 15% от полово активните хора са колонизирани с M. hominis и 45% до 75% с U. urealyticum. Носителите са безсимптомни, но микроорганизмите се явяват опортюнистична флора в урогениталния тракт по подобие на кандидите.

Доказването на уреаплазми и микоплазми не е задължително да се свързва с развитието на заболяване. Уреаплазмите, обаче, могат да бъдат предпоставка и/или фактор за инфекции като нехламидиален негонококов уретрит при мъжете [166]. Честотата на U. urealyticum в спермата на безплодните мъже варира 7-42%. Тази инфекция може да причини смърт на ембриона, без непременно да се отразява на качеството на спермата: изолираните сперматозоиди от заразената сперма имат ДНК промени, които могат да доведат до промяна в развитието на ембриона [216]. Липсват сигурни данни, че M. hominis е причина за развитието на негонококов уретрит. M. genitalium е доказван чрез PCR значително по-често в уретрални материали на пациенти с остър НГУ спрямо такива без уретрит и понастоящем е признат като причинител на това състояние [129]. Липсват достоверни данни, които да доказват връзката с развитието на уринарни проблеми сред жените, в резултат на инфекция с M. hominis. Такива не могат да бъдат изключени при инфектиране с ураеплазми [251].

Има проучвания, които предполагат участието на M. hominis в развитието на бактериална вагиноза (БВ). Такива данни липсват за уреаплазмите. БВ може да доведе до развитието на PID, а M. hominis е изолиран от ендометриума и фалопиевите тръби на приблизително 10% от жените със салпингит, диагностициран лапароскопски и имунологично [284]. Уреаплазмите са изолирани директно от засегнати фалопиеви тръби, но никога като самостоятелен микроорганизъм. M. genitalium се свързва с развитието на цервицит [97] и ендометрит [74]. Съществуват проучвания, които на основата на имунологични данни доказват ролята на микоплазмите в развитието на тубарния инфертилитет [72]. Въпросът за участието на уреаплазмите като причинители на инфертилитета остава неизяснен [260].

U. urealyticum се открива чрез PCR в 23 от 146 (15.75%) спермални проби от пациенти с безплодие и при 3 от 100 (3%) здрави мъже ($p < 0.001$). Пациенти с безплодие, които имат и варикоцеле, са с по-висока U. urealyticum колонизация (20.98%) от тези без варикоцеле (9,23%), $P = 0.086$ или здрави контроли (3%), $P < 0,001$. Процентът на сперматозоиди с подвижността, обема на спермената течност, концентрацията на сперматозоидите и сперматозоидите с нормална морфология са намалели значително в безплодните мъже ($P < 0.001$). В групата на пациенти с варикоцеле с PCR положителни за U. urealyticum проби обемът на

спермата, броят и морфологията на сперматозоидите са по-ниски от тези в групата на пациентите с варикоцеле. Заключението, което правят авторите е, че въпреки колонизирането на U. urealyticum да не влияе на качеството на спермата, широкото разпространение на този микроорганизъм при пациентите с варикоцеле може да е допълнителен негативен фактор, който влияе на варикоцеле статус и влошава репродуктивния потенциал.

U. urealyticum колонизация е установено, че участва в негонококов уретрит (Ngu), простатит, епидидимит и безплодие [166].

Ureaplasma urealyticum се установява при болни от простатит, епидидимит, както и при пациенти с инфертилитет [38, 114, 142, 210, 238]. Не са изяснени механизмите, чрез които U. urealyticum влияе върху качеството на спермата. Някои изследователи съобщават, че с присъствието на U. urealyticum в спермата е свързан спадът в обема ѝ, броят, подвижността и морфологията на сперматозоидите [146, 168, 197, 304], но други не съпоставят присъствието на U. urealyticum с някаква промяна в характеристиките на спермата [34, 274].

Едно скорошно проучване е първото, което демонстрира, че коинфекция с Chlamydia и Mycoplasma води до увеличаване на сперматозоиди с фрагментирана ДНК 3,2 пъти повече, в сравнение с количеството им при незаразени мъже [106].

Контрастиращият характер на съществуващата литература по отношение на риска от инфекция с M. genitalium подчертава необходимостта от допълнителни внимателно контролирани проучвания на този зараждащ се патоген [291].

1.3.4. Лабораторна диагностика на микоплазмите

Бактериоскопските методи нямат диагностична стойност поради слабото оцветяване на микоплазмите, което е следствие от липсата на клетъчна стена в структурата на тези микроорганизми.

Култивиране на микоплазмите

Микоплазмите са факултативни анаероби. Единствено M. pneumoniae е стриктен аероб. Поради малкия си геном и липсата на редица ензими, включително и тези за синтеза на пурини и пирамидини, те са силно взискателни. За култивирането им са необходими среди, задължително съдържащи трипсин,

серум и глюкоза. Върху твърди хранителни среди микоплазмите формират колонии със зърнеста структура. Възможно е да образуват плътен център, поради което ги оприличават на „яйца на очи”. Методът е специфичен (93%), но с ниска чувствителност (65%), поради изключителната лабилност на тези микроорганизми в резултат от липсата на клетъчна стена. Генерационното време на микоплазмите е от порядъка на 1-3 ч., но може да достигне и до 6-9 ч. Обикновено доказването на M. hominis и U. urealyticum въз основа на растежа на колониите им е в рамките на 3 до 5 дни, докато това на M. genitalium може да отнеме до няколко седмици.

Доказване на специфични НК фрагменти

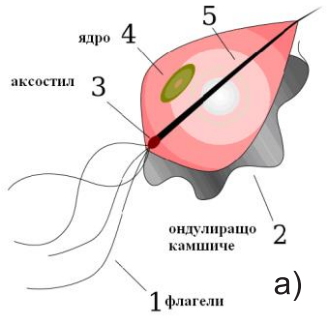
Амплификационните технологии намират все по-голямо приложение за доказването на специфични НК фрагменти при микоплазмите. Това са методи с висока специфичност (97%) и максимална чувствителност (100%). Присъствието на други микроорганизми не оказва влияние върху провеждането на теста, докато при култивирането е възможно замаскиране на търсения патоген, поради бактериален свръхрастеж. ДНК-тестът улавя включително и вече загиналите микроорганизми, което елиминира проблема с голямата неустойчивост на микоплазмите. Има възможност да се използват разнообразни биологични проби, включително урина, с което се премахва неудобството, свързано с процедурата по вземане на уретрален секрет. Възможна е и едновременна диагностика на няколко бактерии в една проба [122, 175]. Това е от особено значение, тъй като микоплазмените инфекции имитират инфекции, причинени от други етиологични агенти като C. trachomatis или N. gonorrheae, а понякога са в съчетание с тях. Съществуват разработени множество PCR методики, целящи доказването на различни гени, като например 16S rRNA [129], P1 адхезионния ген на микроорганизмите, gap гена при M. hominis и др., като чувствителността на метода е приблизително един микроорганизъм, когато се работи с пречистена ДНК.

Проучванията върху разпространението на гениталните микоплазми сред безсимптомни лица и сред пациенти с конкретни клинични оплаквания, както и сравняването на диагностичния потенциал на различни техники за доказването им, е единственият начин да се определи патогенният потенциал на микоплазмите и адекватното поведение на лекарите по отношение на тяхното наличие в уро-гениталната система.

1.4. Trichomonas vaginalis като причинител на ППИ

1.4.1. Морфология и физиология на трихомоните

Trichomonas vaginalis са флагелатни изключително подвижни протозои с размери 10-40 μm (Фиг.8).





Фиг. 8. Структура на трихомоните: а) схематично представяне на основните структурни характеристики; б) оцветяване по метода на Гимза от in vitro култура

Притежават листовидна форма, която се изменя към овална при хронифициране на инфекцията в гостоприемника. Формата се поддържа от плътна еластична обвивка, наречена пеликула, както и от аксостил. Аксостилът представлява еластична осева опорна нишка, преминаваща през цялата трихомонасна клетка и излизаща извън клетката във вид на шип от задния ѝ край. Отговорен е и за прикрепването на трихомонаса към чувствителни епителни клетки. Подвижността на трихомонаса се осигурява от флагели - камшичета, четири от които са свободни и едно ондулиращо. По подобие на останалите интестинални паразити трихомоните са типични факултативни анаероби. Притежават органели, наречени хидрогенозоми, въвлечени в метаболизма на пирувата и отговорни за натрупването на АТФ в паразита.

1.4.2. Патогенеза на трихомоназата

Повечето от трихомоните са коменсали, като само някои от тях имат отношение към патологията на човека и животните. Четири вида трихомони могат да инфектират човек (Табл. 8). Сред тях единствено T. vaginalis е доказан като облигатен патоген. Останалите показват различна степен на вероятна патогенност.

Таблица 8. Важни за човешката патология трихомони и тяхната локализация.

Вид	Локализация
Trichomonas vaginalis	Урогенитален тракт
Trichomonas tenax	Устна кухина
Pentatrichomonas hominis	Черва
Dientamoeba fragilis	Черва

T. vaginalis се открива в урогениталния тракт при хората. T. tenax, наричан още T. buccalis, е коменсал от устната кухина на човек, доказван най-често при пациенти с лоша орална хигиена и напреднала пародонтоза. Макар и рядко, T.

tenax е изолиран от патологични материали от бял дроб с подлежащ туморен процес. Pentatrichomonas hominis, понастоящем известен като T. hominis, е непатогенен коменсал, изолиран от клинични материали от тънко черво.

Малко се знае за патофизиологията на инфекцията, причинена от T. vaginalis. Предполага се взаимодействие между паразита и гостоприемниковата епителна клетка. In vitro проучвания показват деструктивното поведение на T. vaginalis по чисто механичен контактен път. Ето защо се приема, че адхезията на паразита към епитела е основният патогенетичен механизъм при тази инфекция. До момента са установени няколко адхезионни протеина по повърхността на трофозоита. Друг вероятен патогенетичен механизъм при трихомонасната инфекция е секретирането от паразита на невраминидаза, водеща до промяна в структурата на епителните клетки. В острата фаза на инвазията отокът и хиперемията се последват от ерозия, десквамация на епитела и полинуклеарна инфилтрация на лигавицата. В резултат се засилва ексудацията с формирането на серозно-гноен или хеморагичен ексудат. При хронифициране на инфекцията измененията в повърхностния епител са по-слабо изразени за сметка на дълбочинното развитие на инвазията и по-дълбокото проникване на трихомонасните протеази, отговорни за деструкцията и некрозата в дълбочина.

Важна характеристика на T. vaginalis инфекцията е възможността значително да увеличи риска от предаване на HIV инфекцията [248]. Причина за това е предизвиканата от T. vaginalis левкоцитна инфилтрация на засегнатата лигавица, което осигурява по-голяма възможност на HIV вируса да атакува таргетни лимфоцитни и макрофагеални клетки. T. vaginalis е причина и за развитието на локални микрокръвоизливи, през които вирусът активно може да навлезе и да се разпространи в гостоприемника. Нерядко трихомонасната инфекция остава безсимптомна или е със слабо изразени прояви, което е причина и инфектираното лице безпроблемно да води активен полов живот.

1.4.3. Медицинско значение на трихомоните

Трихомоназата е антропоноза със сексуално-трансмисивен механизъм на предаване. Макар и много рядко е възможно предаване на инфекцията не по полов път. Причина за това е способността на трофозоита да преживява в урина в рамките на 1-2 дена или във влажни къпри/бельо за 2-3 часа. Източник на заболяването е опаразитеният човек – болен или носител. Възприемчивостта е

повсеместна и въпреки името, което носи, T. vaginalis инфектира както жени, така и мъже. При жените клиничното многообразие варира от безсимптомно носителство в около 20-50% до остри и хронични форми на вагинит, цервицит, колпит и последващи усложнения [233]. Острата урогенитална трихомоназа освен възпалението на влагалищната лигавица – колпит, по съседство ангажира уретрата и пикочния мехур с развитието на уретрит и цистит. При по-продължителна инвазия или при чести реинвазии трихомоназата може да ангажира и горните отдели на женските гениталии с появата на екзо/ендоцервицит, аднексит, стерилитет. При инвазираните мъже трихомоназата често е безсимптомна – в 50% от случаите, или хронична, като най-често се проявява под формата на уретрит, везикулит, орхиепидидимит или простатит. Инфекцията с T. vaginalis се асоциира и с преждевременно разкъсване на околоплодните обвивки, преждевременно раждане, послеродови инфекции [78, 247]. Съществуват данни и за роля на T. vaginalis в развитието на неонаталната пневмония [118].

1.4.4. Епидемиология на трихомоназата

Трихомоназата е едно от най-широко разпространените полово предавани заболявания по света. Всяка година се регистрират приблизително 180 млн. нови случая [294], като в Америка засегнатите са от порядъка на 5 млн. души. Честотата на T. vaginalis инфекцията варира в широки граници според изследвания контингент – от 5% сред полово активното население до 70% сред проститутките и затворниците, като определящо значение имат социално-икономическото положение на индивида, честотата на смяна на партньора/ите и личната хигиена. Възможните съществени различия в честотата на разпространение на T. vaginalis инфекцията може да се дължат и на ниския процент на разпространение на микроорганизма в популацията на дадена територия, честото безсимптомно протичане на инфекцията, особено сред мъжете, както и на различната чувствителност на използваните в практиката диагностични методи. Понастоящем трихомонасът се приема за предразполагащ фактор в развитието на HIV инфекцията [126].

1.4.5. Лабораторна диагностика на трихомоназата

Не бива да се разчита единствено на клиничните данни и анамнезата поради факта, че оплакванията на пациентите до голяма степен се припокриват с тези, срещани и при други ППИ. Диагностиката трябва да бъде комплексна.

Материалите за паразитологичното изследване при жените включва влагалищно съдържимо, а при мъжете – първа порция урина, уретрален секрет, еякулат или простатен експримат. Методите за изследване са:

Микроскопско наблюдение на нативен препарат

Капка от изследвания материал се поставя в капка физиологичен разтвор на предметно стъкло, налага се с покривно стъкло и се микроскопира на момента. Търсят се подвижни трихомонаси. Чувствителността на метода варира от 40-80%.

Микроскопско наблюдение на траен оцветен препарат по Романовски-Гимза или по Грам

При микроскопското наблюдение на траен оцветен препарат по Романовски-Гимза или по Грам се търсят характерните морфологични белези на паразита. Често тази диагностика е недостоверна и трудна за интерпретация [151].

Култивиране на трихомоните

Културелният метод е приет като „златен стандарт" за диагностика на трихомонасната инфекция. [43, 49]. Чувствителността на метода спрямо тази на нативния препарат е по-висока - приблизително 80%. Изследваният материал се поставя в стерилна хранителна среда TV-4 и се култивира при 37°C в рамките на 48 часа. При необходимост се извършват нови и нови препосевки.

Антигенно доказване на T. vaginalis

Разработени са различни методи за антигенно доказване на T. vaginalis, които имат предимството да са бързи и лесни за осъществяване. Един от тях е латекс-аглутинационният тест, който показва висока чувствителност [29]. Налични са имунофлуоресцентен тест директно от материал на пациента, два имунохроматографски капилярни теста и други.

Доказване на специфични НК фрагменти

Affirm VPIII (Becton Dickinson and Company) е директен ДНК тест за откриване и доказване на трите най-чести причинители на влагалищен дискомфорт сред жените – Gardnerella vaginalis (бактериална вагиноза), Candida albicans (кандидоза) и T. vaginalis (трихомоназа). Методът показва добра чувствителност - 90% и специфичност съответно - 98%, сравнен с нативния

препарат и култивирането. Все още в клиничната практика не е въведен стандартизиран апаратен PCR метод за доказването на налична/липсваща ДНК структура на T. vaginalis в клинични материали от пациенти. В литературата, обаче, има достатъчно данни за разработени PCR протоколи за доказването на специфични фрагменти на микроорганизма. Тяхната чувствителност варира в зависимост от прицелната ДНК последователност, типа клиничен материал и пола на изследвания пациент [115, 161]. Най-често чувствителността е 85-100%, когато става въпрос за влагалищни секрети, и 60-80%, когато материалът е урина [233, 138, 157]. Понастоящем се приема, че използването на урина при мъжете и на влагалищен секрет при жените за доказване на специфични НК фрагменти на T. vaginalis е методът на избор при поставяне на диагноза трихомоназа [139, 232]. Едновременно с това е възможно и откриването на други микроорганизми, включително и на HIV-вируса [121, 233].

В заключение, инфекциите на уро-гениталния тракт при мъжа или жената са една от основните причини за безплодие. Сред идентифицираните причинители на болести микроорганизмите, отговорни за ППИ, включително C. trachomatis, са приоритетна цел на политиката за обществено здравеопазване [221].

2. ИНФЕРТИЛИТЕТ ПРИ МЪЖА

Организацията на обединените нации (ООН) определя репродуктивното здраве като "състояние на пълно физическо, психическо и социално благополучие, а не просто отсъствие на болест или недъг по всички въпроси, свързани с репродуктивната система и нейните функции и процеси."190 [Доказателство ниво 4] Безплодието следователно трябва да се разглежда като болестен процес, заслужаващ изследване и лечение.

2.1. Възможност за зачеване

Естественият процес на човешкото възпроизвеждане започва, когато сперматозоидите са изхвърлени във влагалището по време на полов акт. Сперматозоидите се придвижват през шийката на матката и маточната кухина към фалопиевите тръби, където срещат яйцеклетката и се осъществява оплождането. Ембрионът след това „слиза" обратно във фалопиевата тръба и влиза в маточната кухина, където се имплантира. Този процес зависи от шанса за успешна овулация и

транспортиране на жизнеспособни сперматозоиди и яйцеклетки в репродуктивния тракт. Повлиян е от ендокринната система, времето и честотата на половия акт и общото здравословно състояние на мъжа и жената. Дължината на менструалния цикъл варира между 26 и 36 дни. Овулацията обикновено се осъществява от 12 до 16 дни преди началото на следващия период. За една жена с 28-дневен менструален цикъл (първият ден на менструацията е ден 1), овулацията се провежда около 14-ия ден след овулацията, яйцето обикновено живее в продължение на 24 часа. След еякулация сперматозоидите могат да оцелеят в продължение на 7 дни в гениталния тракт, а понякога дори и по-дълго.

Сред цялото население (което обхваща всички възрасти, и включва хора с репродуктивни проблеми), е изчислено, че 84% от жените ще заченат в рамките на една година вследствие на редовни незащитени сексуални контакти. Този процент нараства кумулативно до 92% след 2 години и 93% - след 3 години 18-19.

Плодовитостта може да бъде измерена като скорост на зачеване на менструален цикъл. Това е известно като способност за зачеване.

2.2. Определение за безплодие

Безплодието е определено като неуспех за зачеване след чести незащитени сексуални контакти в продължение на една или две години [124, 255, 299]. Диагнозата безплодие, базирана на неуспеха от зачеване в рамките на една година, се счита за преувеличена, тъй като до 50% от жените, които не забременяват през първата година, е вероятно да го направят през втората година [92, 245].

2.3. Разпространение на безплодието

Разпространението на безплодието в европейските страни е около 14%, засягащо около една на всеки седем двойки [58, 119, 124, 134, 169, 204, 212, 214, 228, 229, 266, 263, 264]. Данните в исторически преглед на населението оценяват средното разпространение на безплодието да бъде 5,5%, 9,4% и 19,7%, съответно на възраст 25 -29 г., 30-34 г. и 35-39 г. [48].

Безплодието може да бъде причинено от редица съпътстващи заболявания, включително (цифрите в проценти показват приблизителното разпространение) [124, 230, 266]:

• нарушения в овулацията (25%);

• увреждане на тръбите (20%);

• фактори при мъжете, причиняващи безплодие (30%);

• на матката или перитонеални нарушения (10%).

В около 25% от случаите безплодието е необяснимо, без установена причина от страна на мъжа или на жената. В около 40% от случаите отклонения са открити както при мъжа, така и при жената.

При здрави млади двойки вероятността за постигане на бременност през репродуктивния цикъл е приблизително 20 до 25%. Оплождането е нормално постигнато при около 60% от двойките в рамките на първите 6 месеца [141], за 12 месеца при 80-85% [116], при 84% в рамките на първата година и при 92% в рамките на втората година на фертилно-фокусирана сексуална активност [137], при редовно практикуване (2-3 пъти седмично) [116]. Така че 15-20% от двойките има вероятност да потърсят помощ за инфертилитета си [211]. Сред тях статистически 30% от безплодието са от страна на мъжкия фактор, 30% се дължат на женския фактор, 30% - поради проблеми с двамата партньори и 10% са с неясни причини. [71, 116, 211].

Едно скорошно проучване в Холандия на 946 безплодни двойки, консултирани за първи път в един център, показа, че 484 (51%) са станали родители в срок от 5 до 8 години [90].

В подобно изследване, направено при друго население, при 1311 мъже, които са били консултирани в центъра за мъжко безплодие на Университетската болница в Тулуза, е било установено, че 637 (56%) са станали бащи в срок от 4 до 9 години [285]. Бременността е постигната по естествен път в 29% от случаите, чрез ин витро оплождане (IVF) - в 37% от случаите, повечето от които чрез ICSI, и чрез изкуствено осеменяване - в 15% от случаите. Тези резултати, които трябваше да бъдат потвърдени от проспективни проучвания, все пак са интересни, защото показват, че голяма част от безплодните двойки не остават без дете, че делът на естествените бременности съвсем не е пренебрежим и че начинът на постигане на бременност зависи от типа на безплодието.

За мъжки стерилитет се говори, когато са налице функционални или органични разстройства, които засягат половата функция на мъжа и могат да бъдат причина за неговата намалена или липсваща оплодителна способност.

По време на преминаването през структурите на епидидима сперматозоидът претърпява съзряване, белязано от ензимни и мембранни промени, които му позволяват да придобие способности за придвижване и опложданe [35]. Епидидимът също участва в защитата на сперматозоидите от оксидативен стрес [195]. Тези молекулярни събития са все по-добре проучвани, но тяхната отговорност при безплодието не е добре установена до момента.

В миналото инфертилитетът е бил считан главно за женски фактор. Сега мъжкият фактор според различните автори варира в около една трета от случаите [211], до около 50% [150, 153, 243], даже до около 60% по данни на други автори [173, 194, 223, 300]. Постепенното увеличаване на ролята на мъжкия фактор при безплодието през последните години е довело до фокусиране на по-голямо внимание върху физио-патологичните механизми на мъжкото безплодие и неговото лечение, включително и използването на асистираните репродуктивни техники (АРТ) [94, 127, 271].

Мъжкият инфертилитет има многофакторна етиология [173] и може да е резултат от заболявания на половите жлези или извън тях [295] и по-напредналата възраст, към която човекът днес се стреми [61]. Около 40 до 90% от мъжкия инфертилитет се дължи на дефицит в производството на сперматозоиди от неопределим произход [242]. В допълнение за значение на опложданeто, мъжете с високи нива на антихламидиални антитела в семенната плазма имат намален капацитет на акрозомната реакция на сперматозоидите [135] и по-високо ниво на спермалната липидна пероксидация [234].

Въпреки значимостта на мъжкия фактор за безплодието, сравнително малко е направено за разширяване на познанията ни в тази област [70] и оценката на мъжкия инфертилитет често се неглижира или се отлага [223].

През 70-те и 80-те г. на миналия век въпросът за мъжкото безплодие беше пренебрегван поради големия напредък на асистираното опложданe - като ин витро опложданe (IVF) или трансфер на гамети - техники, до голяма степен разработени за

заобикаляне на мъжкия фактор на безплодието. Едва през 90-те г., с докладите за спад в качеството на спермата през последните няколко десетилетия [36, 61], се възражда интересът към факторите, повлияващи мъжкия инфертилитет [70].

Общоприето е, че едни от важните потенциални причини за мъжкото безплодие са симптоматичните и асимптоматични инфекции на мъжкия урогенитален тракт [170]. Секреторните канали на гениталния тракт могат да осигурят портал за възходящи микробни инфекции, които могат да се проявят като уретрит, простатит, епидидимит или орхиепидимит [290]. Затова не е изненадващо, че в 13–15% от всички случаи на мъжкия фактор за инфертилитет, инфекцията и възпалението на мъжкия генитален тракт се считат като основна причина за нарушенията на фертилитета [9, 87, 194, 301]. Инфекциите на пикочните пътища, уретритът, епидидимитът, орхитът, простатитът и инфекциите на тестисите са споменати в този контекст, в по-голяма или по-малка степен в ръководството на СЗО. Те могат да влошат качеството на сперматозоидите и да нарушат функцията на тестисите, и се считат за потенциално поправима причина за мъжкото безплодие [289, 295, 297].

Директната връзка между острата или хронична инфекция и/или възпаление на мъжката репродуктивна система и последващото развитие на инфертилитет представляват важни въпроси в съвременната медицина [9, 102, 188].

Все повече автори подкрепят мнението и предоставят доказателства за това, че инфекциите и възпаленията на мъжкия уро-генитален тракт и тестисите играят важна роля в мъжкия инфертилитет [84, 109] и корелират с намаляването на качеството на спермата, както и на броя на сперматозоидите с добра морфология [177].

Инфекциите на репродуктивния тракт при мъжете обикновено започват от уретрата и чрез семепроводите може да стигнат до епидидимите. Нелекуваната например хламидиална инфекция на пикочния канал може да се разпространи към епидидима. Пациентите обикновено имат едностранна тестикуларна болка, чувствителност или подуване на епидидима [80, 184]. C. trachomatis е причинителят в повечето случаи на остър епидидимит при мъжете на възраст под 35 г., докато обикновените патогени на пикочните пътища представляват етиологията на по-голямата част от острите и хронични възпаления на епидидима

при мъжете над тази възраст [269, 283, 307]. Ако това състояние не се лекува, може да се задълбочи и да достигне до тестисите (където се произвежда спермата) [59, 8] и да нанесе съответните поражения.

Простатитът е едно от най-честите урологични разстройства и може да засегне мъже от всяка възраст [24]. Приблизително една трета от всички мъже през живота си ще проявят симптоми на простатит [193].

Инфекцията и възпалениетона мъжкия репродуктивен тракт се приемат като важни етиологични фактори на безплодие [231].

Подобно на много други медико-социални проблеми, например самоубийство, алкохолизъм, рак и сърдечно-съдови заболявания, обяснението за увеличението на полово предаваните инфекции (ППИ) има множество предпоставки. Отношението към секса и сексуалното поведение са коренно променени [27].

В допълнение, бедността, урбанизацията, войните, както и социалните миграции често водят до повишени нива на проституция [179].

Инфертилитетът трябва да се разглежда като сериозен обществен здравен проблем, който засяга не само системата на здравеопазването, но също и социалната обстановка [81, 137, 154, 286].

Рисковите фактори за мъжкото безплодие са различни за различните държави, така че е важно всяка развиваща се страна да определи най-влиятелните фактори за своето население.

Нивото и моделите на безплодие се различават значително в отделните страни и региони. Смята се, че тази разлика е свързана с разликата в рисковите фактори в различните региони [62, 159].

2.4. Скрининг

Скринингът на сексуално предавани инфекции (ППИ) е особено важен поради това, че повечето от инфекциите като Chlamydia trachomatis и Neisseria gonorrhoeae са асимптоматични и остават недиагностицирани или нелекувани [182, 272].

Домашно базираните скринингови стратегии използват самостоятелно събиране на данни, ползвайки пощата с екземпляр-образец. Това е осъществим и действащ подход в много нива на популацията за скрининг проучвания в Швеция

[196] и Нидерландия [276]. Домашно базираните доказателства дават основание да се предполага, че тези STI тестове може да бъдат по-приемливи и ефективни в сравнение с традиционните STI тествания в клиники.

2.5. Критерии за оценка на спермалния анализ

Като се има предвид обхватът на причините за безплодие, осигуряването на подходящи изследвания е от решаващо значение. Тези изследвания включват анализ на спермата; оценка на овулацията; увреждане на тръбите и маточни аномалии; и скрининг за инфекции като хламидия трахоматис, рубеола, микоплазма както при жените, така също и при мъжете.

Критериите на СЗО за оценка на качеството на спермата се основават върху популациите на мъже с нормална оплодителна способност и са описани като "референтни стойности" [296].

Определения, отнасящи се до качеството на спермата са дадени в глава „Безплодие-оценка и лечение". Въпреки това, тези цифри са валидни само за изпитванията, извършени в съответствие с методологията, описана в документ на Световната здравна организация [296].

Повторните измервания на сперма от един и същ индивид ще варират във времето [103]. Това доказва предположението, че са необходими две [295] или три проби на сперма [209], за да се установи надежден сперма-профил. Обаче ако се взематпредвид критериите на СЗО, според които тестът е много чувствителен (което означава, че тестът идентифицира необичайни нарушения), и анализът на сперма е нормален, не е необходим повторен анализ. За ограничаване на неверните положителни резултати се препоръчва извършване анализ на повторна проба сперма само ако резултатът от първия анализ е извън норма [57].

Биологически оптималното време за втората проба е най-малко три месеца след първоначалната извадка, тъй като цикълът на образуване на сперматозоидите отнема около три месеца [164]. Все пак, това забавяне може да предизвика тревожност и времето на втората проба трябва да се съобрази с предпочитанията на пациента. Ако се отчита азооспермия или тежка олигозооспермия в първоначалния анализ на спермата, трябва да се извърши повторен тест в рамките на две до четири седмици. Ако тестът за повторение се отчете като нормален, и спермата може да се

разглежда като такава и не е необходимо допълнително изследване. Въпреки това, тези пациенти може да се нуждаят от по-нататъшна оценка на качеството на спермата при асистирана репродукция. При мъжете, които имат два необичайни анализа на сперма, би следвало да се направи по-подробна оценка на спермата. Тестовете трябва да се разглеждат в клиничен контекст и според обстоятелствата на отделния човек или двойка. Ако азооспермията се потвърди, това трябва да се обясни деликатно на пациента, за да не бъде травмиран психически.

Резултатите от спермалния анализ, проведени като част от първоначалната оценка, следва да бъдат сравнени със референтните стойности на Световната здравна организация [296].

При изследването на мъжкия фактор с възможен инфертилитет задължителна процедура е и провеждане на тестове за установяване наличието/липсата на ППИ. От бактериалните инфекции с най-голяма честота са тези, предизвикани от *C. trachomatis, N. gonorrhoeae u T. pallidum.* В последно време всяка двойка с инфертилитетни проблеми бива подлагана на тестване и за *M. genitalium, M. hominis* и *U. urealyticum*. Задължително е и тестването за паразита *T. vaginalis*.

Понастоящем много са проучванията, които изследват влиянието на съответните микроорганизми върху качеството на спермата.

Инфертилитетът е симптом, а не диагноза. Абнормалният спермален анализ сам по себе си, не е диагноза: това е физически знак. Без да се постави диагноза на причината за инфертилитета, не може да се предприемат мерки за предотвратяването му, нито може да се прилага рационално лечение [132]. Непрекъснато увеличаващият се интерес към проучване на мъжкото безплодие е стимулирало изследванята на сперматозоидната физиология, спермалните абнормалности и хипофизо-гонадната връзка и микроскопското проучване на тестикуларната тъкан [60]. Това дава възможност за огромен набор от диагностични опции [207].

По време на преминаването през епидидима сперматозоидът претърпява съзряване, белязано от ензимни и мембранни промени, които му позволяват да придобие способности за придвижване и оплождане [35]. Епидидимът също участва в защитата на сперматозоиди от оксидативен стрес [195]. Тези

молекулярни събития са все по-добре описани, но тяхната отговорност при безплодието не е достатъчно установена до момента.

Повечето изследвания наблюдават промяна в параметрите на спермата, свързани с високия индекс на телесна маса (HBMI) [130]: намаляване на концентрацията или общия брой на сперматозоидите, намаляване на броя на подвижните сперматозоиди, повишение на атипичните форми на сперматозоидите. Скорошен метаанализ, синтезиращ резултатите от 14 проучвания, показва повишен риск от развитие на олигозооспермия или азооспермия в случай на висок BMI [236].

Предполага се, че също има увеличение на спермална ДНК фрагментация при затлъстяване [68, 156, 222] или дори при наднормено тегло [147], което предполага промяна на качеството на сперматозоидите.

Инфертилитетът трябва да се разглежда като сериозен обществен здравен проблем, тъй като засяга не само системата на здравеопазването, но също и социалната обстановка, оставяйки в обществото дълбоки последици [137, 244].

Диагнозата на мъжкия фактор за инфертилитета предизвиква нарушено сексуално и персонално (лично) качество на живот [246]. При това, възраст над 30 години, 3-6 години продължителност на безплодие и мъжки инфертилитетен фактор са рискови фактори за семейно недоволство [244].

3. Лечение на полово предавани инфекции

Диагностиката и лечението на полово предаваните инфекции (ППИ) могат да бъдат трудни, особено в ситуации, когато използването на точни лабораторни тестове липсва или е прекалено скъпо.

Лечението на инфекция, развила се в семепроводните пътища на мъжа, трябва да се основава на изолираните съответни микроорганизми и на антибиограма [65, 66, 152, 235, 111].

След като отговорният за инфекцията микроорганизъм е бил идентифициран, се започва антибиотична терапия. Въпреки това културелно негативни пациенти трябва да бъдат лекувани с противовъзпалителна терапия и

честа еякулация, защото емпиричната антибиотична терапия генерално не осигурява никаква полза, както в някои случаи може да бъде и вредна [76, 305].

Ако се диагностицира генитална инфекция, лечението трябва да бъде с широкоспектърни антибиотици като триметоприм (trimethoprim), еритромицин (erythromycin) и доксициклин (doxycycline), които достигат до аксесоарните жлези [243]. Подходящото антимикробно третиране на мъжете с ИМАЖ (MAGI) подобрява симптомите. Антибиотиците могат да повлияят левкоцитоспермията и ROS-производството в спермата [5, 270, 281].

Резултатите от ефекта на антимикробното лечение върху качеството на спермата са противоречиви. Някои автори смятат, че антибиотичното лечение често само премахва микроорганизмите и няма ясен положителен ефект върху възпалителните изменения и ROS-производството от левкоцитите. Открит е само незначителен ефект на антибиотиците върху спермалните параметри след 3 месеца лечение с антибиотици. Ефектът върху броя на левкоцитите и ROS-производството е наблюдаван главно при мъжете с простатит и много ограничено при мъжете с епидидимит. Няма данни за намерен ясен ефект върху процента на забременяване [88].

ИМАЖ (MAGI) често се появява отново поради липсата на достатъчно протоколи за лечение [88].

По-голяма честота на еякулацията с цел улесняване дренажа на аксесоарните жлези също е от значение [243].

Някои изследователи откриват, че три или четири месеца след прилагане на антибиотично лечение при заразените мъже увреждането на ДНК, което причиняват C. trachomatis и M. Hominis, може да бъде частично коригирано и е възможно напълно да се възстанови оплождането [106].

Важно условие е при установяване на инфекция да се лекуват и двамата полови партньори. Провеждането на лечение само при единия би довело до повторното му инфектиране след успешно лечение.

Азитромицин (Azithromycin) или тетрациклини (tetracyclines) са лекарства, подходящи за Chlamydia trachomatis инфекции (напр. азитромицин 1 грам орална (p.o.) единична доза); доксициклин (doxycycline) 2 × 100 мг/ден орално (p.o.) за 7-

14 дни) [88]. Започва се с 2-седмичен режим на тетрациклин или флуорохинолони в случай на хламидия. Лечението също ефектира върху гонококовия уретрит.

Инфекциите с *U. urealyticum* могат да бъдат лекувани с тетрациклин (дозата, както по-горе) или с еритромицин (2 г/ден орално (p.o.) в продължение на 7-10 дни).

Поради честата коинфекция с *Chlamydia trachomatis*, гонореята се лекува с CEFI цефиксим (cefixim) (400 мг орално (p.o.) еднократна доза) или цефтриаксон (ceftriaxone) (125 мг мускулно i.m. еднократна доза), в комбинация с азитромицин (Azithromycin) или тетрациклини (tetracyclines) (вж. по-горе дозата) [66].

Според констатациите на микробиологичните изследвания в хода на лечението могат да бъдат използвани следните агенти:

Доксициклин - 200 мг/ден, тетрациклин - 1,5 до 2 г/ден, флуорохинолони (офлоксацин, норфлоксацин, ципрофлоксацин, левофлоксацин) - 0,5 до 1 г/ден, clotrimoxazole (800 мг сулфаметоксазол, триметоприм 160 мг) или макролиди, например, еритромицин - 1,5 до 2 г/ден. Тези лекарства се прилагат в продължение на 2 до 3 седмици [113]. Целите на лечението са намаляване или премахване на микроорганизмите, намиращи се в секретите на простатата и в спермата, нормализиране на възпалителните параметри - като нивата на левкоцитите и биохимичните маркери, като гранулоцитната еластаза и подобряване на параметрите на спермата [289]. Въпреки че антибактериалната терапия може да намали възпалителните влияния, когато се прилага при пациенти с инфекция на генитална тракт, няма налични изследвания по въпроса, касаещ повишаването на процента на забременяванията [290].

При лечението се цели овладяване на субективните оплаквания, саниране на възпалителния процес и запазване или възстановяване на фертилната способност.

Бактерицидните антимикробни средства са от решаващо значение в първите часове на лечението. Понякога се налагат максимални дози или различни комбинации [11].

Краят на лечението при острите процеси трябва да е след поне двукратно получени стерилни антибиограми [11].

Необходима е нова подробна анамнеза и анализ на причините за лечебен неуспех, рецидив или реинфекция [11].

При стриктно провеждане на терапията и редовно проследяване на хроничния простатит се постига достатъчен комфорт, нерядко и пълно излекуване.

Едновременното лечение на двамата или повече партньори е изключително важно при лечението на уретрита, даже при липса на лабораторни и клинични данни [11, 26].

Пациентки с антиспермални антитела като причина за безплодие могат да бъдат подложени на терапия с преднизолон, постоянно или периодично. Тази терапия може да има сериозни странични ефекти, като асептична некроза на главата на бедрената кост, която възниква в около 1 на 500 случая. Плацебо контролирани проучвания показват значително увеличение на бременностите с постоянно или периодично лечение (дадени през първите 10 дни от менструалния цикъл на партньорката) и спермата може да бъде крипто-резервирана за по-нататъшна употреба (изкуствено осеменяване) с асистирана репродукция. С последните процедури 50% от пациентите с автоимунитет са постигнали опложданe без лечение с глюкокортикоиди [243].

Профилактиката започва от раждането с предпазване от инфекции на половите органи, своевременно лечение на малформациите, възпитание на добри хигиенни и житейски навици [21].

Представеният обзор на литературата с проведени щателни анализи на различни изследователи и допълнени от практическия опит на много лечители, диктуват необходимостта от продължаващи разработки относно единния диагностичен и терапевтичен подход на групата заболявания от ППИ, като се отчита и социалната значимост, и сериозните последствия за здравето на индивидите.

III. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Цел на настоящия дисертационен труд е да се изследва разпространението на *Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Trichomonas vaginalis* и гениталните микоплазми като половопреносими агенти чрез микробиологични и молекулярно-биологични диагностични методи, в клинични материали от пациенти и безсимптомни индивиди за периода 2010 – 2013г. и тяхното влияние върху фертилитета при мъжа.

За постигането на тази цел, бяха поставени и последователно изпълнени следните **задачи**:

1. Определяне честотата на *C. trachomatis* в изследваните материали чрез изолиране в клетъчни култури и доказване с имунофлуоресценция и PCR наличието й в клиничните материали.
2. Определяне честотата на *N. gonorrhoeae* чрез PCR в клиничните материали
3. Определяне честотата на *U. urealyticum*, *M. hominis* и *M. genitalium* в клиничните материали
4. Определяне честотата на *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *U. urealyticum*, *M. hominis* и *M. genitalium* в клиничните материали чрез мултиплекс PCR
5. Определяне честотата на *T. vaginalis* в клиничните материали
6. Определяне качествата на семенната течност преди и след проведена терапия при пациенти с изолирани *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *U. urealyticum*, *M. hominis* и *M. genitalium.*
7. Оценка на влиянието на *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *U. urealyticum*, *M. hominis* и *M. genitalium* върху развитието на инфертилитет сред мъжете.

IV. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Дълъг период от време се игнорираше мъжкият фактор като значим за оплождането и се приемаше, че причините за безплодието се крият у жената, но днес все по-активно се обсъжда това обстоятелство както в литературата, така и в обществото. Мъжете се определят като фертилни, ако притежават следните обстоятелства:

- нормални тестиси;
- нормална сперматогенеза;
- функционално здрав епидидим, в който съзряват сперматозоидите;
- проходими семенни канали;
- нормални структура, брой и подвижност на сперматозоидите;
- способност да се депонира спермата във вагината на жената (това изисква адекватно желание за секс, способност за постигане и поддържане на ерекция и нормална еякулация и мястото ѝ да е вагиналния свод).

Наблюденията сочат, че с всяка следваща година ситуацията в това направление се влошава в резултат на влиянието на много фактори: миграция на населението, безразборни полови контакти, алкохолизъм и наркомания, промени в психичното здраве, самолечение с антибиотици, акцелерация, нежелание на хората да провеждат профилактика. Така проблемът от медицински се превръща в социално зависим и значим.

Редица публикации определят възпалителните заболявания на половата система на мъжа като основна причина за безплодието му. В тази връзка от значение е честотата на преболедувалите мъже в ранна възраст, която е голяма и наличието на отклонения в спермалните им показатели, поради прекаран възпалителен процес.

Главният въпрос при мъжа е дали продуцира достатъчно количество качествени, подвижни и морфологично правилни сперматозоиди. Спермограмата е обикновено, но извънредно полезно изследване на функциите на тестисите. Тя представлява макроскопично и микроскопично изследване на спермата, отделена при еякулация.

В някои случаи спермограмата може само временно да бъде изменена: продължителен фебрилен синдром (> 38 градуса по Целзии), физически или психически стрес, дефицитни състояния, хроничен или интензивен прием на медикаменти.

1. МАТЕРИАЛ

В настоящия труд са представени резултати, касаещи разпространението и клиничната роля на значимите за България бактериални причинители на ППИ – C. trachomatis, N. gonorrhoeae, U. urealyiticum, M. genitalium, както и протозоите Trichomonas vaginalis.

За период от 3 години (месец септември 2010 г. до месец септември 2013 г.) са прегледани 1372 пациенти в Клиниката по урология на УМБАЛ "Александровска" – андрологичен кабинет. Бяха проучени клиничните материали при 347 пациенти от симптоматични лица с нарушен фертилитет и оплаквания от страна на урогениталната система във възрастта между 16 и 63 години, средна възраст 33,67г., Получените уретрални секрети и еякулати от прегледаните пациенти бяха изследвани в Катедрата по Микробиология на МФ.

За целта на проучването разделихме пациентите на следните възрастови групи (Таблица 7):

Таблица. 7. Възрастови групи

Възрастови групи - години						Общо
до 20 г.	21-30 г.	31-40 г.	41-50 г.	51-60 г.	над 60 г.	
10	29	11	0	0	0	**50**
1	30	91	51	3	1	**177**
1	43	32	7	0	0	**83**
0	15	22	0	0	0	**37**
12	**117**	**156**	**58**	**3**	**1**	**347**

1.1. Анамнестични данни, събрани при провеждане на прегледите

От всички пациенти, преминали на прегледи през андрологичен кабинет се събираха данни за: социален статус (професия, семейно положение; местоживеене), прекарани операции и травми на скротума или други интервенции; работа в среда с вредности; употреба на медикаменти, наркотични вещества; данни за първи полови контакти; стерилни бракове в семействата и др.

1.2. Клинична симптоматика при заболявания на половите органи

Голяма част от пациентите съобщават за различна симптоматика: болка в скротума, парене или друго дразнене в пикочния канал, изтичане на секрет от уретрата. При други пациенти липсват каквито и да са клинични симптоми.

2. МЕТОДИ

2.1. Микробиологични методи за изследване на хламидии

Комбинирането на съвременни диагностични методи и тестове в лабораторната практика като култивиране в чувствителни клетъчни линии с последващото им доказване чрез имунофлуоресценция с използването на специфични моноклонални антитела и **PCR** за доказване част от генома на различни видове микроорганизми в един и същ клиничен материал, е важен момент в навременното откриване и съответно в успешното лечение и контрола на инфекциите в урогениталния тракт.

2.1.1. Получаване и транспорт на материалите

Поради факта, че C. trachomatis са облигатни вътреклетъчни паразити, бе необходимо материалите от пациентите да бъдат взети така, че да съдържат максимален брой евентуално заразени епителни клетки. За целта в проучването бе използван уретрален секрет чрез “остъргване” на уретралния епител в първите 1-2 см на уретрата чрез специален тънък тампон, пригоден за мъже. Изискването беше материалът да бъде даван сутрин - преди първата порция урина да е преминала през уретрата. Така получените материали бяха поставени в епруветки, съдържащи 2 мл транспортна среда, при изричното указание тампонът да остане вътре в епруветката в отвесно състояние.

За транспорт на материалите бе използвана специална транспортна среда - 2SP.

Необходимо условие бе материалите да бъдат транспортирани максимално бързо до микробиологичната лаборатория (обикновено в рамките до два часа от вземане на пробата). След доставяне на материала в лабораторията той бе вортексиран и разделен на две равни части за последващото му използване в различните по същността си типове реакции за доказване на C. trachomatis - култивиране с последваща имунофлуоресценция и съответно PCR.

Клиничните материали трябваше да се съхраняват на 4ºС при култивиране до 24 ч. и на -70ºС - при по-дълго съхранение.

Изследването им чрез култивиране бе извършено веднага или след съхранението им в хладилни условия след не повече от 7 дни от датата на постъпването на секрета в лабораторията.

ДНК екстрактите от клиничните материали бяха подложени на PCR още същата седмица или максимум в рамките на месец при изричното им съхранение на -30ºС и по-ниска температура при по-дълго съхранение.

2.1.2. Клетъчно култивиране и имунофлуоресцентен метод (ИФМ) за доказване на хламидии

Контролни щамове. За контрол на култивирането и имунофлуоресценцията бяха използвани C. trachomatis (No.1206 и No.3943). Хламидиалните щамове бяха пропагирани 48 до 72 ч. в клетъчни линии McCoy за C. trachomatis.

Изолиране на хламидии в клетъчни култури беше извършено на клетъчна линия McCoy [45, 219]. За целта предварително бяха подготвени конфлуентни клетъчни монослоеве в 24-гнездови плаки с покривни стъкла на дъното в среда за култивиране: RPMI с 5% FBS, 2 mM L-глутамин и антибиотици. Средата бе отпипетирана внимателно и след еднократно промиване с чиста RPMI в ямките бяха накапвани с по 200 μl чиста RPMI. Клиничните материали бяха вортексирани интензивно 60 сек., след което бяха прибавяни в ямките (по 300 μl/ямка). Плаките бяха центрофугирани 1 ч. на 1,500 г при 35ºС, след което бяха инкубирани стационарно 2 ч. на 37ºС при 7% CO_2. Течността бе отпипетирана внимателно и бе накапана среда RPMI 1640 с 1% FBS, 1 μg/ml циклохексимид и антибиотици (ванкомицин 100 mg/l; гентамицин 50 mg/l; амфотерицин Б 12,5 mg/l). След инкубиране 48 ч. – 72 ч.на 37ºС в 7% CO_2 атмосфера, стъклата бяха извадени, фиксирани 10 мин. с метанол и обработени за имунофлуоресценция.

Моноклонални антитела. В ИФТ бяха използвани моноклоналните антитела, получени, охарактеризирани и проучени в Катедрата по Микробиология от Хараламбиева Я. [25] - MA 202D7 (IgG3 изотип), разпознаващи епитоп в родовоспецифичния ЛПЗ антиген на хламидиите.

Имунофлуоресцентен метод за доказване на хламидии в клетъчни култури.

2.1.3. Изолиране на хромозомна и плазмидна ДНК от клинични материали и контролни щамове

Изолирането на генетичен материал от контролните щамове и клиничните материали беше извършено с DNA-Sorb-A кит (Sacace Biotechnologies, Italy), апробиран за изолиране и пречистване на ДНК от урогенитални секрети, урина, простатни секрети, цервикални секрети и други биологични материали.

В предварително подготвени епруветки от 1,5 ml бяха сложени 10 μl вътрешен контрол и 300 μl лизис разтвор. Към тях бяха добавени 100-150 μl от материала на пациента. Епруветките бяха вортексирани и инкубирани за 5 мин. на 65ºC. Впоследствие към съдържанието на всяка една от епруветките бе добавендобре хомогенизиран след вортексиране сорбент в количество 20 μl. Така изготвените епруветки бяха вортексирани за 5 сек. и инкубирани за 3 мин. на стайна температура. Последната стъпка на реакцията беше повторена още веднъж и последвана от центрофугиране на епруветките за 1 мин. на 5,000 g. С помощта на микропипета супернатантата на всяка епруветка бе отстранена. Към всеки материал бе добавен промиващ разтвор за хомогенизиране на пелета. След вортексиране материалите бяха центрофугирани за 1 мин. на 10,000 g. Супернатантата на всяка епруветка бе отстранена. Към всеки материал отново бе добавен промиващ разтвор за пелета. След вортексиране материалите бяха центрофугирани при 10,000 g за 1 мин., след което супернатантата от всяка епруветка бе отстранена. Така приготвените епруветки бяха оставени с отворени капачета за изсушаване в рамките на 5-10 мин. на 65ºC. Добре подсушеният пелет бе ресуспендиран в 100 μl ДНК-елуент и инкубиран за 5 мин. на 65ºC. Епруветките бяха центрофугирани за 1 мин. на 12,000 g като при това супернатантата съдържаше готовата за амплификация ДНК.

2.1.4. Полимеразна верижна реакция (PCR) за доказване причинители на ППИ

ДНК от контролни щамове. За контрол на PCR реакциите беше използвана ДНК, изолирана от следните щамове: *C. trachomatis* Serovar E щам BOUR ATCC VR-348B, N. gonorrhoeae ATTC-43069, U. urealyticum ATCC-33699, M. genitalium ATCC-33530, M. hominis ATTC-14027 и T. vaginalis ATCC-30001.

PCR за доказване на C. trachomatis, N. gonorrhoeae, U. urealyticum и M. genitalium чрез двойки праймери, осигуряващи, както униплекс PCR реакция, така и мултиплекс PCR. Всички ДНК екстракти от клиничните материали бяха подложени на амплификация поотделно за всеки от четирите микроорганизма - C. trachomatis, N. gonorrhoeae, U. urealyticum и M. genitalium [158]. Общият обем на реакционната смес бе 25 µl, а количеството на използваната изолирана и пречистена ДНК – 4,0 µl. В реакциите бяха използвани двойките праймери, представени в Табл.11. Амплификационният протокол бе следният: начална денатурация (94ºC, 5 мин.), последвана от 35 цикъла денатурация (94ºC, 40 sec), анилинг (54ºC, 45 сек.) и удължаване (72ºC, 1 мин. 5 сек.), с финално удължаване на веригата при условия 72ºC за 7 мин.

PCR за доказване на T. Vaginalis. ДНК екстрактите от клиничните материали бяха подложени на амплификация за доказването на T. vaginalis. Общият обем на реакционната смес бе 25 µl, количеството на използваната изолирана и пречистена ДНК - 4,0 µ, а двойката праймери бе с последователност TV3 (5'-ATTGTCGAACATTGGTCTTACCCTC-3') и TV7 (5'-TCTGTGCCGTCTTCAAGTATGC-3')

PCR за доказване на β-глобин. На ДНК екстрактите от клиничните материали бе извършена амплификация за доказване гена за синтез на β-глобин. Получаването на специфичен продукт се явява доказателство за липсата на потискане на полимеразно-верижната реакция от наличните в пробата вещества и реактиви.

Общият обем на реакционната смес бе 25µl, а количеството на използваната ДНК – 4,0 µl. Реакцията бе провеждана с двойката праймери 5'-ACACAACTGTGTTCACTAGC-3' (120-139,20bp) и 5'-GAAACCCAAGAGTCTTCTCT-3' (310-329,20bp).

2.1.5. Наблюдение на нативен препарат за подвижни трихомони и изолиране на T. vaginalis чрез TV4 среда

За поставянето на правилна диагностика на урогениталните паразитози се използват следнати методи:

- микроскопска диагностика:
    - нативни методи

- оцветителни методи - оцветяване по Романовски – Гимза

- културелна диагностика – посявка в TV4 среда
- PCR

От тях най-лесно и бързо приложим е изготвянето и наблюдаването на нативен препарат. При него взетият материал се смесва с физиологичен разтвор и веднага може да се визуализира под микроскоп характерната форма и подвижност на трихомоните. Методиката изисква добре обучен персонал.

За още по-голяма достоверност на резултатите се прибягва до използването на културелна диагностика. Извършва се посявка на клиничния материал в специална среда – TV4. В рамките на 24-48ч от средата се приготвя препарат и се наблюдава нативно или след оцветяване.

2.2. Сперматологични методи

2.2.1. Спермален анализ (конвенционален) на еякулат

Извършените изследвания в лабораторията за спермален анализ “Д-р Ноневи” са по критериите и обновените референтни стойности на СЗО от 2010 г. [296] за оценка на еякулата.

СПЕРМОГРАМАТА представлява пълен анализ на семенната течност (физически свойства, химически и клетъчен състав и др.), даващи възможност да се оценят способностите и за оплождане.

Сперматозоидите са зрелите мъжки полови клетки. Открити са от студент медик Й. Гам (1680 г.), по-късно описани от А. Льовенхук. Сперматозоидите се образуват като резултат от спермогенезата и участват в оплождането. Зрелият нормален сперматозоид се състои от главичка, шийка, тяло и опашка. Общата дължина на сперматозоида е около 50 - 60 мкм (главичка 5 - 6 мкм, шийка и тяло 6 - 7 и опашка 40 - 50 мкм). В главичката се намира ядро, носещо наследствения материал на бащата. На предния ѝ край се намира акросома, която осигурява проникването му през обвивката на женската яйцеклетка. В шийката и тялото са разположени митохондрии и спираловидни нишки, които са генератор на двигателната активност на сперматозоида.

Според критериите на СЗО идеалният, зрял сперматозоид има овална глава с правилен, симетричен контур (с размери 4,0 – 5,0 микрона дължина и 2,5 – 3,5 микрона ширина) с бледа предна част (акрозома, 40 – 70% от общата площ на главата) и по-тъмна задна част. Съотношението между дължина и ширина на главичката трябва да е 1,5 до 1,75. Опашката на сперматозоида трябва да бъде захваната в симетрично разположена ямка в основата на главичката. Основата на главичката трябва да е широка и да не е с форма на стрела. Всеки сперматозоид трябва да има само една опашка (около 45 микрона дължина), която да не е навита като спирала, нащърбена или под ъгъл. Непосредствено зад главичката първата част на опашката трябва да е малко по-широка (максимална ширина 1 микрон) и дълга около 7 – 8 микрона. “Нормалните” цитоплазмени капчици трябва да имат гладки контури (не назъбени), разположени са в основата на главичката и са с размер по – малък от 1/ 3 от нормалната дължина на главичката.

Спермата е семенна течност, (еякулят), която представлява смес от отделените по време на еякулацията продукти от мъжките полови органи: тестисите, простатната жлеза, семенните мехури, купферовите жлези, уретрата.

2.2.2. Процедура по даване на еякулат за спермален анализ

Качеството и количеството на еякулата е в пряка зависимост от точното изпълнение от пациента на предварителните лекарски указания за начина на даване на семенна течност. Изискванията към пациента са следните:

1. Преди даване на еякулата е необходимо полово въздържание от 2 до 5 дни.
2. Спазва се предварителна хигиенна процедура.
3. Използва се стерилно шише (стъклен съд) и чрез мастурбация в него се събира по възможност цялото количество отделена семенна течност.
4. Задължително е да се съобщи на изследващия при попадане на част от еякулата извън стерилното шише. Забранява се добавяне на други материали или вещества, както и използване на други приспособления за събиране на семенната течност, като латексови презервативи, чашки и др. Вече са произведени специално изработени нетоксични презервативи за събиране на еякулат.

5. Най-добре е еякулатът да се отделя в подготвено помещение в самата лаборатория, но когато това е невъзможно, по различни причини, се приема еякулат, отделен другаде, но доставен в лабораторията до 30 мин. от добиването му при определени условия за съхранение и транспортиране при 20 до 37°C температура и др.

2.2.3. Изисквания към лабораторията

- Да контролира спазването на изискванията за даване на еякулат в лабораторията или да се увери за спазването на условията при носене на еякулат за изследване отвън.
- Да спазва указанията и препоръките на СЗО за съхранение и изследване и да се съобразява с обновленията в референтните стойности при даване на резултатите.
- Да извършва цялостен анализ на спермата, който включва: (а) макроскопска оценка; (б) микроскопска оценка; (в) морфологична оценка; (г) правилно изчисление и отразяване на установените параметри; (д) подходящи мерки за контрол на качеството.
- Да извършва микробиологично изследване на еякулата при очаквана инфекция.
- Да използва правилна научна терминология.

Количеството и качеството на отделената от пациента едноактна порция еякулат трябва да отговаря на точно определени условия, за които адекватните лекарски указания за начина на предоставяне на семенната течност са от съществено значение. Пациентът трябва да се съобрази със следните изисквания:

1. Спермата се дава в лабораторията чрез мастурбация след полово въздържание от от 2 до 5 дни.
2. Желателно е процедурата да отговаря на предварително уточнена хигиенна норма.
3. По възможност цялото количество отделена семенна течност се събира в специално пригоден за целта контейнер чрез мастурбация.
4. Информирането на лекаря за евентуална загуба на материал по технически причини е важно. Еякулатът не се смесва с нищо, което би компрометирало

оценката на изследването. При невъзможност да бъде извършено мастурбирането за събиране на еякулата от лицето, за целта може да се ползват специално изработени нетоксични презервативи.

5. Желателно е еякулатът да се отделя в пригодено за целта помещение в самата лаборатория, но когато това е невъзможно по различни причини, се приема материалът да е отделен другаде, но доставен в лабораторията до 30-ата минута от акта при определени условия за съхранение и транспортиране при 20 до 40°С температура и др.
6. Съдържанието на бланката, която се попълва като резултат от изследването, трябва да съдържа дата и място на даване на семенната течност, времето на полово въздържание, съществуването на здравословен проблем, липсата на фебрилитет в последните 3 месеца.

Изисквания към лабораторията

- Да упражнява контрол в лабораторията за спазването на изискванията за даване на семенната течност от пациентите или да е наясно със спазването на условията при носене отвън на еякулат за изследването.
- Да спазва указанията и препоръките на СЗО за съхранение и изследване на еякулат и да се съобразява с обновленията в референтните стойности при предоставяне на резултатите от изследванията.
- Да извършва цялостен анализ на спермата, който включва: (а) макроскопска оценка; (б) микроскопска оценка; (в) морфологична оценка; (г) правилно изчисление и отразяване на установените параметри; (д) подходящи мерки за контрол на качеството.
- Да извършва микробиологично изследване на еякулата при необходимост.
- Да използва правилна научна терминология.

2.2.4. Макроскопски изследвания

Време на втечняване. При 37°С целият еякулат се втечнява преди 30-атаминута, обикновено до 15-ата минута при стайна температура, но за норма се приема втечняване до 60 минути от самата еякулация.

Цвят. Отбелязването на цвета на еякулата се извършва след втечняването му и до 1 час след еякулацията. За норма се приема хомогенен, светлосив опалесцентен цвят.

Обем. За норма се приема обем на еякулата, който да не е <1.5 мл и се измерва в рамките на 1 час след еякулация.

Вискозитет. За норма се приема слузесто-течен вискозитет, но това се променя при различните патологии в двете посоки - течен и повишен.

pH. Измерва се след завършено втечняване на еякулата и в рамките до 1 час след еякулация. За норма се приема граница между pH 7.2 и 8.

2.2.5. Микроскопско изследване

Използва се фазово-контрастен микроскоп или светлинен микроскоп с увеличение x100, x200 и x400. При x100 се наблюдава агрегацията и аглутинацията, както и наличните други клетки или клетъчни елементи. При x200 - x400 се изследват мотилитета, концентрацията и подвижността.

Рутинен спермален анализ. Методите за подготовка на нативни препарат са стандартизирани, а за преброяване и определяне на концентрацията, общия сперматозоиден брой и други параметри се използва хемоцитометър.

Мотилитет - сперматозоидна подвижност. Оценяват се три категории сперматозоиди с:

1. Прогресираща подвижност (над 20 μm/s) - в норма е стойност >32%;
2. Непрогресираща подвижност (слаба) (<20 μm/s), за норма се приема сумата от прогресираща и непрогресираща подвижност да е >40%;
3. Неподвижни.

Други клетки и клетъчни елементи, освен сперматозоидите: левкоцити и неразвити герминативни клетки, епителни клетки и отделените сперматозоидни главички или опашки.

- ***Левкоцити*** - за левкоспермия (левкоцитоспермия) се приема наличие на общ брой левкоцити ≥1x10^6 /1мл или 10-12 левкоцити на поле.

За по-голямо отдиференциране разделихме наличните левкоцити на няколко категории: 1-2 на поле и брой >250 000, >500 000, >750 000 и ≥1000 000 левкоцити/1мл сперма.

- ***Други клетки и клетъчни елементи*** - Преброяването на такива клетки и на левкоцитите се извършва с подходящ хемоцитометър (както на сперматозоидите) и се използва специална формула. C = S x (N/400), където C е концентрацията на кръглите клетки, S - концентрацията на сперматозоидите (10^6/1мл) и N - броят на кръглите клетки на същия брой полета, където са преброени 400 сперматозоиди.

2.2.6. Определяне на сперматозоидната концентрация

Необходима е ориентировъчна предварителна сперматозоидна концентрация в млн/мл преди разреждане и използване на хемоцитометър за определяне на сперматозоидната концентрация.

Методи за определяне на сперматозоидната концентрация чрез камерно броене. За определяне на сперматозоидната концентрация с висока точност се прилага хемоцитометричния метод с хемоцитометъра на Neubauer. За норма се приема концентрация, която да не е <15 млн./1мл еякулат.

Методи за определяне на общия брой на сперматозоидите. За норма се приема общият брой на сперматозоидите да не е <39 млн.

2.2.7. Методи за определяне на виталитета

За норма се приема живите сперматозоиди да са ≥58% от общия брой. Тестовете уточняват и подвижността (процентът на мъртвите не трябва да е по-голям от процента на неподвижните). При тези методи мъртвите клетки се оцветяват, а живите остават неоцветени.

2.2.8. Морфология на сперматозоидите и нейната класификация

Препаратите се наблюдават под имерсия (x1000). Дължината и ширината на сперматозоида се измерва с окулярен микрометър. При изследане на морфологията се използват различни методи за оцветяване като класическия Papanicolaou, оцветяване по Shorr, Diff-Quik и Spermac stain (китове). Последният е предпочитан поради това, че добре отдиференцира сперматозоидните части,

оцветявайки ги различно. За норма се приема нормалните форми да не са >4% от общия брой и само сперматозоиди с опашка се вземат в съображение при диференциалното броене.

Класификация. Сперматозоидите са подразделени в следните категории според тяхната морфология:

1. ***Дефекти на главичката:*** малки, големи, заострени, главички с малки акрозоми и двойни главички и др.;
2. ***Дефекти на шийката и средното парче:*** прегъната шийка, асиметрично свързване на средното парче в главичката, дебело, абнормално тънко, с неправилна форма в средната част или комбинация от тях;
3. ***Дефекти на опашката:*** множествени, тънки, къси, счупени, огънати, навити и опашки с неравномерна ширина;
4. ***Абнормални сперматозоиди с излишък от резидуална (остатъчна) цитоплазма:*** когато тя заема 1/3 или повече от размера на главичката, обикновено се съчетава с дефектна средна част. Тези сперматозоиди са резултат от дефектен процес на сперматогенезата.

2.2.9. Използваните референтни стойности в настоящото проучване са дадените в петото издание на СЗО от 2010 г. [296] (Таблица 8):

Таблица 8. Референтните стойности на СЗО от 2010 г.

Параметър	Долна референтна граница
Обем на спермата (мл)	1.5
Общ брой на сперматозоидите (10^6 /еякулата)	39
Концентрация на сперматозоидите (10^6 /мл)	15
Обща подвижност (PR + NP, %), прогресираща подвижност(PR), непрогресираща подвижност (NP)	40%
Прогресираща подвижност (PR, %)	32%
Жизненост (живи сперматозоиди, %)	58%
Морфология на сперматозоидите (нормални форми, %)	4%
Други консенсусни гранични стойности	
pH	≥7.2
Peroxidase-positive leukocytes (10^6 /мл) пероксидаза положителни левкоцити	<1.0

MAR (mixed agglutination reaction) Тест (подвижни сперматозоиди с вързани частици, %)	<50
Immunobead test (подвижни сперматозоиди с вързани мъниста, %) за детекция на антиспермални антитела	<50
Цинк (zinc) в спермата (μmol/ еякулата)	≥2.4
Фруктоза в спермата (μmol/еякулата)	≥13
Seminal neutral glucosidase (mU/еякулата)	≥20
Брой на белите кръвни клетки	≤1 x 10^6/1ml

2.2.10. Анализ на материала

Изследването на еякулата е необходимо, даже когато посткоиталният тест на Huhner е нормален. Методологията на изследването трябва да следва стриктни правила, определени от СЗО. Анализът се отнася едновременно както към елементите от фигурата (спермограма, спермоцитограма), така и за семенната плазма. На следващата таблица са представени: обем, концентрация, подвижност, морфолотия, жизненост на сперматозоидите (Таблица 9):

Таблица 9. Анализ на спермата

Обем	Hypospermia Hyperspermia Aspermia	Обем <1,5 ml Обем >6 ml Липса на еякулат
Концентрация	Polyzoospermia Olygozoospermia Cryptozoospermia Azoospermia	>200 x 10^6/ml <15 x 10^6/ml Рядко намиране на сперматозоиди Липса на сперматозоиди
Подвижност	Asthenozoospermia Akinetozoospermia	Подвижност PR <32% Липса на подвижни сперматозоиди
Морфология	Teratozoospermia	<4% типични форми
Жизненост	Necrozoospermia	<58% жизнеспособни сперматозоида

Предвид концентрацията, общия брой, подвижността, морфологията различаваме:

- нормоспермия – нормална концентрация, подвижност и морфология на сперматозоидите;

- аспермия - пълна липса на сперматозоиди и клетки на сперматогенеза;
- азооспермия - отсъствие на живи сперматозоиди, но наличие на клетки на сперматогенеза;
- некрозооспермия, акинозооспермия - наличие само на неподвижни сперматозоиди;
- астенозооспермия - намален брой на подвижните сперматозоиди;
- олигозооспермия - намалено количество сперматозоиди.

2.2.11. Статистически методи

Използвани са следните статистически методи:

А. Методи на описателната статистика

1. Вариационен анализ на количествени променливи – средна стойност, медиана, стандартно отклонение, минимум, максимум, размах.
2. Честотен анализ на качествени променливи (номинални и рангови), който включва абсолютни честоти, относителни честоти (в проценти), кумулативни относителни честоти (в проценти).
3. Графични изображения.

Б. Методи за проверка на хипотези

Непараметрични методи:

1. Методи на Колмогоров-Смирнов (Kolmogorov-Smirnov) и Шапиро-Уйлк (Shapiro-Wilk) – проверка за нормалност на разпределението на количествена променлива.
2. Метод хи-квадрат (Chi-square test) или точен тест на Фишер (Fisher's exact test) – търсене на връзка между две качествени променливи.
3. Рангов критерий на Уилкоксон (Wilcoxon Signed Ranks Test) – сравняване на две свързани (зависими) променливи (или една променлива, измерена в два момента от времето), за да се тества хипотезата, че двете променливи имат едно и също разпределение. Използва се, когато разпределението на променливите не е нормално.

4. Тест на Крускал-Уолис (Kruskal-Wallis Test) - сравняване на повече от две независими групи по отношение на характеристиките на количествена променлива, която няма нармално разпределение.
5. Тест на Мак-Немар (McNemar Test - нарича се тест на промяната). Този тест е приложим към таблица с равен брой редове и колони (зависими извадки) и освен това с едни и същи категории преди и след интервенцията. Промяната може да се проследи от таблицата Crosstabulation.

Използваното от нас критично ниво на значимост е $\alpha = 0.05$. Съответната нулева хипотеза се отхвърля, когато P стойността (P-value) е по-малка α.

За обработка на данните от проучването, свързано с дисертацията, беше използвана версията на SPSS – SPSS for Windows 13.0.

V. С О Б С Т В Е Н И Р Е З У Л Т А Т И

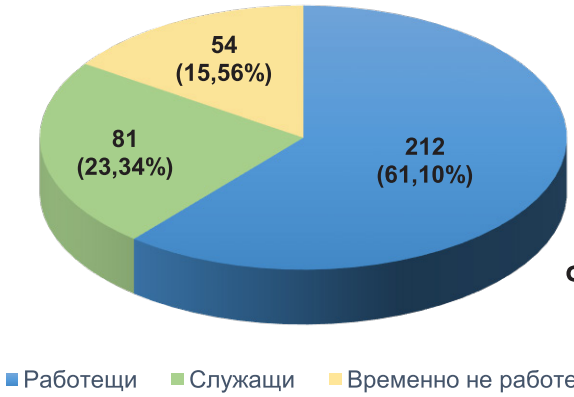
По литературни данни, при около 50% от безплодните двойки причината за инфертилитет е в мъжкия фактор. Мъжкото безплодие е състояние, обусловено от нарушения във функциите на репродуктивната сфера и се съпровожда от подтискане на герминативната и копулативна функция на мъжкия организъм.

Съществуват две основни форми на мъжкото безплодие - секреторна и обтурационна. При секреторната форма е нарушено образуването на сперматозоидите в извитите каналчета на тестисите или тяхното съзряване на ниво епидидими. При обтурационната има препятствие на техния път към излизането им от епидидимите през дуктус деференс към пикочния канал. Пораженията върху сперматогенния епител възникват при въздействието на различни външни фактори. Като такива могат да бъдат посочени инфекциозно-възпалителни заболявания, инфекции на гениталния тракт – сексуално трансмисивните хламидиални, гонорейни, трихомониални, микоплазмени, вирусни инфекции и др.; вродени или придобити заболявания на мъжката полова система. Обект на настоящето проучване са само полово предаваните инфекции, причинени от *Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, гениталните микоплазми и уреаплазми и Trichomonas vaginalis.*

1. Анамнеза

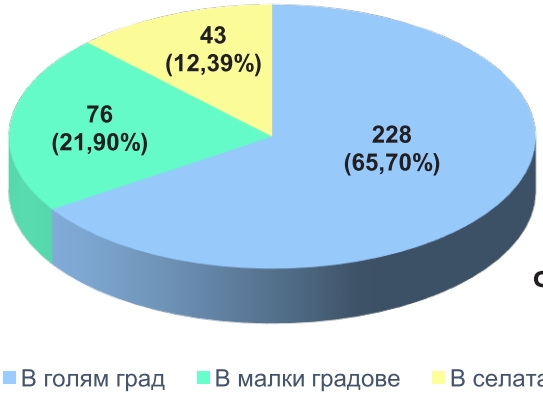
По данни от анамнезата установихме следните факти:

- Болшинството от респондентите – 288 пациенти (83%) не са имали анамнеза за безплодни бракове при родствениците.
- Постоянно приемащи по някакъв повод медикаменти са 46 (13,26%) от изследваните пациенти.
- Операции и травми на скротума са претърпяли 35 (10,09%) от пациентите.
- Анализът на социалния статус показва, че болшинството от пациентите са работещи 212 (61,10%), служещи са – 81 (23,34%), а временно неработещи - са 54 (15,56%) (фиг. 6).



Фиг. 6. Социален статус

В голям град живеят 228 (65,70%) от всички респонденти, в малки градове – 76 (21,90%) и останалите 43 (12,39%) в селата (фиг. 7).

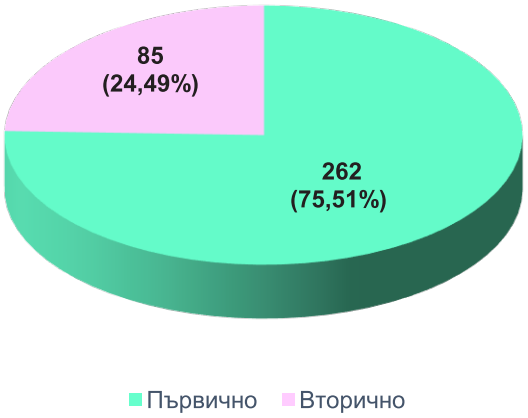


Фиг. 7. Местоживеене

- В среда с професионални вредности се намират 54 (15,56%) от респондентите.
- Непушачи са 85 (24,49%), а пушачи на повече от 2 кутии цигари на ден са 59 (17%) от пациентите.
- За употреба на наркотични вещества съобщават само 13 пациенти (3,74%).
- Най-голямо число 89 (25,65%) са имали първи полови контакти във възрастта от 16 до 18 години. В течение на годините само 38 (10,95%) са имали един партньор, а 19 (5,47%) съобщават за повече от 3 партньори.
- Много високо е числото на безразборните полови контакти 47 (13,54%).

Представените по-горе резултати позволяват да се характеризират социално-хигиенните характеристики на обследвания контингент като крайно неблагоприятни, а начинът на живот като нездравословен.

- При всички респонденти има диагноза безплодие: първично при 75,51% (262 пациенти), вторично при 24,49% (85 пациенти) (фиг. 8).



Фиг. 8. Вид безплодие

Период на безуспешни опити за забременяване има при 87 (25,07%) от пациентите и той е една година; при почти от половината той е между 1 и 3 години, при 37 (10,66%) е от 3 до 5 години.

Регулярни опити за забременяване предприемат 286 (82,42%) от респондентите, нерегулярни – 38 (10,95%).

2. Клинична симптоматика

Най-често срещаните **симптоми**, които карат пациентите да се обърнат към лекар андролог - уролог за преглед и консултация са:

- Появилата се болка в скротума – в единия или в двата тестиса,в единия или в двата епидидима, както и в перинеалната област – установена при 112 пациенти (32,28 %);
- Установена от пациента промяна в консистенцията и големината на един тестис, епидидим или и двата, едно- или двустранно – при 68 пациенти (19,60%);
- Наличието на изтичащ секрет от пикочния канал с различен цвят и консистенция – при 154 пациенти (44,38%);

- Установяване на обриви по главичката на члена и препуциума – при 22 пациенти (6,34%);
- Сутрешна мътна урина – при 34 пациенти (9,80%);
- Промяна в качеството и количеството на отделения еякулат – при 193 пациенти (55,62%);
- Наличие на хемоспермия – при 7 пациенти (2,02%) (Фиг. 9).



Фиг. 9. Клинична картина на съответните заболявания, причинени от

Последователно ще бъде представен всеки един от причинителите, локалните поражения в половите органи на мъжа и клиничната им картина.

Гонорея

Гонококите поразяват само местата, където има *цилиндричен епител, т.е. уретрата*, но могат да причинят възпалителни процеси и в многослойния плосък епител при млади момичета и възрастни жени.

Гонококите могат да преживяват в други клетки, например левкоцити, трихомони.

Клинична картина на гонококция у мъжете

Най-често предизвикват:

- остър уретрит
- хроничен уретрит

Острият уретрит започва с леко парене или сърбеж на външния уретрален отвор, като след едно денонощие се забелязва еритем и оток на меатуса. От уретрата започва да изтича обилно гнойно съдържимо (жълто-зеленикав или зеленикав гноен ексудат), придружено от болки в пикочния канал, засилващи се при уриниране и ерекция.

Преминаването в *хронична форма* в едни случаи става рано, в други по-късно, обикновено след 1-2 месеца. Субективните оплаквания могат да варират в широк диапазон, а дори да отсъстват дълго време. Най-често се явяват леки сърбежи и парене по пикочния канал, особено след употреба на алкохол, консумиране на пикантни храни, механични дразнения, полови ексцесии и др.

Хламидиаза

Относително дългият инкубационен период и асимптоматичното носителство са причина за големия брой контаминации.Особено рискова е групата на младежите с множествени безразборни полови контакти и на тези с гонококция.

Съществуването на различни хламидиални щамове показват тропизъм към различни видове клетки. C. trachomatis има афинитет към клетките на *лигавичния епител*, което определя развитието на различни, но ограничени по площ патологични поражения (уретрит, простатит и др.). C. trachomatis се изолира в различен процент според срещаните в литературата автори (30-60%), а асимптоматичното носителство е при около 20% при мъжете. При хроничните инфекции се наблюдава продължително персистиране на хламидиалните телца в инфектираните клетки, без да се размножават и проявяват клинично.

По време на острата инфекция настъпва огнищна възпалителна реакция с наличието на неутрофили и полиморфнонуклеарни левкоцини, докато в подострите и хронични етапи се откриват главно лимфоцити, плазматични клетки, еозинофили и макрофаги. Хистоморфологичните проучвания показват наличието на лимфоидни фоликули в субмукозата.

<u>Клинична картина на хламидиаза у мъжете</u>

При мъжа най-срещаните симптоми при наличие на хламидия включват:

- често уриниране, понякога придружено от слузесто-гнойно болезнено секретиране;
- сутрешни появи на стъклен секрет от уретрата, като първата урина може да бъде мътна;

- хламидийният уретрит е съпроводен с незначителна болка и сърбеж в пикочния канал;
- хламидийният простатит може да предизвика сърбеж и парене при уриниране;
- поява на кръв в урината или в еякулата;
- болка, трудности при уриниране, нарушена потенция, понякога дори повишаване на телесната температура.

Най-чесата изява е развитието на подостър уретрит. Манифестира се със слаба секреция, проявяваща се сутрин, като почти винаги е съпроводена от болка, парене и дразнене в канала. В близо 15% при мъжете клиниката се проявява само с болка без секретиране от канала.

Асимптоматичното носителство се установява в 15-20% от инфектираните мъже.

Най-честите усложнения от хламидиална инфекция са развитието на:

- епидидимит и орхиепидидимит
- простатит
- баланит
- уретрит

Микоплазмоза

От всички видове микоплазми, патогенни за човека са само четири вида: M. pneumonie, M. hominis, M. genitalium, Ureaplasma urealyticum.

Установени са няколко механизма, обясняващи патогенността на микоплазмите:

- адхезия върху клетките на HeLa и сперматозоидите
- ензимна активност – отделят уреаза, IgA-протеаза, фосфолипаза, разграждаща клетъчната мембрана на клетките.

<u>Клинична картина на микоплазмоза у мъжете</u>

Клиничните прояви са под формата на подостър простатит. Персистирането на микоплазмите в уретрата в някои случаи довежда до развитието на простатит, простато-везикулит, епидидимит.

Трихомоназа (Трихомониаза)

Познанието за трихомоните като причинители на заболяване датира от 1836 година, когато Donne ги открива в генитален секрет от жени. Jirovec и съавт.

(1958) установяват видовата самостоятелност на урогениталната трихомоназа, различните серотипове и щамове, които притежават и различна патогенност.

По данни от различни проучвания трихомоназата се среща най-често в полово активната възраст между 16 и 30 годишни младежи.

Клинична картина на трихомоназа у мъжете

Инкубационният период е средно 10 дни (3-30), като не се придобива имунитет. Клиничната картина се представя с изтичане на оскъдно количество воднисто, слизесто, слизесто-гнойно, а понякога пенесто съдържимо. Лекото парене по канала и незначителните дизурични разстройства невинаги притесняват мъжете. Трихомоназата може да протече без оплакавния – това са случаите на носителство на трихомони.

Като усложнение от заболяването е развиването на простатит и епидидимит. При съществуване на фертилитетни проблеми и насочено търсене на причинители за състоянието на нарушения в спермограмата могат да бъдат установени трихомоните.

От прегледаните **1372 пациенти** за срок от 3 години (2010 - 2013 г.) при **347 пациенти** има изолирани причинители от уретралния секрет и от еякулата. Общият им брой представлява **25,29%** от всички прегледани пациенти (Таблица 10).

Таблица 10. Разпределение на прегледаните пациенти и пациентите с инфекции на половите органи за периода 2010 - 2013 г.

Година	2010	2011	2012	2013	Общо
Брой прегледани пациенти	147	456	487	282	1372
Брой пациенти с изолирани причинители	23	140	141	43	347
Пациентите с изолирани причинители в % от прегледаните пациенти	15,65	30,7	28,95	15,23	25,29

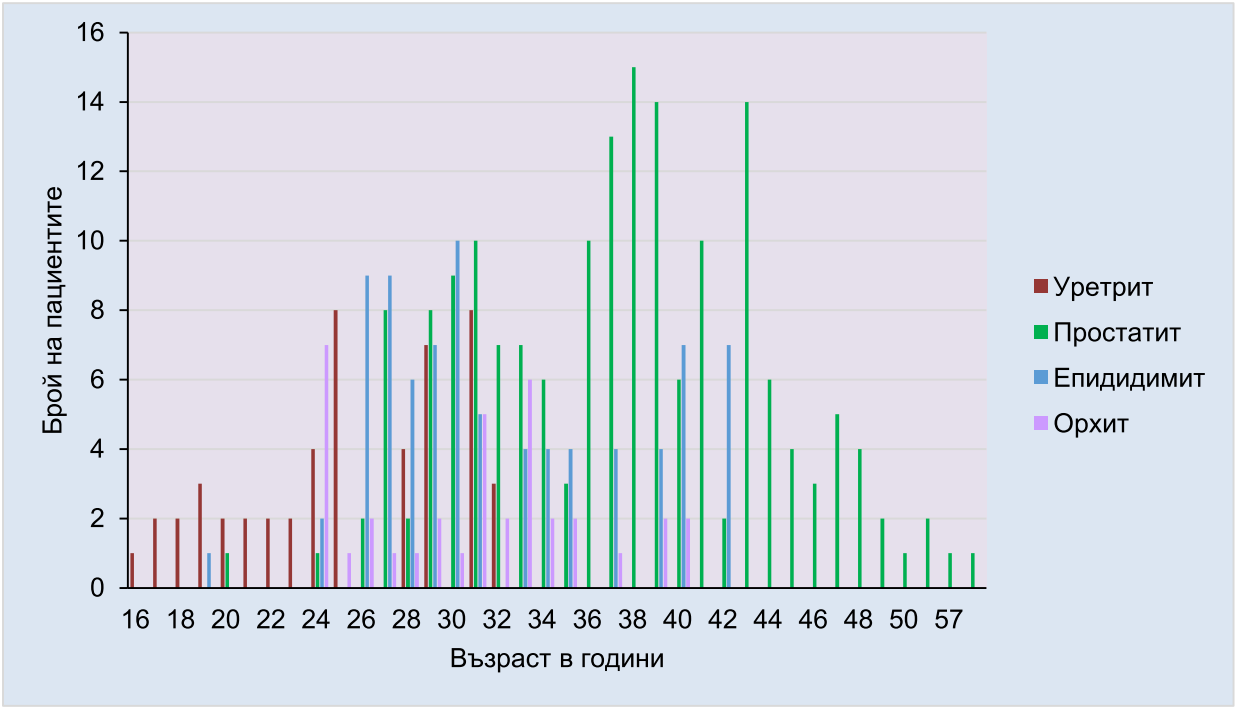
На фигура 10 са представени пациентите по възраст, от която се установява, че най-висок е броят на инфертилните пациенти във възрастта между 24- и 43- годишна възраст.

Кумулативният процент показва, че 82,1% от пациентите са на възраст до 40 г. и 45,2% са до 31 г. (Приложение 1).



Фиг. 10. Разпределение на пациентите по възраст.

Разпределението на пациентите по диагнози е представено на фигура 11.

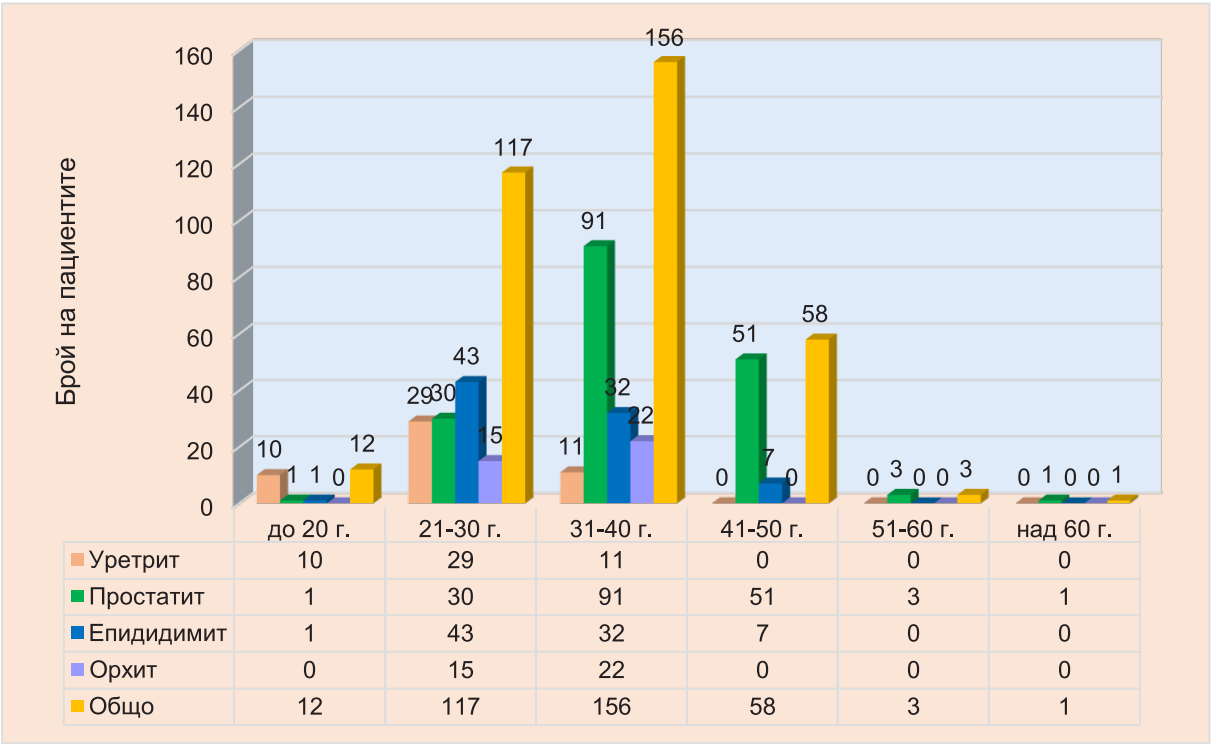


Фиг. 11. Разпределение на пациентите по диагнози

На Таблица 11. са представени данни от статистическия анализ на възрастовите групи и диагнозите в брой и проценти. Данните са представени и на фигура 12.

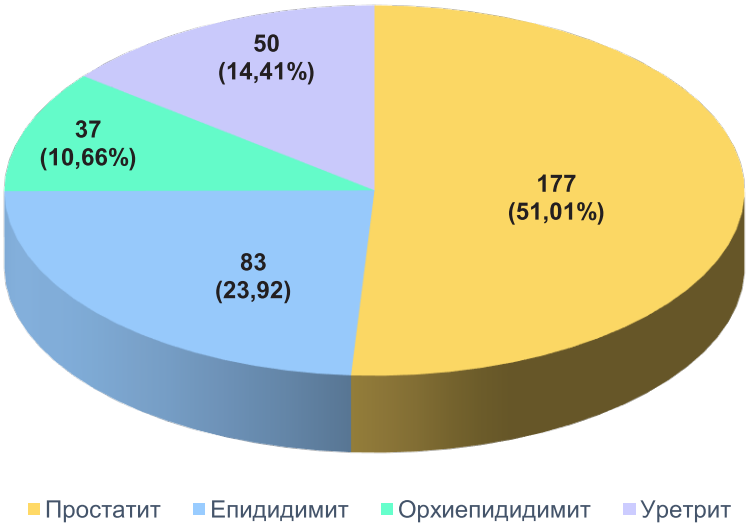
Табл. 11. **Разпределение на пациентите по възрастови групи и заболявания**

Диагноза	Възрастови групи - години						**Общо**
	до 20 г.	21-30 г.	31-40 г.	41-50 г.	51-60 г.	над 60 г.	
Уретрит	10	29	11	0	0	0	**50**
Простатит	1	30	91	51	3	1	**177**
Епидидимит	1	43	32	7	0	0	**83**
Орхит	0	15	22	0	0	0	**37**
Общо	**12** (3,46%)	**117** (33,72%)	**156** (44,96%)	**58** (16,71%)	**3** (0,86%)	**1** (0,29%)	**347 (100,00%)**



Фиг 12. **Разпределение на пациентите по възрастови групи и заболявания**

Честотното разпределение на пациентите по диагнози е представено на фиг. 13.



Фиг. 13. Честотно разпределение на инфертилните пациенти, прекарали ППИ по диагнози

Болните с диагноза **уретрит** имат статистически значимо по-малка средна възраст (25,40 г.) в сравнение със средните възрасти на хората от останалите три диагнози. Болните с диагноза **простатит** имат статистически значимо по-голяма средна възраст (37,40 г.) в сравнение със средните възрасти на хората с другите диагнози. За **епидидимита** средната възраст е 32,00 г., а за **орхиепидидимита** е 31,00 г. За **всички пациенти** тази стойност е 33,67 г. (Таблица 12).

Таблица 12. Статистически данни за възрастта на пациентите - общо и по диагноза

Diagnosis	N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Range	Std. Deviation
Уретрит	50	25,40	25,00	16	32	16	4,742
Простатит	177	37,40	38,00	20	63	43	6,730
Епидидимит	83	32,00	30,00	19	42	23	5,577
Орхиепидидимит	37	30,76	31,00	24	40	16	4,896
Общо	347	**33,67**	33,00	16	63	47	7,394

Стратегия за диагностика

Въпреки че лабораторната диагностика е по-точен начин да се идентифицират полово-предаваните инфекции, това е невъзможно в много части на света.

На много места клиницистите често диагностицират и лекуват според опита, който притежават чрез използването на обикновена микроскопия или лабораторни тестове, когато са налични и достъпни. Използваните схеми за лечение невинаги са най-модерни, нито най-ефективни.

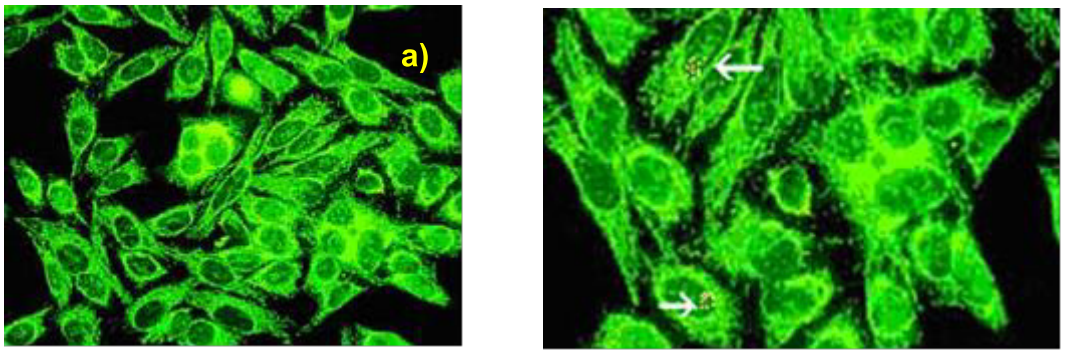
Стратегията има редица предимства, особено когато се използва за симптоматични инфекции при мъжете. Все пак, недостатъците също съществуват и управлението на тези инфекции не е в състояние да реагира мощно срещу сериозен и широко разпространен проблем, какъвто е асимптоматичната инфекция. Много често тези инфекции се откриват поради търсене на причините за инфертилитет.

3. Резултати от микробиологичните изследвания

При откриване на бактерии или левкоцити в хода на анализа на спермата, а също при съмнение за възпалителен процес в половите органи трябва да се извърши бактериологично изследване на еякулата. За тази цел прясно взетият еякулат веднага се нанася върху съответните хранителни среди и се правят куртурелни изследвания. Изключително необходимо е да се направят многократни бактериологични изследвания на еякулата, когато има подозрения за хламидийна, микоплазменна, гонококова и вирусна инфекция или туберкулоза на половите органи.

C. trachomatis инфекцията е изследвана чрез култивиране на материалите на пациентите в чувствителна клетъчна линия McCoy с последваща имунофлуоресценция. **Клетъчно-културелният метод** е приет за „златен стандарт" в диагностиката на *C. trachomatis* инфекциите. Той, обаче, е трудоемък, изисква специална апаратура и добре обучен персонал, както и няколко дни (минимум четири) за реализиране на процедурата по диагностика.

Културирането върху клетъчна линия McCoy (Фиг. 14а и б) на клинични материали за доказване на *C. trachomatis* бе извършено на **163 материала**. С метода на културиране и имунофлуоресценция с моноклонално антитяло 202D7 бяха доказани хламидиални инфекции при 38 (23,31%) мъже.



Фиг. 14. Културелен метод за доказване *C. trachomatis*:

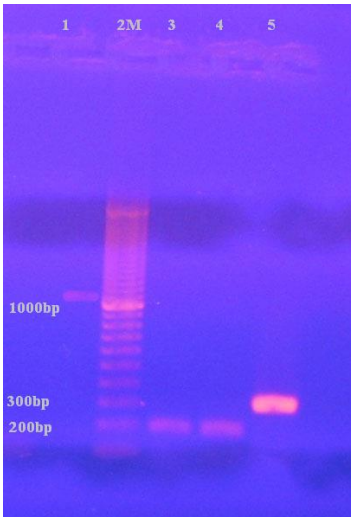
а) Имунофлуоресценция на клетъчна линия McCoy;

б)Имунофлуоресценция на инклузионни телца на *C. trachomatis,* изолирани

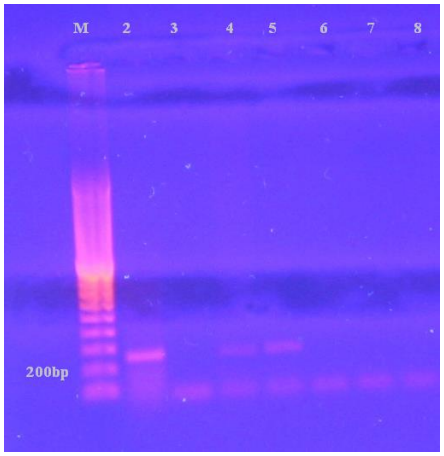
Вторият метод, използван за доказване на *C. trachomatis* е **PCR** и бе проведен на **309 клинични материали.**

Всички **347 ДНК екстракти** от клиничните материали бяха подложени на **амплификация** поотделно за всеки от петте микроорганизма - *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *U. urealyticum*, *M. genitalium* и *M. hominis*.

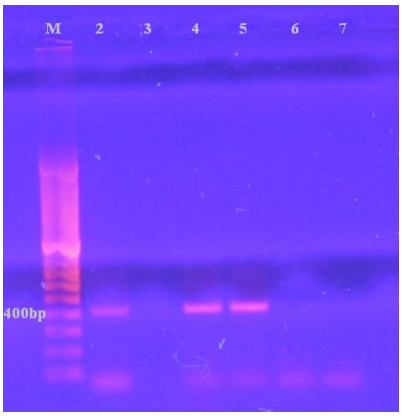
Резултатите и продуктите на амплификацията *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *U. Urealyiticum*, *M. genitalium*, *M. hominis*, *T. Vaginalis,* доказване на β-глобин и доказване на коинфекции чрез мултиплекс PCR метод. са представени на Фигури 15 – 22:



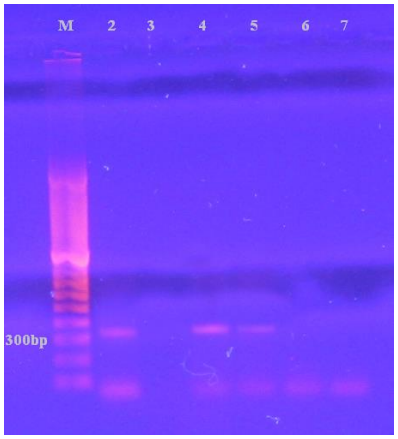
Фиг. 15. Агарозна гел-електрофореза на PCR-продукти за доказване на *C. trachomatis* в клиничен материал. Позиции:
1 - фрагмент с дължина 1100bp (продукт на праймерите OMP2 и P1); 2 - 100bp Ladder; 3 - фрагмент с дължина 200bp (продукт на праймерите T1 и T2); 4 - фрагмент с дължина 200bp (продукт на праймерите OrfF и OrfR); 5 - фрагмент с дължина 330bp (продукт на праймери от кит *C. trachomatis*, Sacace Biotechnologies,



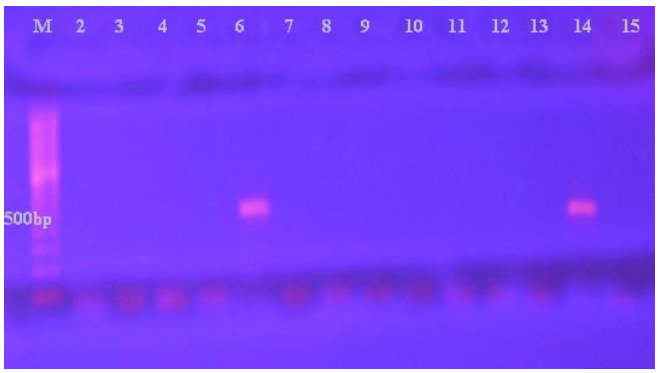
Фиг. 16. Агарозна гел-електрофореза на PCR-продукти за доказване на *N. gonorrhoeae* в клинични материали. Позиции: 1 - 100bp Ladder; 2 - положителна контрола с фрагмент с дължина 281bp; 3 - отрицателна контрола; 4 и 5 - положителен клиничен материал; 6, 7 и 8 - положителен клиничен материал.



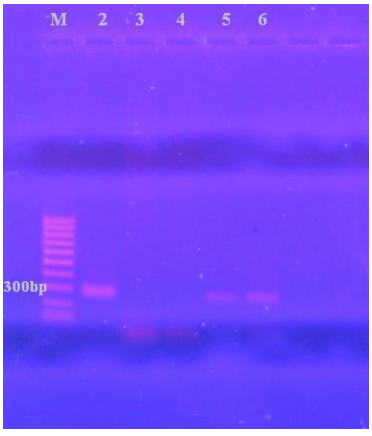
Фиг. 17. Агарозна гел-електрофореза на PCR-продукти за доказване на *U. urealyticum* в клинични материали. Позиции: 1 - 100bp Ladder; 2 - положителна контрола с фрагмент с дължина 423bp; 3 - отрицателна контрола; 4 - положителен клиничен материал; 5 - положителен клиничен материал.



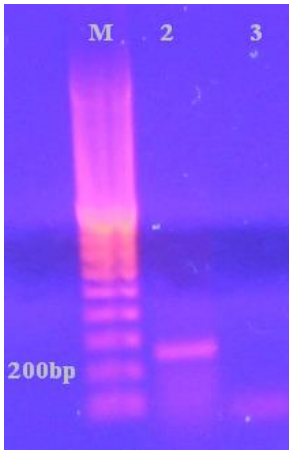
Фиг. 18. Агарозна гел-електрофореза на PCR-продукти за доказване на *M.* *genitalium* в клинични материали. Позиции: 1 - 100bp Ladder; 2 - положителна контрола с фрагмент с дължина 346bp; 3- отрицателна контрола; 4 - положителен клиничен материал; 5 - положителен клиничен материал.



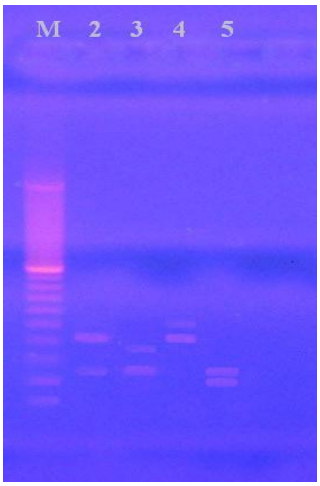
Фиг. 19. Агарозна гел-електрофореза на PCR-продукти за доказване на *M. hominis* в клинични материали. Позиции: 1 - 100bp Ladder; 2 - 5; 8 - 13; 15 - отрицателни клинични материали; 6 - положителна контрола с фрагмент с дължина 510bp; 7 - отрицателна контрола; 14 - положителен клиничен материал.



Фиг. 20. Агарозна гел-електрофореза на PCR-продукти за доказване на *T. vaginalis* в клинични материали. Позиции: 1 - 100bp Ladder; 2 - положителна контрола с фрагмент с дължина 300bp; 3 - отрицателна контрола; 4 - отрицателен клиничен материал; 5 - положителен клиничен материал.



Фиг. 21. Агарозна гел-електрофореза на PCR-продукти за доказване на β-глобин. Позиции: 1 - 100bp Ladder; 2 - положителна контрола с фрагмент с дължина 210bp; 3 - отрицателна контрола.



Фиг. 22. Агарозна гел-електрофореза на PCR-продукти от клинични материали за доказване на коинфекции чрез мултиплекс PCR метод . Позиции: 1 - 100bp Ladder; 2 - продукти с размер, отговарящи на *N. gonorrhoeae* и *U. urealyticum*; 3 - продукти с размер, отговарящи на *N. gonorrhoeae* и *M. genitalium* ; 4 - продукти с размер, отговарящи на *U. urealyticum* и *M. hominis*; 5 - продукти с размер, отговарящи на *N. gonorrhoeae* и *C. trachomatis*.

Откритите микроорганизми при инфертилните 347 и прегледаните **1372** пациенти в андрологичен кабинет са представени в брой и процент в таблица 13.

Таблица 13. Честота на микроорганизмите при пациентите преди лечението:

Видове микроорганими	Брой	Процент от инфертилните пациенти - 347	Процент от всички прегледани пациенти - 1372
N. gonorrhoeae	*21*	6,05%	1,53 %
C. trahomatis	*82*	23,63%	5,98 %
U. urealyticum	*79*	22,77%	5,76 %
M. hominis	*64*	18,44%	4,66 %
M. genitalium	*31*	8,93%	2,26 %
T. vaginalis	*86*	24,78%	6,27 %
Комбинации	*16*	4,61%	1,17 %

От получените резултати е видно, че най-често изолираният микроорганизъм е *T. vaginalis,* следван от *C. trachomatis, U. urealyticum* и др.

От 347 изследвани клинични материала при 16 беше доказана ко-инфекция и въз основа на резултати от **PCR** методиката (Фиг. 23) и Приложение 2.

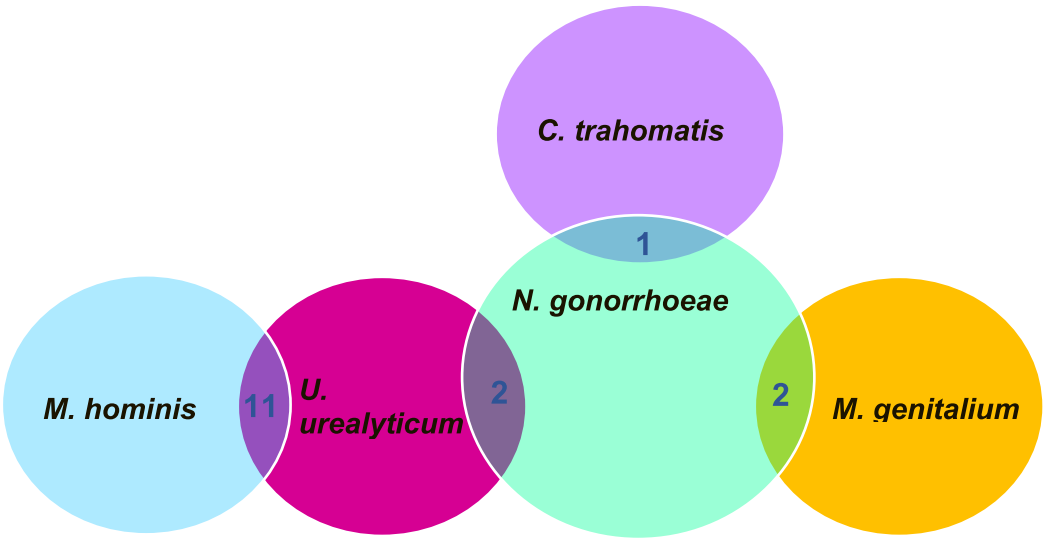
Комбинациите от коинфекции бяха, както следва:

1) ***N. gonorrhoeae* и *M. genitalium*** – в 2 уретрални секрета;

2) ***N. gonorrhoeae* и *U. urealyticum*** – в 2 уретрални секрета;

3) ***U. urealyticum* и *M. hominis*** – в 11 уретрални секрета;

4) ***N. gonorrhoeae* и *C. trachomatis*** – в 1 уретрален секрет.



Фиг. 23. Доказани варианти и количество на коинфекции, установени в изследваните 347 клинични материала.

Доказването на повече от един причинител в клиничен материал бе осъществено чрез моно- и мултиплекс PCR, като разлика в резултатите чрез единия и другия метод не бе установена.

4. Резултати от сперматологичните изследвания

Сперматозоидът се определя като мъжка полова клетка, високо диференцирана, със сложна вътреклетъчна структура, при това със собствена кинетика. Той притежава строго определена специфичност и при достигане на съответна зрелост може да осъществява сливане и оплождане на яйцеклетката, като при този процес доставя генетичния материал.

Анализът на спермата е сложно, дълго и скъпоструващо лабораторно изследване и се извършва в няколко последователни етапа:

1. Макроскопска оценка;

2. Микроскопско изследване;

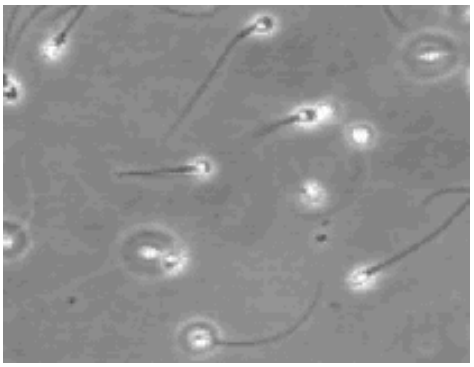
3. Имунологично изследване;

4. Биохимично изследване;

5. Бактериологично изследване и ПЦР.

Нормално зрелите сперматозоиди на човека имат плоска овална главичка с добре различима акрозома, която заема 40-70% от площта на главичката (Фиг. 24).

В някои случаи главичката може да бъде леко заострена в постакрозомната част. Дължината на главичката на сперматозоида достига 3-5 мкм, а дебелината ѝ - 2-3 мкм. Средният отдел на флагелума е гладкък, неговата дължина на оста съвпада с тази на главичката на сперматозоида, дебелината му е по-малка от 1 мкм, дължината е около 1,5 пъти по-голяма от дължината на главичката. В средната част на флагелума се вижда цитоплазмена капчица, размерът на която не бива да надвишава половината от площта на главичката. Основната част на флагела е с еднаква дебелина, като по средата е леко стеснена. Флагелумът не трябва да е усукан, дължината му е около 45 мкм. Точно този тип сперматозоиди съставят голямата част от клетъчната популация, която се открива в горните отдели на шийката на матката след коитуса, т.е. именно тези сперматозоиди преминават през редица функционални презиготически филтри и са способни за оплождане.



Фиг. 24 Сперматозоиди

Качествени изменения в спермалната течност при патология:

1. **Астенозооспермия** - намаляване относителната концентрация на активно подвижните сперматозоиди. ВОЗ определя астенозооспермията като намаляване на относителната концентрация на сперматозоидите с активни постъпателни движения в продължение на 60 минути след еякулацията (категории а + б) – по-ниска от 50%.

2. **Тератозооospермия** – повишаване на относителната концентрация на сперматозоидите с неправилна морфология – по-висока от 60%.

3. **Некрозооспермия –** количеството на сперматозоидите в еякулата е в норма, но значителна част от тях или всички са нежизнеспособни и неподвижни.

Богата информация за функционалното, патофизиологично и органно състояние на гениталния тракт при мъжа дават физико-химичните, качествени и количествени характеристики на еякулата.

Проведените сперматологични изследвания на еякулатите от пациентите с ППИ и инфертилитет включват следните параметри:

- физико-химична оценка на семенната течност (обем на еякулата, цвят, pH, време за втечняване, вискозитет
- жизненост (виталитет),
- концентрация и подвижност на сперматозоидите.

Поради обстоятелството, че един и същи причинител може да доведе до развитието на възпалителен процес в два различни или повече органа (например хламидиите могат да предизвикат при някои пациенти уретрит, при други простатит, или орхиепидидимит) сперматологичните изследвания и промените ще бъдат интерпретирани чрез съответното заболяване (простатит или орхиепидидимит и др.).

Това проучване се извършва с цел *да се определи кинетичната взаимовръзка между физико-химичните характеристики на еякулата, патологията на мъжкия репродуктивен тракт и оплодителната способност на половите клетки.* Представените данни са при случаи със запазен или частично съхранен фертилитет. Пациенти с липса на зрели полови клетки в еякулата (азооспермия) не са обект на проучване в настоящия труд.

Спермата е смес от отделените по време на еякулацията продукти от мъжките полови органи: тестисите, простатната жлеза, семенните мехури, куперовите жлези и уретрата. Спермата на зрелия мъж представлява лепкава слузоподобна нееднородна течност с характерна миризма на суров кестен и непрозрачнен белезникаво-сив цвят. В течение на 20 - 30 минути спермата се втечнява, става хомогенна и лепкава.

Обем на еякулата

По критериите на СЗО е известно, че средната стойност на отделения еякулат е 2 – 6 мл, като рядко може да достигне стойности до 10 мл.

Установихме, че при 31 (17,51%) пациенти от има отделен еякулат в обем, по-малък от 1,5 мл. Всички те бяха с диагноза хроничен простатит.

pH

Данните за параметъра pH на спермата са представени в Таблица 5 по групи нозологични единици в брой. При 140 (79,1%) от пациентите с простатит се откри pH в стойности към горните граници - между 7.8 и 8.0. От пациентите с простатит със стойност над границата pH 8.0 са 12 (6,78%) ; 9 имат pH 8.1 и по 4 пациенти са с pH 8.2 и pH 8.3.

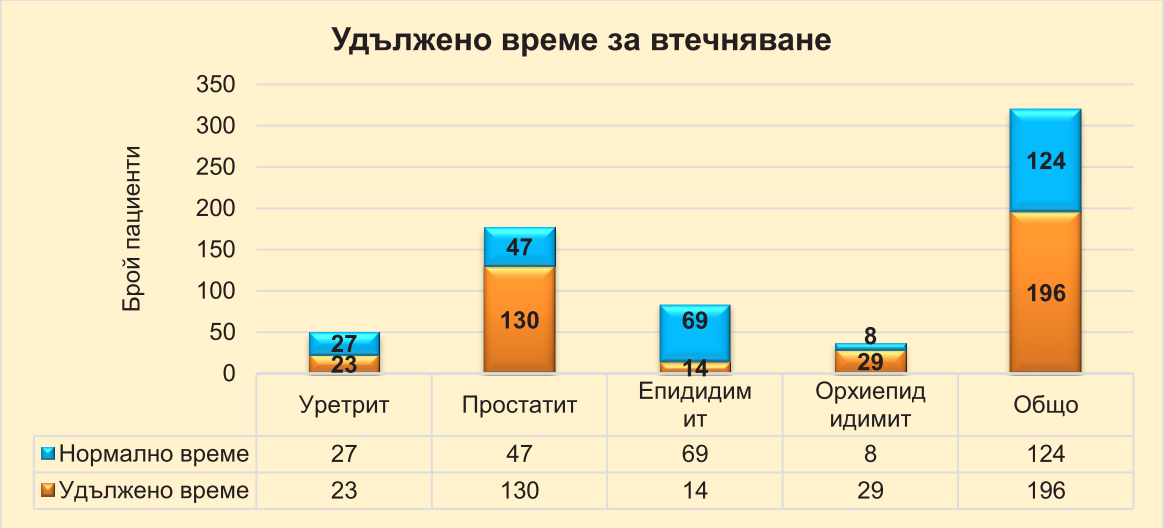
При пациентите с епидидимит се откри pH между 7.8 и 8.0 при 39 (47%), а с pH над 8.0 при 4 пациенти (4,82%) (Таблица 14).

Таблица 14. pH на спермата по диагноза

pH	Простатит	Епидидимит	Уретрит	Орхиепидидимит	ОБЩО
7.2	2	1	0	0	3
7.3	1	11	3	1	16
7.4	4	15	5	5	29
7.5	3	8	6	4	21
7.6	9	3	6	4	22
7.7	6	1	7	4	18
7.8	49	15	14	6	84
7.9	18	6	7	4	35
8	73	18	2	9	102
8.1	6	3	0	0	9
8.2	3	1	0	0	4
8.3	3	1	0	0	4
ОБЩО	177	83	50	37	347

Време за втечняване

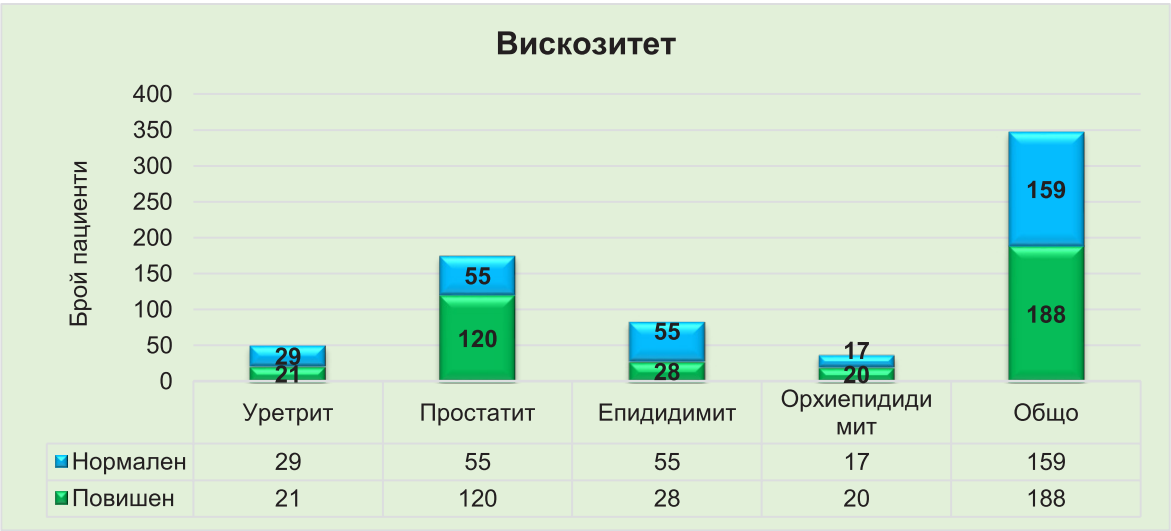
Времето за втечняване на еякулата над 60 минути е удължено при 196 (56,48%) пациенти. От тях 130 (73,45%) са пациенти с простатит, 23 (46,00%) са с уретрит, 29 (78,38%) са с орхиепидидимит и 14 (16,87%) са с епидидимит. Това е отразено на фигура 25:



Фиг. 25. Време за втечняване на еякулата

Вискозитет

Повишен вискозитет има при 188 (54,18%) пациенти, като 120 (67,8%) от тях са с диагнозата е простатит, при 28 (33,73%) пациенти – с епидидимит, а при 21 (42,00%) - уретрит. Тези данни говорят за възпалителното състояние на определени органи при наличието на инфекциозни причинители, каквито са ППИ. При останалите пациенти вискозитетът е в нормални граници фигура 26.



Фиг. 26. Вискозитет

Виталитет

Пациенти с живи сперматозоиди под нормата (референтната стойност на СЗО е 58%) са 76 (21,90%). Сред тях 14 (7,9%) пациенти са от групата с простатит, към групата на епидидимита са 52 (62,65%) пациенти и към групата на орхиепидидимита – 10 пациенти (27,03%).

Мотилитет

Подвижността е най-характерното свойство на сперматозоида и заедно с морфологията и концентрацията на сперматозоидите се явява един от основните критерии за определяне фертилния потенциал на мъжа. Тя се осъществява с помощта на равномерни удари на опашката чрез завъртане около собствената им ос по посока на чаовниковата стрелка. Продължителността на съществуването на сперматозоида във влагалището достига до 2,5 часа, в шийката на матката 48 часа и повече. Сперматозоидът се движи до срещата с яйцеклетката със скорост 3 мм/мин. В спермограмата на здравия мъж наред с нормалните се срещат и патологични форми на сперматозоиди, но не повече 20 - 25%.

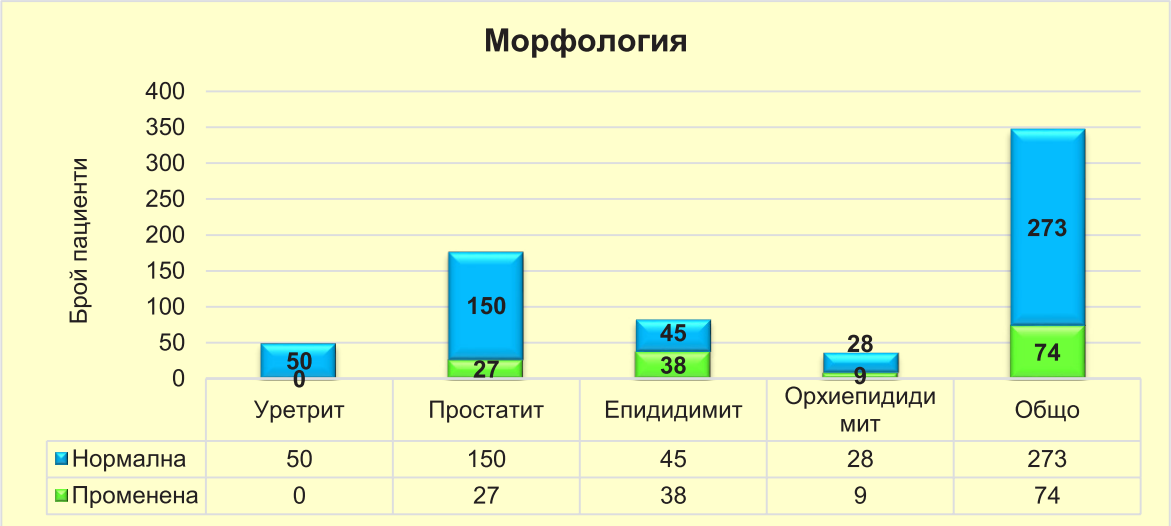
Прогресивно подвижни (PR) сперматозоиди под референтната стойност на СЗО от 32% се установиха при 241 (69,45%) пациенти, като най-голям дял се пада на пациентите с простатит – 133 (75,14%), при уретрита са 18 (36,00%), при епидидимита са 62 (74,7%). От пациентите с орхиепидидимит 28 (75,68%) са под границата за PR.

Морфология

При проучвания контингент пациенти не се откриха данни за тератозооспермия (референтна стойност на СЗО са 4% живи сперматозоиди).

Най-висок процент променена морфология на сперматозоидите се пада на пациентите с епидидимит – при 38 (45,78%) пациенти, следван от този при простатит - 27 (15,25%) от пациентите и при орхиепидидимит - 9 (24,32%). При пациентите, прекарали само уретрит, не установихме промяна в морфологията на сперматозоидите, а само във вида на изтичащия от канала секрет.

Тези резултати са отразени на фиг. 27:



Фиг. 27. Морфология на сперматозоидите

В проведените спермограми се наблюдава едно разнообразие от сперматозоиди с абнормални форми (фиг. 28).

фиг. 28 Абнормалнини форми на сперматозоиди:

а - пречупена шийка,

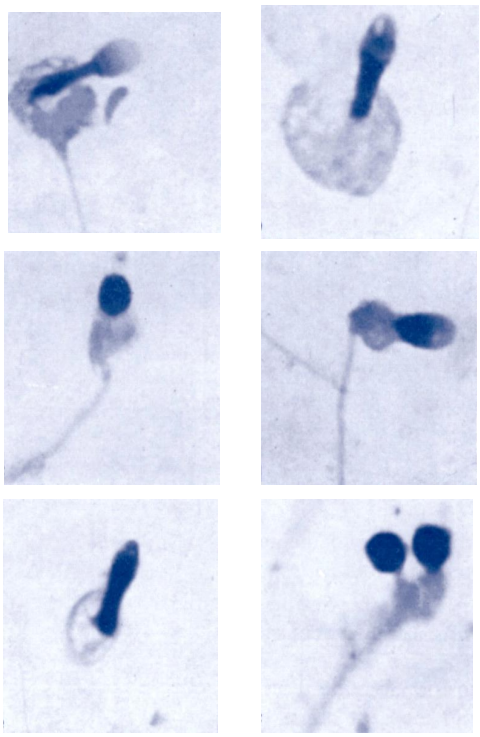
б - с цитоплазматичен остатък,

в - тип карфица,

г - пречупена шийка,

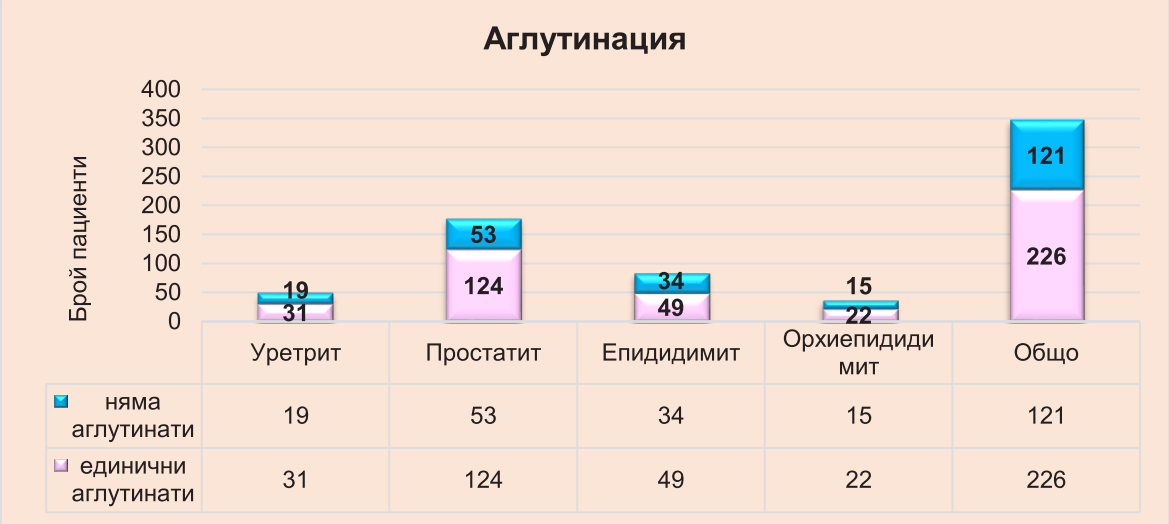
д - tapering form,

е - двуглав сперматозоид.



Аглутинация

Единични аглутинати се наблюдават при 226 (65,12%) пациенти. Такива са открити при 124 (70,06%) от пациентите с простатит, при 49 (59,04%) от пациентите с епидидимит, с уретрит при 31(62%), с орхиепидидимит те са 22 (59,46%) пациенти (Фигура 29).

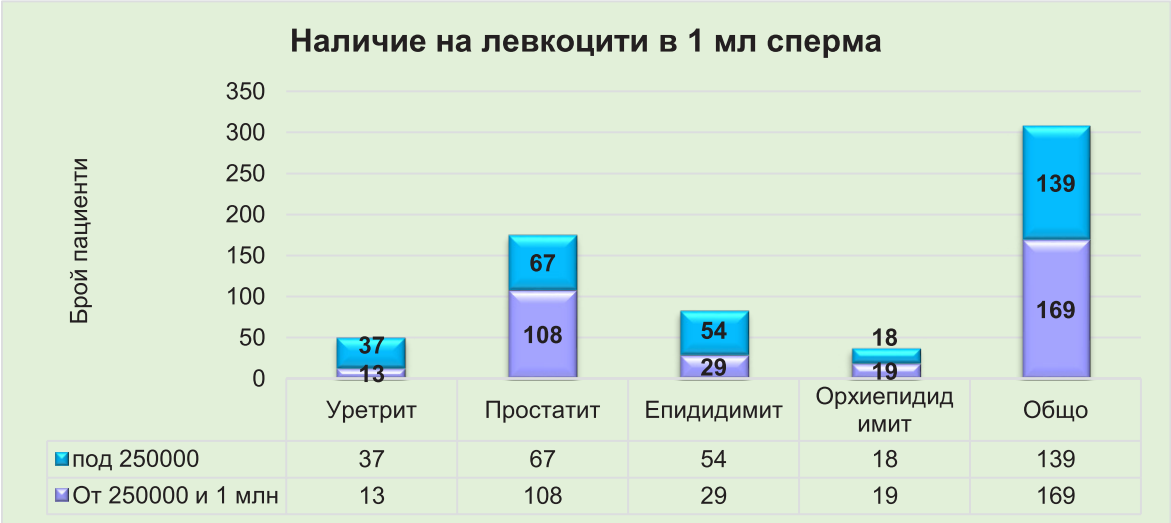


	Уретрит	Простатит	Епидидимит	Орхиепидидимит	Общо
няма аглутинати	19	53	34	15	121
единични аглутинати	31	124	49	22	226

Фиг. 29. Аглутинация

Наличие на левкоцити

Левкоцити между 250000 и 1 млн/мл са открити при 169 (48,7%) от всички пациенти. Това включва 108 (61,02%) от пациентите с простатит. Такава картина се наблюдава също при 29 (34,92%) от пациентите с епидидимит. При пациентите с орхиепидидимит те са 19 (51,35%)и при пациентите с уретрит - 13 (26%) фиг. 30.



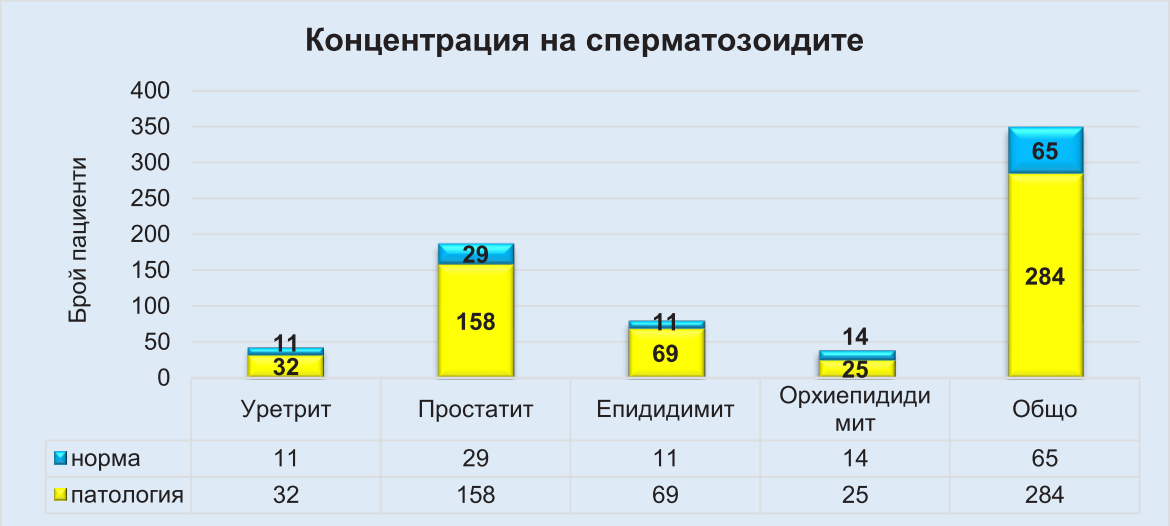
	Уретрит	Простатит	Епидидимит	Орхиепидидимит	Общо
под 250000	37	67	54	18	139
От 250000 и 1 млн	13	108	29	19	169

Фиг. 30. Наличие на левкоцити в 1 мл сперма

Концентрация на сперматозоидите

От фигура 31 е видно, че 284 (81,84%) от пациентите имат сперматозоиди под 15 млн/мл еякулат (олигозооспермия). Тази патология в концентрацията открихме при 158 (89,27%) от пациентите с простатит. При пациентите с епидидимит тази патология се установи при 69 (83,13%) от пациентите.

При преболедувалите с орхиепидидимит това нарушение се открива при 25 (67,57%) пациенти и при прекарали уретрит - 32 (64,00%) пациенти фиг. 31.

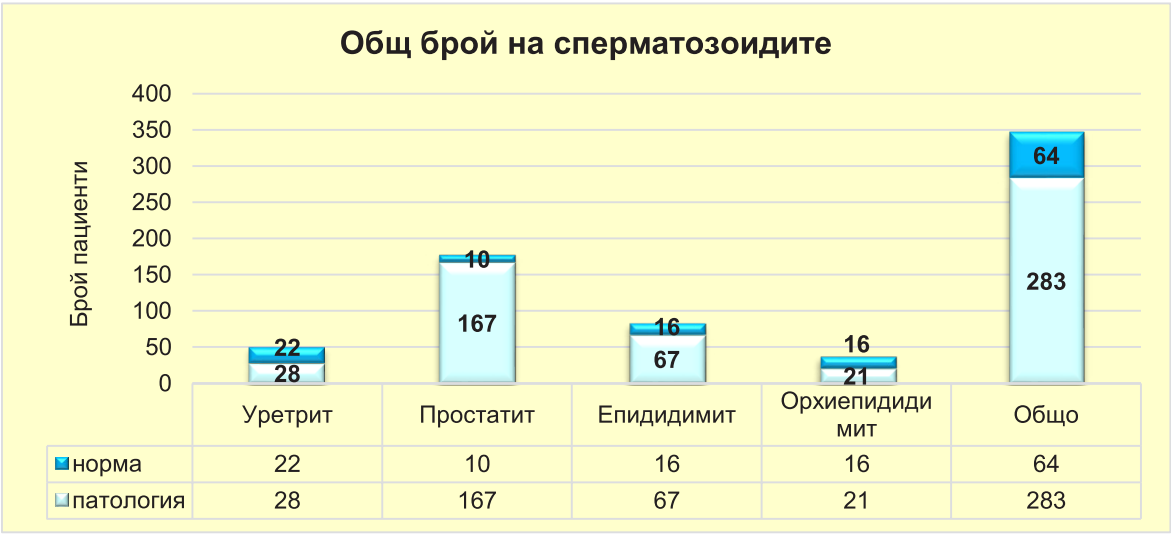


Фиг. 31 Концентрация на сперматозоидите

Общ брой на сперматозоидите

Общ брой на сперматозоиди под 39 млн в еякулата (олигозооспермия) открихме при 283 (81,56%) от пациентите. Останалите 64 (18,44%) пациенти имат общ брой сперматозоиди в границите на нормата.

Такава патология установихме при 167 (94,35%) от пациентите с простатит, при 67 (80.72%) от пациентите с епидидимит, при 21 (56,76%) са прекаралите орхиепидидимит и при 28 (56,00%) прекаралите уретрит фиг. 32.



Фиг. 32 Общ брой на сперматозоидите

5. Анализ на резултатите преди лечение

Установяват се следните статистически значими зависимости между микроорганизмите и някои параметри на спермограмата:

N. gonorrhoeae оказва **статистически значимо** влияние върху параметрите морфология (P=0,011) и общия брой на сперматозоидите (P=0,036) в популацията, от която е направена извадката.

C. trahomatis оказва **статистически значимо** влияние върху параметъра втечняване (P=0,007) в популацията, от която е направена извадката.

U. urealyticum оказва **статистически значимо** влияние върху параметрите обем (P=0,001), вискозитет (P=0,007), мотилитет (P=0,005) и общия брой на сперматозоидите (P=0,005) в популацията, от която е направена извадката.

M. hominis – влиянието върху параметрите в популацията, от която е направена извадката, е голямо но, **не е статистически значимо**.

M. genitalium оказва **статистически значимо** влияние върху параметъра втечняване (P<=0,0001) и виталитета (P<=0,0001) в популацията, от която е направена извадката.

T. vaginalis оказва **статистически значимо** влияние върху параметрите обем (P=0,002), вискозитет (P=0,009), мотилитет (P=0,010) и броя на левкоцитите (P=0,0001) в популацията, от която е направена извадката.

Установяват се следните статистически значими зависимости между микроорганизмите и някои параметри на спермограмата при определени диагнози:

C. trahomatis оказва **статистически значимо** влияние при:

Епидидимита върху параметъра виталитет (P=0,041);

Орхиепидидимита върху параметъра виталитет (P=0,009) и параметъра морфология (P<0,0001) в популацията, от която е направена извадката.

M. hominis – оказва **статистически значимо** влияние при:

Орхиепидидимита - върху параметъра концентрация (P=0,006) и параметъра общ брой на сперматозоидите (P=0,005) в популацията, от която е направена извадката.

T. vaginalis оказва **статистически значимо** влияние при:

Простатита – върху броя на левкоцитите (P=0,031);

Епидидимита върху параметъра мотилитет (P=0,028) в популацията, от която е направена извадката.

Установяват се следните статистически значими зависимости между микроорганизмите и някои параметри на спермограмата при определени възрастови групи:

C. trahomatis оказва **статистически значимо** влияние при:

Групата от 31-40 г. върху параметъра концентрация (P=0,022);

Групата от 41-50 г. върху параметъра концентрация (P=0,003) и общия брой на сперматозоидите (P=0,039) в популацията, от която е направена извадката.

U. urealyticum оказва **статистически значимо** влияние при:

Групата от 21-30 г. върху параметъра мотилитет (P=0,012);

Групата от 31-40 г. върху параметъра вискозитет (P=0,020) и общия брой на сперматозоидите (P=0,008) в популацията, от която е направена извадката.

M. genitalium оказва **статистически значимо** влияние при:

Групата от 21-30 г. върху параметъра втечняване (P=0,003), виталитет (P=0,014) морфология (P<=0,013);

Групата от 31-40 г. върху параметъра втечняване (P=0,022), виталитет (P=0,008) в популацията, от която е направена извадката.

T. vaginalis оказва **статистически значимо** влияние при:

Групата от 31-40 г. върху параметъра втечняване (P=0,031), вискозитет (P<0,008), брой на левкоцитите (P=0,001), концентрация (P=0,032) и общ брой на сперматозоидите (P=0,007) в популацията, от която е направена извадката.

6. Лечение и профилактика на ППИ

Лечение на полово предавани инфекции

След идентифициране на съответния микроорганизъм се започва антибиотичната терапия. В случаи на културелно-негативни пациенти същите трябва да бъдат лекувани с противовъзпалителна терапия, защото емпиричната антибиотична терапия генерално не осигурява окончателното освобождаване от причинителите. Пристъпва се към лечение с широкоспектърни антибиотици, които достигат концентрация в епидидимите.

Антибиотиците могат да повлият левкоцитоспермията и ROS производството в спермата като причиняват стерилитет по два основни механизма: увреждане на сперматозоидната мембрана, която намалява подвижността им и способността им за сливане с яйцеклетката и директно увреждане спермената ДНК, компрометирайки бащиния ДНК материал за ембриона. Резултатите от ефекта на антимикробното лечение върху качеството на спермата са противоречиви по литературни данни. Някои автори смятат, че антибиотичното лечение само премахва микроорганизмите и няма ясен положителен ефект върху възпалителните промени в тъканите на поразения орган и ROS производството от левкоцитите. След три месеца лечение с антибиотици е открит само незначителен ефект върху спермалните параметри. Ефектът върху броя на левкоцитите и ROS производството е наблюдаван главно при мъжете с простатит и е много ограничен при мъжете с епидидимит.

Някои изследователи установяват, че при прилагане на лечение в рамките на три или четири месеца има процес на излекуване. Ние се придържаме към това схващане по отношение времетраенето на лечението.

Особено важно е обстоятелството, че при установяване на инфекция трябва да бъдат лекувани партньорите едновременно. Провеждането на терапия само при единия би довело до повторното му инфектиране след успешно приключило лечение.

Лечение при установена ***N. Gonorrhoeae***

Като първо средство на избор в лечението на гонорея се препоръчват цефалоспорините от трета генерация – **ceftriaxone** (250 мг интрамускулно) или

cefixime (400 мг перорално), поради нарастване на резистентността към най-употребявания досега антибиотик – ciprofloxacin (флуорохинолоните) [125].

Тъй като е установено, че 10% от гонококите са резистентни на penicillin, а 44% – на тетрациклини и поради нарастващите в последно време съобщения за липса на клиничен отговор към azithromycin и увеличаване на резистентните към него щамове (2, 3), надеждни средства за ерадикация на гонококовата инфекция остават цефалоспорините [306].

Ние приложихме долуописаните схеми на лечение при 21 пациенти с установена гонорея.

1. **Едномоментно** лечение с цефалоспорини като първо средство на избор:

- 9 – с ceftriaxone 250 mg/i.m
- 1 - с ceftriaxone 500 mg/p.os;
- 7 – с cefixime 400 mg/p.os;
- 4 – с cefuroxime 1.5 g/i.m.

2. Алтернатива на посочените медикаменти са флурохинолоните (напр. ofloxacin – 400 mg/p.os),

Забележка: Не се препоръчва за лечение на гонорея azithromycin, поради липса на клиничен отговор и увеличаване на резистентните към него щамове.

При наличие на коинфекция на гонорея с други причинители се провежда комбинирана терапия, повлияваща съответния микроорганизъм.

При направената контрола не се установи *N. Gonorrhoeae,* т.е. лечението беше ефективно.

Лечение при установена **Chlamydia trachomatis**

Установихме Chlamydia trachomatis при 82 пациенти.

*Азитромицин (**Azithromycin**)* или *тетрациклини (**tetracyclines**)* са избрани лекарства при Chlamydia trachomatis инфекции.

Ние приложихме следната схема на лечение:

- ***азитромицин*** 1 грам орална (p.o.) единична доза
  или
- ***доксициклин (doxycycline)*** 2 × 100 мг / ден орално (p.o.) за 7-14 дни). С този медикамент са лекувани 18 пациенти.

- ***тетрациклини*** - лекувани 5 пациенти - лечението е проведено за 10 дена по 2 капсули (500 mg) четири пъти на ден в продължение на 7 до 30 дни, в зависимост от състоянието.
- ***флуорохинолони*** – лекувани 26 пациенти с Levofloxacin, Tavanic, Avelox)

Лечението с горепосочените препарати също има ефект и при гонококовия уретрит. Поради честата ко-инфекция с **Chlamydia trachomatis**, лекувахме гонореята с *CEFI цефиксим (**cefixim**)* (400 мг орално еднократна доза) или *цефтриаксон (**ceftriaxone**)* (125 мг мускулно i.m. еднократна доза), в комбинация с *азитромицин(**Azithromycin**)* или *тетрациклини (**tetracyclines**)* (вж. по-горе доза). Такава схема се препоръчва и от CDC 2007 г. [66].

При извършените контролни изследвания установихме отново наличие на хламидии при 9 пациенти.

Лечение при установена **Ureaplasma urealyticum**

При 79 пациенти беше изолирана Ureaplasma urealyticum. Проведохме следното лечение:

- ***тетрациклин*** (дозата както по-горе) - приложен при 51 пациенти
- ***еритромицин*** (2 г / ден орално (p.o.) в продължение на 7-10 дни) приложен при 28 пациенти.

При направените контролни изследвания установихме, че при 17 пациенти има отново растежни микроорганизми, но без клинична симптоматика. Отново се приложиха утвърдените схеми на лечение, но с други препарати.

Според констатациите на микробиологичните изследвания в хода на лечението могат да бъдат използани следните препарати в дози като :

- ***Доксициклин*** 200 мг / ден, тетрациклин 1,5 до 2 г / ден,
- *флуорохинолони (офлоксацин, норфлоксацин, ципрофлоксацин, левофлоксацин)* 0,5 до 1 г / ден,
- *cotrimoxazole* (800 мг *сулфаметоксазол, триметоприм* 160 мг) или
- макролиди, например *еритромицин* - 1,5 до 2 г / ден.

Употребата им трябва да продължи две до три седмици. По този начин се намаляват или премахват изцяло микроорганизмите, намиращи се в секретите на простатата и в спермата, и се постига нормализиране на възпалителните

параметри, като нивата на левкоцитите и биохимичните маркери, като гранулоцитната еластаза; подобряват се параметрите на спермата. При лечението се изисква овладяване на субективните оплаквания, саниране на възпалителния процес и запазване или възстановяване на фертилната способност.

Лечение при установена ***M. hominis u M. genitalium***

Лекувахме 64 пациенти с изолирана *M. hominis* и 32 пациенти с *M. genitalium.*

Микоплазмата се предава по полов път, в изключително редки случаи се пренася по битов. Това се определя от факта, че микоплазмата е високо устойчив микроорганизъм и често е неподатлив на лечение с антибиотици и сулфаниламиди. Дължи се на особения строеж на микоплазмата. Макролиди, тетрациклини, флуорхинолони са някои от групите антибиотици, които имат антимикотична активност и които приложихме при пациентите в указаните по-горе схеми. Едновременно с антибиотиците назначавахме и имуностимулираща терапия, тъй като се предполага, че развитието на тези микроорганизми става при намален имунитет на организма. Контролните изследвания след проведеното лечение показаха следните резултати: M. hominis имаше при 22 пациенти и M. genitalium при 7 пациенти, но при тях отсъстваха оплакванията от сърбеж в гениталиите или болка по време и след полов контакт.

Лечение на ***трихомонасната инфекция***

Изолирани трихомони имаше при 86 пациенти. Проведе се лечение по следните схеми с един от посочените препарати:

- **Метронидазол**, 2,0 г вътрешно, еднократно или по 500 мг 2 пъти дневно в продължение на 7 дена.
- **Тинидазол,** 2,0 г вътрешно, еднократно и след 3 дни повторение на дозата
- **Биошик** по 2,0 г вътрешно, еднократно и след 3 дни повторение на дозата
- **Фасижин -** по 2,0 г вътрешно, еднократно и след 3 дни повторение на дозата

Повторните изследвания проведохме след 10 – 14 дена след лечението. Установихме отново наличие на трихомони при 19 пациенти. Последва нов курс на лечение. Пациентите бяха посъветвани да се проведе лечение и на партньорките им и бельото им да бъде обработено при висока температура.

Рецидивите на заболяването се получават вследствие на повторно инфектиране от безсимптомно протичащи инфекции на партньора, лоша лична хигиена (използване на необработено за трихомони бельо и др.).

Различават се две форми на оздравяване:

- Етиологично
- Клинично

При етиологичното оздравяване в контролните изследвания след приложения курс на лечение не се откриват трихомони в продължение на 1-2 месеца при мъжа. За контролните изследвания се прилагат културелни и бактериоскопични лабораторни методи.

Клиничното оздравяване е това, при което са изчезнали симптомите на болестта. Нерядко у мъжете при настъпване на етиологично оздравяване могат да се съхранят някои симптоми.

Нашата практика следва указаните по-горе стъпки при лечението на ППИ. Освен това е необходимо спазването на следните условия:

- Правилно приемане на назначените препарати.
- Необходимост от въздържане от секс или задължително използване на презервативи при половите контакти в периода на лечение.
- От съществено значение е партньорът също да бъде насочен към лечение.
- Признаци или оплаквания на пациента изискващи повторно посещение.

Профилактика

Профилактиката започва от раждането с предпазване от инфекции на половите органи, своевременно лечение на малформациите, обучение към добри хигиенни и житейски навици. Фактори, които е необходимо да се отчетат при оценка на риска от развитие на ППИ:

- Осведоменост за разпространение на ППИ сред местното население или в конкретните социални групи
- Информацията, получена от пациентите за контактите им
- Професионалното мнение на медицинския работник
- Пациентът счита, че при него съществува риск от заразяване

Каквато и да е ситуацията, пациентите са длъжни да бъдат осведомени за полово предаваните заболявания и техните последствия, за поведението, което

повишава риска от заразяване, и за начините на предпазване от заболяване. Също така е необходимо на пациентите да бъде оказана помощ и да им бъде даден съвет по отношение на това, как най-добре да уговорят партньорите си за безопасен секс, включително използване на презервативи.

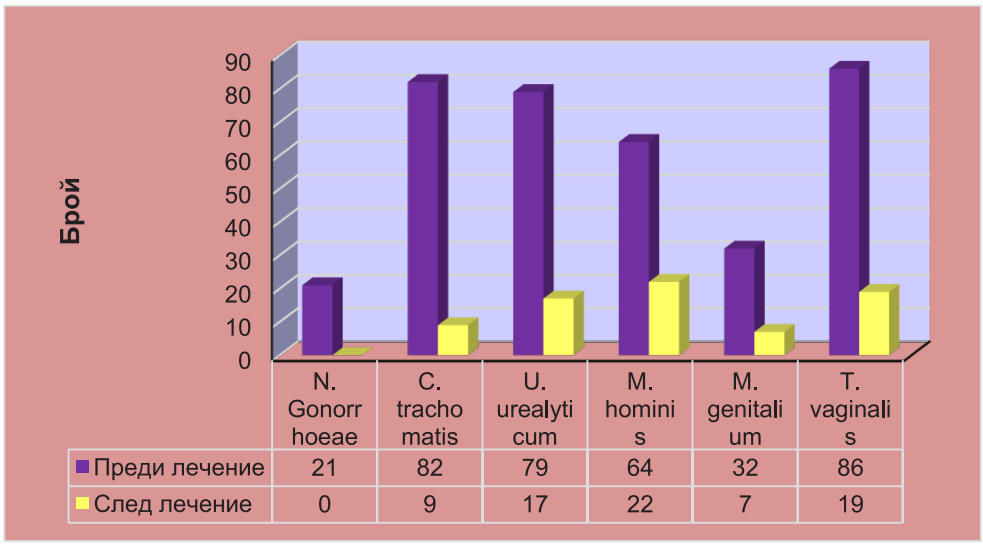
Безопасен секс е всеки полов акт, който намалява риска от предаване на инфекция от единия партньор на другия. При безопасния секс не се допуска проникване в организма на сперма, вагинална течност или кръв чрез влагалището, ануса или чрез някаква открита раничка и увредена кожа или лигавица.

Някои препоръки относно безопасната практика на половите контакти

1. Ползвайте презервативи при всеки полов контакт (особено с нови полови партньори).
2. Намалете броя на половите си партньори – моногамните полови отношения с незаразен партньор са най-безопасни.
3. При поява на течение от пикочния канал се обърнете към лекар специалист (уролог, андролог, личен лекар) за провеждане на изследвания с оглед установяване на причинителя ако има заразяване.

7. Анализ на резултатите от откритите микроорганизми след лечение

Изолираните микроорганизми след лечение са при 74 пациенти (21,33%) и са показани на фиг. 31, Таблица 15 и Приложение 3 (за сравнение са показани данните и преди лечението).



Фиг. 31. Изолираните микроорганизми преди и след лечение.

Таблица 15. Изолирани микроорганизми след лечение в брой и проценти.

Микрорганизми					
		Честота	**Процент**	**Валиден %**	**Кумулативен %**
Валдни	**Без наличие на микроорганизъм**	273	78,7%	78,9%	78,9%
	С наличие на микроорганизъм	74	21,3%	21,1%	100,0%
	Общо	347	100,0%	100,0%	
Общо		347	100,0%		

Влиянието на микроорганизмите върху параметрите на спермограмата след лечението е отчетено след статистически анализ на данните общо, при различните диагнози (уретрит, простатит, епидидимит и орхиепидидимит) и относно възрастовите групи и е както следва:

1. **От статистически анализ на данните общо се установи:**

- Значими зависимости между *U. urealyticum* и следните параметри:

Общ брой на сперматозоидите (P=0,031).

U. urealyticum *оказва статистически значимо влияние върху параметъра* ***общ брой на сперматозоидите*** *в популацията, от която е направена извадката.*

- Значими зависимости между *M. genitalium* и следните параметри:

Морфология (P<=0,034).

M. genitalium *оказва статистически значимо влияние върху параметъра* ***морфология*** *в популацията, от която е направена извадката.*

2. **От статистически анализ на данните при различните диагнози се установи:**

- Значими зависимости между *U. urealyticum* и следните параметри:

Простатит – Общ брой на сперматозоидите (P=0,032).

3. **От статистически анализ на данните при възрастовите групи се установи:**

- Значими зависимости между *M. genitalium* и следните параметри:

Възрастова група 21-30 г. - Мотилитет (P=0,034).

- Значими зависимости между *C. trahomatis* и следните параметри:

Възрастова група 41-50 г. – Време за втечняване (P=0,027).

- Значими зависимости между *M. hominis* и следните параметри:

Възрастова група 41-50 г. - Концентрация (P<0,0001).

- Значими зависимости между *T. vaginalis* и следните параметри:

Възрастова група 41-50. - Мотилитет (P=0,013).

Промените в параметрите на спермограмата след лечение са отчетени след статистически анализ на данните общо, при различните диагнози (уретрит, простатит, епидидимит и орхиепидидимит) и относно възрастовите групи и е както следва (за сравнение в графиките са дадени данните и преди лечението):

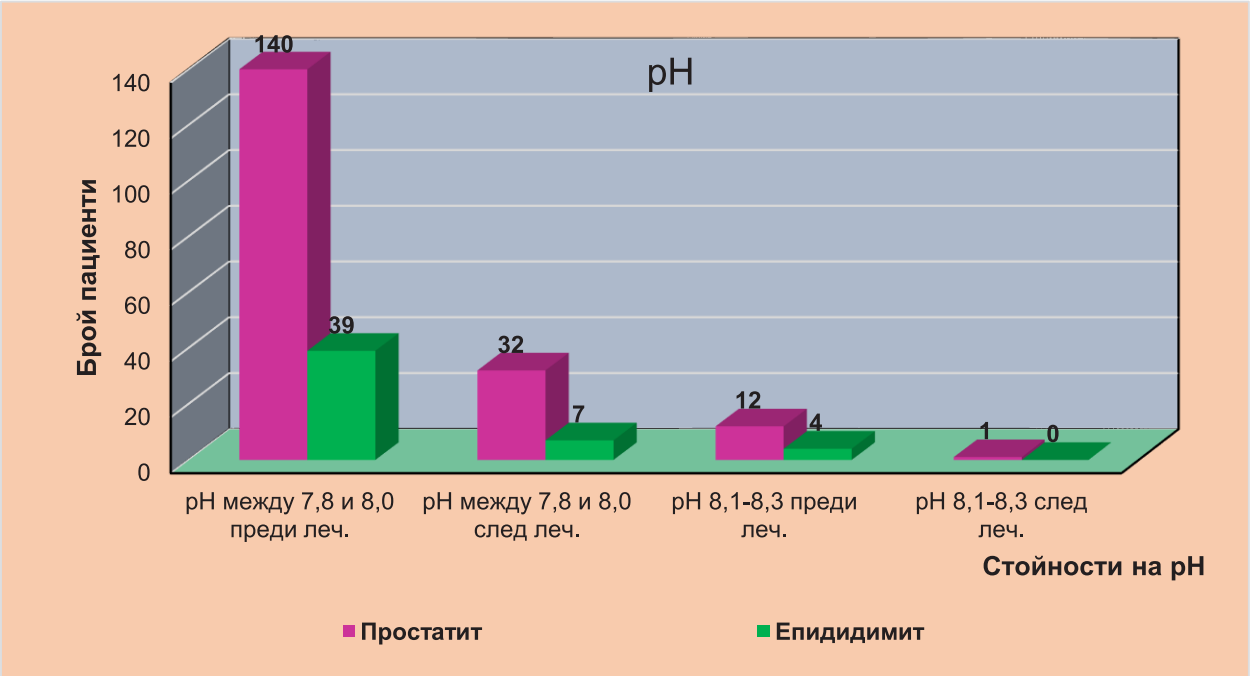
8. Анализ на резултатите от спермограмите след лечение

Обем на еякулата

Отделен еякулат в обем, по-малък от 1,5 мл, има при 9 от всички пациенти (0,03%). Всички те бяха с диагноза хроничен простатит и представляват 5,08% от пациентите на тази група.

pH

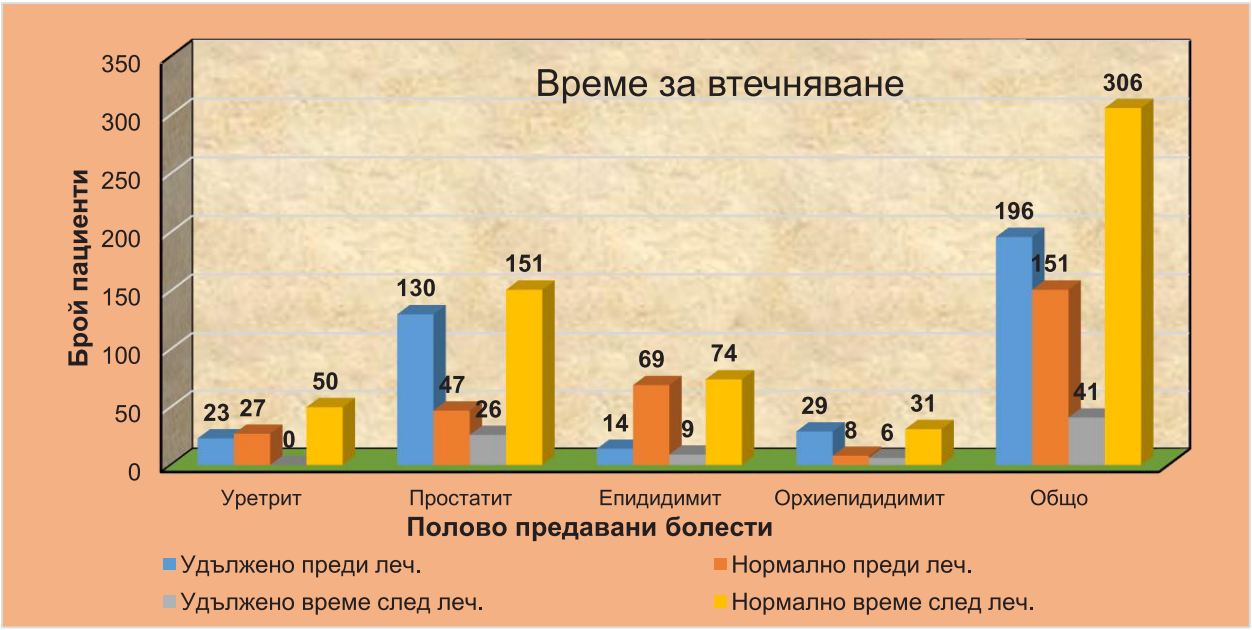
След лечението при пациентите на прекаралите хроничен простатит се установи pH между 7,8 и 8,0 при 32 пациенти (18,08%) и при 1 пациент (0.56%) pH е между 8.1 и 8.3., а при пациентите прекарали епидидимит се установи pH между 7,8 и 8,0 при 7 пациенти (0,8 %), а pH между 8.1 и 8.3 не се установи (фиг. 32).



Фиг. 32. pH преди и след лечението.

Време за втечняване

Времето за втечняване на еякулата над 60 мин. е удължено след лецчението при 41 пациенти (11,82%). От тях 0 пациенти са прекарали уретрит, 26 (14,69%) пациенти са прекарали хроничен простатит, 9 (10,84%) пациенти са прекарали епидидимит и 6 (16,22%) пациенти са прекарали орхиепидидимит (Фиг. 33)



Фиг. 33. Време за втечняване преди и след лечението.

Вискозитет

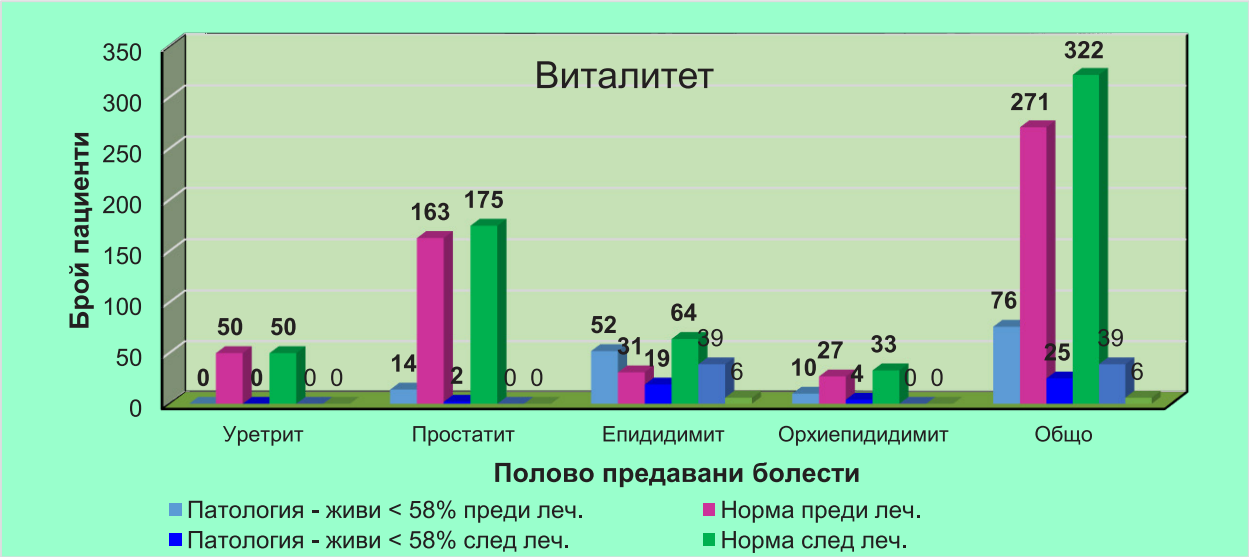
Повишен вискозитет след лечението има при 56 (16,14%). От тях 0 са прекарали уретрит, 49 (27,68%) пациенти - хроничен простатит и 7 (8,43%) пациенти - епидидимит (Фиг. 34).



Фиг. 34. Вискозитет преди и след лечението.

Виталитет

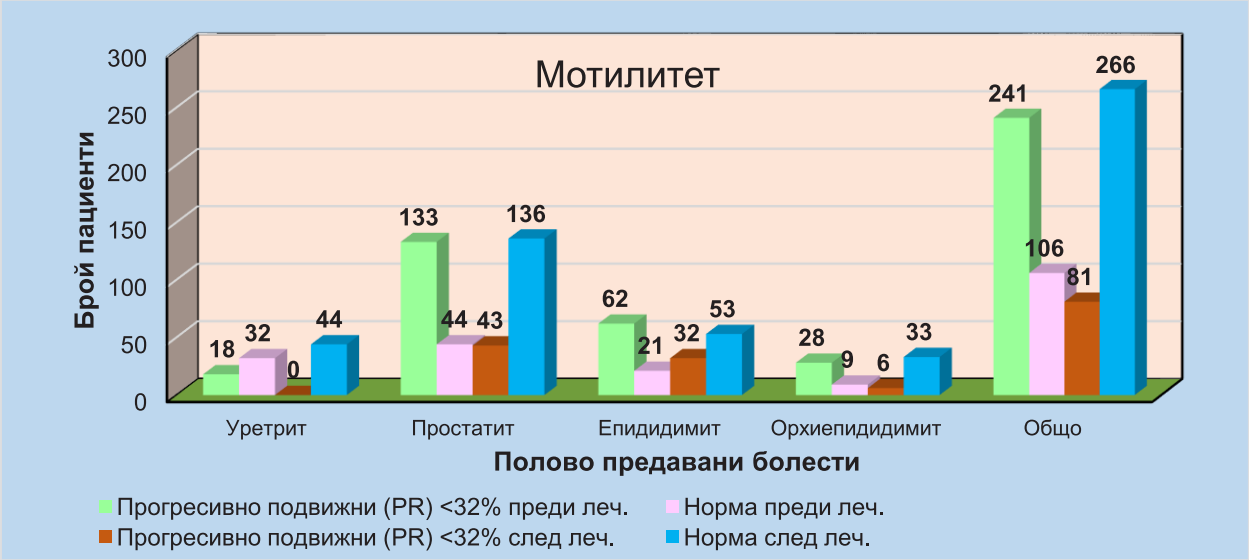
Броят на пациентие с живи сперматозоиди под нормата след лечението (референтната стойност на СЗО е 58%) е 25 (7,20%). От тях 0 пациенти са прекарали уретрит, 2 (1,13%) пациента - хроничен простатит, 19 (22,89%) пациенти - епидидимит, 4 (10,81%) пациенти - орхиепидидимит (Фиг. 35).



Фиг. 35. Виталитет преди и след лечението.

Мотилитет

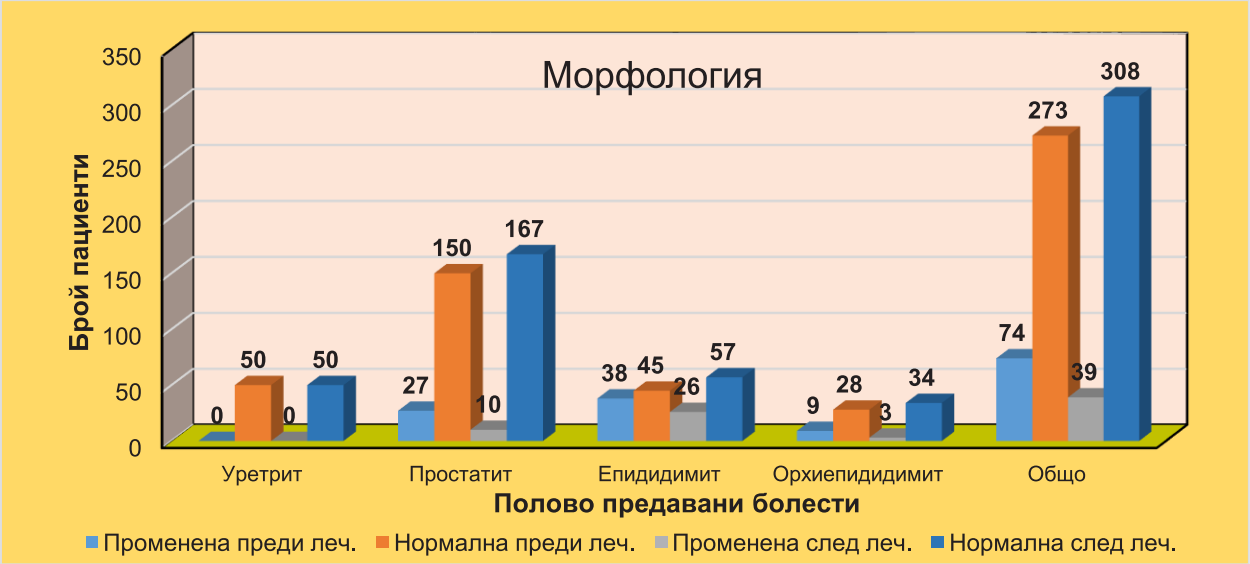
Прогресивно подвижни (PR) сперматозоиди под референтната стойност на СЗО от 32% се установиха при 81 пациенти (23,34%), като 43 (24,29%) пациенти са прекарали хроничен простатит, прекарали уретрит са 0 (0,00%), прекарали епидидимит са 32 (38,55%) и след лечение на орхиепидидимит са 6 (16,22%) пациенти (Фиг. 36).



Фиг. 36. Мотилитет преди и след лечението.

Морфология

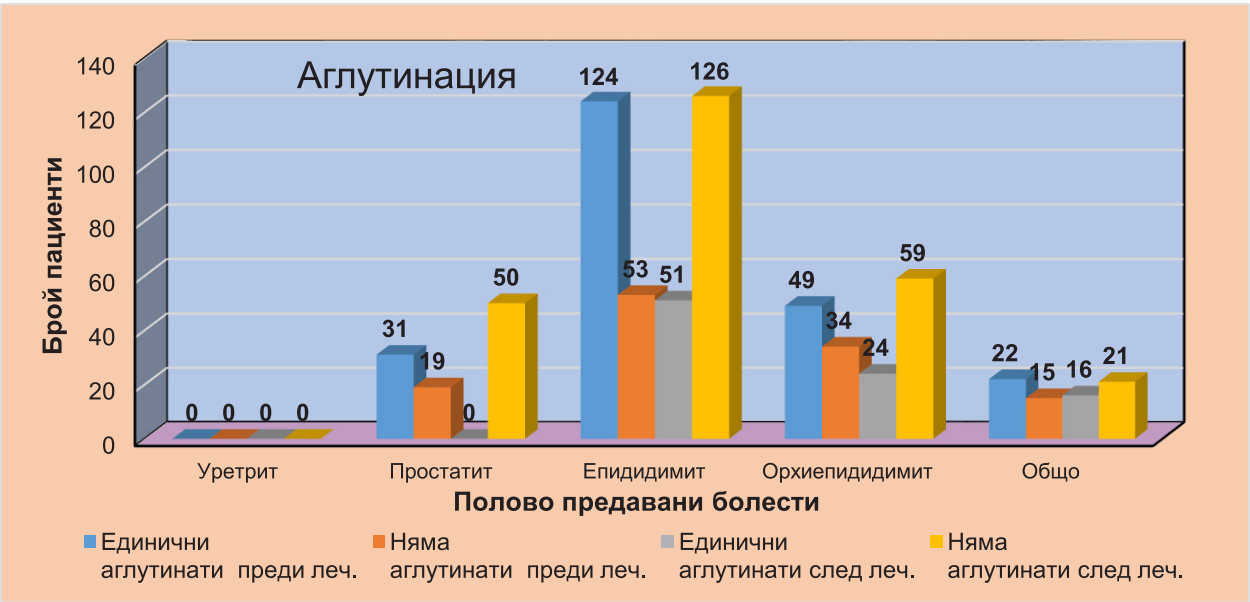
От 39 (11,24%) пациенти с променена морфология на сперматозоидите след лечение, най-високият процент се пада на пациентите с прекаран епидидимит – 26 пациенти (31,33%), такава се установи при 10 (5,65%) пациенти с прекаран хроничен простатит и при 3 (8,11%) пациенти прекарали орхиепидидимит (Фиг. 37).



Фиг. 37. Морфология преди и след лечението.

Аглутинация

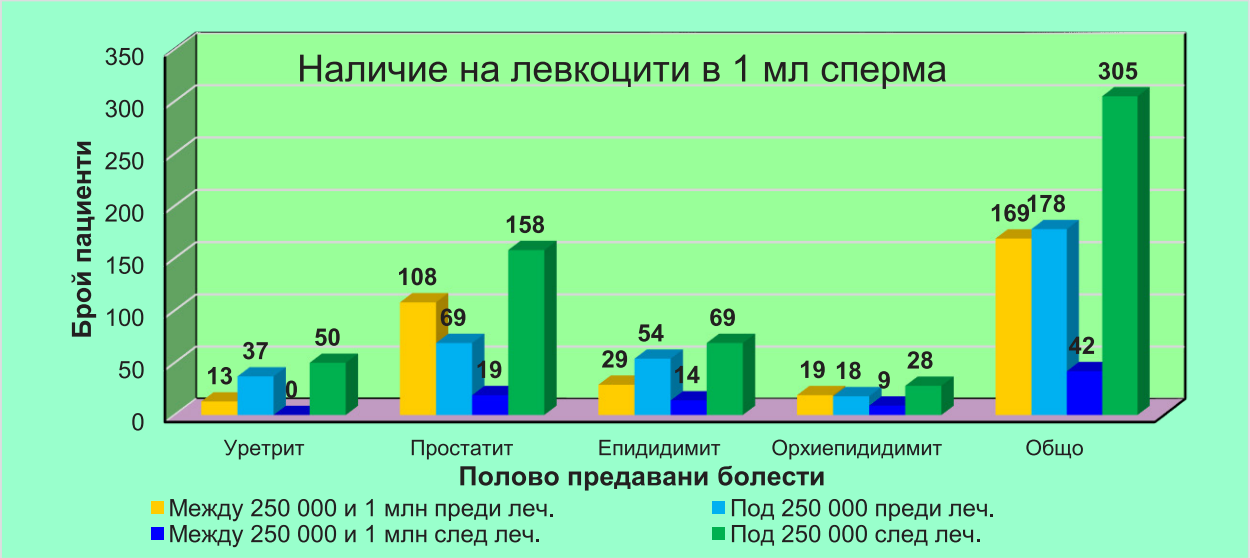
Единични аглутинати след лечение се установиха при 91 пациенти (26,22%). От тях 51 (28,81 %) пациенти са прекарали простатит, 24 (28,92%) пациенти - епидидимит и 16 (43,24%) – орхиепидидимит (Фиг. 38).



Фиг. 38 Аглутинация преди и след лечението.

Наличие на левкоцити

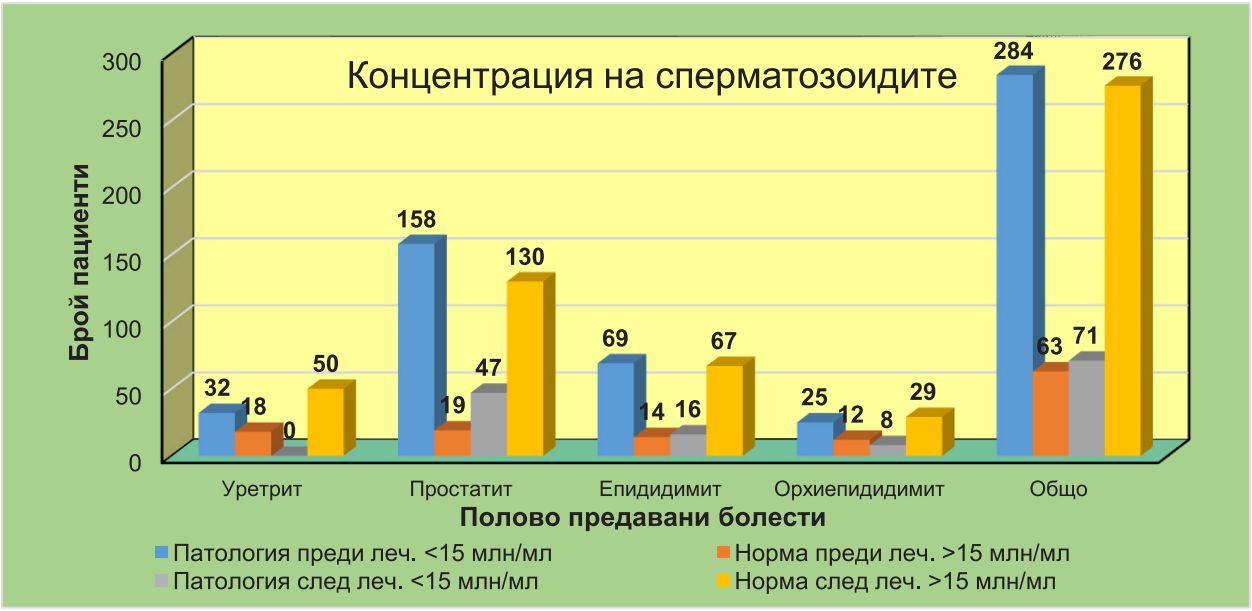
Открити левкоцити между 250000 и 1 млн/мл има при 42 пациенти (12,10%) след лечение. Пациенти с прекаран хроничен простатит са – 19 (10,73%), - прекаран епидидимит - 14 (16,87%) и лекувани за орхиепидидимит - 9 (24,32%) пациенти (Фиг. 39).



Фиг. 39. Наличие на левкоцити преди и след лечението.

Концентрация на сперматозоидите

Сперматозоиди под 15 млн/мл в еякулата (олигозооспермия) имат 71 (20,46%) пациенти след лечение. 47 (26,55%) пациенти са прекарали хроничен простатит, 16 (19,28%) – епидидимит и 8 (21,62%) - орхиепидидимит (Фиг. 40).

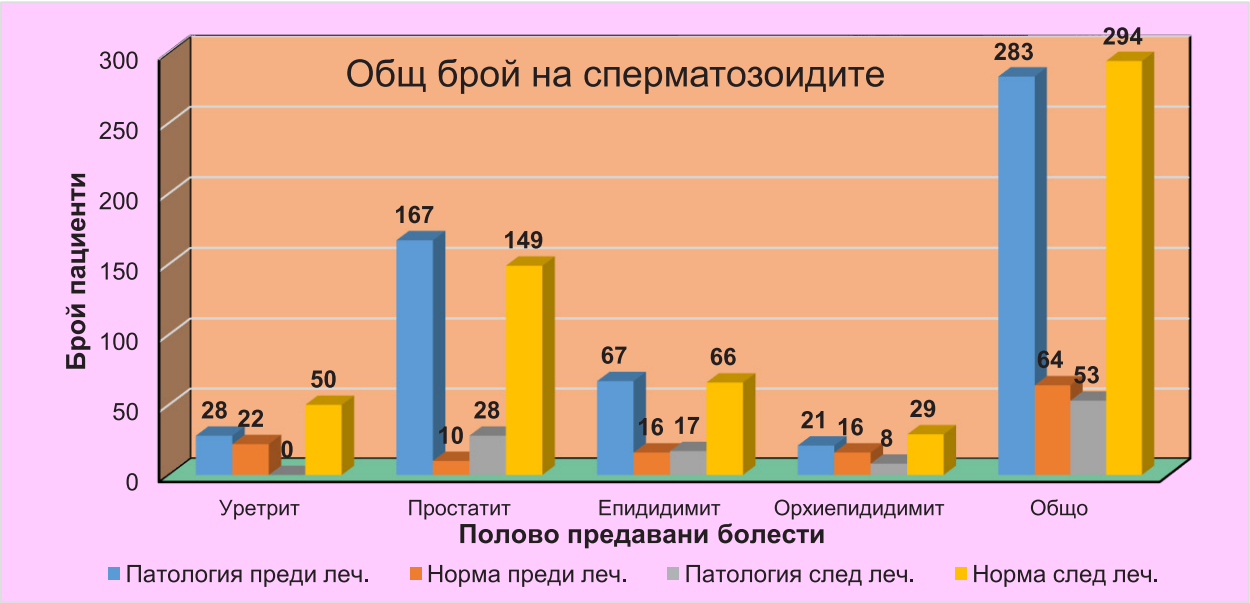


Фиг. 40. Концентрация на сперматозоидите преди и след лечението.

Общ брой на сперматозоидите

Общ брой сперматозоиди под 39 млн в еякулата (олигозооспермия) открихме при 53 (15,27%) от пациентите.

Те се разпределят както следва: 28 (15,82%) са прекарали простатит, 17 (20,48%) - епидидимит и 8 (21,62%) - орхиепидидимит (Фиг. 41).



Фиг. 41. Общ брой на сперматозоидите преди и след лечението.

Анализ след статистическа обработка на резултатите от параметрите на спермограмата след лечение:

Обем на еякулата

Обемът на еякулата, по-малък от 1,5 мл. има при 9 пациенти (29%) от 31 пациенти с патологичен обем преди лечението. Всички те бяха с диагноза хроничен простатит. Пълно нормализиране на обема се откри при 22 (71%) пациенти (Табл. 16). Най-високият дял на нормализиране е при пациентите от възрастовата група 31-40 г. последвана от тази 41-50 г.

Таблица 16. Обем на еякулата след лечение.

		Обем след лечение				Общо	
		0= няма патология		1= има патология		Брой	%
		Брой	%	Брой	%		
Обем преди Лечение	0	**316**	**100,0% - без промяна**			**316**	**100,0%**
	1	**22**	**71,0% Подобряване– ефикасност**	**9**	**29,0%-без промяна**	**31**	**100,0%**
Общо		**338**	**97,4%**	**9**	**2,6%**	**347**	**100,0%**

pH

Спадането на високите стойности на pH след лечението е значително. Само при един пациент от прекаралите хроничен простатит се установи pH над 8.

Време за втечняване

Нормализирането на времето за втечняване на еякулата е значително – при 80,1% от патологичните случаии (Табл. 17).

Табл. 17. Времето за втечняване на еякулата след лечение.

		ВРЕМЕ ЗА ВТЕЧНЯВАНЕ след лечение				Общо	
		0=Норма - до 60 мин.		1=Патология - над 60 минути		Брой	%
		Брой	%	Брой	%		
ВРЕМЕ ЗА ВТЕЧНЯВАНЕ преди лечение	0 Норма - норма до 60 мин.	**149**	**98,7%**	**2**	**1,3%**	**151**	**100,0%**
	1 Патология - над 60 минути	**157**	**80,1%**	**39**	**19,9%**	**196**	**100,0%**
Общо		**306**	**88,2%**	**41**	**11,8%**	**347**	**100,0%**

Пълно нормализиране – 100% - настъпва в групата на пациентите, лекувани от уретрит. Въпрека нормализиране на втечняването при голям брой пациенти от групата на лекуваните за простатит се появява патология при двама, на които показателият е бил в норма преди лечение. Статистиката на данните на пациентите по диагноза показват нормализиране на параметъра в 81,50% при простатита, 79,30% при орхиепидидимита, 35,70% при епидидимита (Приложение 4).

Подобряването се отразява в 100% при пациентите <20 г. при групата от 50-60 г. и >60 г., 80,70% при пациентите от възрастовата група от 31-40 г., 78,30% при групата от 21-40 г. и 77,50% при пациентите от 51-60 г.

Вискозитет

Повишен вискозитет след лечението има при 56 (16,14%). 49 (27,68%) пациенти са прекарали хроничен простатит, като 9 от тях са с влошен показател

след лечението. 7 (8,43%) пациенти са от групата на лекуваните от епидидимит (Табл. 17 и прил. 5).

Таблица 17. Вискозитет на еякулата след лечение.

			ВИСКОЗИТЕТ след лечение		Общо
			0=Норма	1 Патология - повишен вискозитет	
ВИСКОЗИТЕТ преди лечение	0=Норма	Брой	169	9	178
		%	94,9%	5,1%	100,0%
	1 Патология - повишен вискозитет	Брой	122	47	169
		%	72,2%	27,8%	100,0%
Общо	Брой		291	56	347
	%		83,9%	16,1%	100,0%

Най-засегнатата остава възрастовата група от 31-40 г. последвана от 41-50 г. и 21-30 г.

Виталитет

Пациентите с живи сперматозоиди под нормата след лечението (референтната стойност на СЗО е 58%) са 25 (7,20%). От тях 2 (1,13%) пациенти са от групата на прекаралите хроничен простатит, 19 (22,89%) пациенти – прекарали епидидимит, 4 (10,81%) пациенти –прекарали орхиепидидимит. Процентът на нормализирал се показател след лечение е 67.1% и без промяна – 32,9%. (Табл. 18).

Относителниат дял на подобрение на показателя е най голям при лекуваните от простатита – 85.70%, последван от този при прекаралите епидидимита – 63,50% и орхиепидидимита – 60,00% (Приложение 6).

Нормолизирането на този показател е при 87,50% във възрастовата група от 41-50 г., последвана от 21-30-годишните. – 68,60% и от 31-40-годишните. – 61,30% (Приложение 7).

Таблица 18. Виталитет на еякулата след лечение.

			Виталитет - след лечение		Общо
			0 норма >= 58%	1 Патология	
Виталитет - живи сперматозоиди Преди лечение	0 норма >= 58%	Брой	**271**		**271**
		%	**100,0%**		**100,0%**
	1 Патология	Брой	**51**	**25**	**76**
		%	**67,1%**	**32,9%**	**100,0%**
Общо	Брой		**322**	**25**	**347**
	%		**92,8%**	**7,2%**	**100,0%**

Мотилитет

Нормализирането на показателя (прогресивно подвижни-PR) е в 70,5%. Но при 10 пациенти е настъпило влошаване с минаване под референтната стойност на СЗО от 32%. Прогресивно подвижни сперматозоиди се установи при 81 пациенти (23,34%), като 43 (24,29%) пациенти са прекарали хроничен простатит, а при уретрит са 0 (0,00%); прекарали епидидимита са 32 (38,55%) и прекарали орхиепидидимита са 6 (16,22%) пациенти (Табл. 19 и прил. 8).

Таблица 19. Мотилитет на еякулата след лечение.

			Мотилитетът–PR–норма след лечение		Общо
			0 норма >= 32%	1 Патология	
Мотилитетът – PR – патология преди лечение	0 норма >= 32%	Брой	**96**	**10**	**106**
		%	**90,6%**	**9,4%**	**100,0%**
	1 Патология	Брой	**170**	**71**	**241**
		%	**70,5%**	**29,5%**	**100,0%**
Общо	Брой		**266**	**81**	**347**
	%		**76,7%**	**23,3%**	**100,0%**

Най-висок е относителният дял при възрастовите групи е на групата до 20 г. – 87,50%, последвана от тази от 31-40 г. – 71,60%, от 21-30 г. – 69,90%.

Големият дял на влошилите се са сред групата от 31-40 г., последвана от тази от 41-50 г. и от 21-30 г.

Морфология

Нормализиране на този показател след лечение е настъпило при 47,3% от патологията преди терапията. Не се установи влошаване. Остават с патология 39 (11,24%) пациенти. Най-високият процент е при пациентите с прекаран епидидимит – 26 (31,33%) пациенти, 10 (5,65%) пациенти с прекаран хроничен простатит и 3 (8,11%) - орхиепидидимит (Табл. 20).

Табл. 20. Морфология на еякулата след лечението.

			Морфология след лечение		Общо
			0=Норма	1=Патология - при нормални сперматозоиди под 4%	
Морфология Преди лечение	0 Норма	Брой	**273**		**273**
		%	**100,0%**		**100,0%**
	1 Патология - при нормални сперматозоиди под 4%	Брой	**35**	**39**	**74**
		%	**47,3%**	**52,7%**	**100,0%**
Общо	Брой		**308**	**39**	**347**
	%		**88,76%**	**11,24%**	**100,0%**

Относителният дял на нормализиралия се показател е 68,4% при прекаралите епидидимит, последван от прекаралите орхиепидидимит – 66,67% и прекаралите простатита 63,00% (Приложение 9).

При възрастовата група от 41-50 г. нормализирането на този показател е в 70%, последвана от групата на 31-40 г. – 50% и от тази на 21-30 г. 36% (Приложение 10).

Аглутинация

Пациентите с единични аглутинати в еякулата след лечение са 91 (26,22%). 77 от тях са били с единични аглутинати преди лечението, но другите 14 пациенти не са имали такива. Така се установява нормализиране в 65,9% и влошаване в 11,6% (14 от 121 без аглутинати преди лечение) (Таблица 21).

Нормализирането е в 100% при лекувалите се за уретрит, - 70,20% при прекаралите простатит, 51,00% при прекаралите епидидимит и 27,30% при лекувалите се за орхиепидидимит (Приложение 11).

Таблица 21. Аглутинация на еякулата след лечението.

			АГЛУТИНАЦИЯ след лечение		Общо
			0 норма - няма аглутинати	1 патология - единични аглутинати	
АГЛУТИНАЦИЯ Преди лечение	0 норма - няма аглутинати	Брой	**107**	**14**	**121**
		%	**88,4%**	**11,6%**	**100,0%**
	1 патология - единични аглутинати	Брой	**149**	**77**	**226**
		%	**65,9%**	**34,1%**	**100,0%**
Общо	Брой		**256**	**91**	**347**
	%		**73,8%**	**26,2%**	**100,0%**

Нормализиране на този параметър се установи в 100% при възрастовата група > 60 г., 90.90% при пациентите < 20 г., 76,30% - в групата от 41-50 г., 65,70% - при пациентите от 31-40 г., 57,10% - в групата от 21-30 г. и без промяна е групата от 50-60 г. В две от групите е насъпило влошаване – относително по-голямо е в групата от 41-50 г. (30,00%) отколкото в групата от 31-40 г. (15,70%) (Приложение 12).

Наличие на левкоцити

Левкоцити между 250000 и 1 млн/мл се установиха при 42 пациенти (12,10%) след лечение. Нормализирането на параметъра е при 79,29%, но се открива влошаване при 7 (3,93%) пациенти (Таблица 22). Пациенти с прекаран хроничен простатит са 19 (10,73%), -с епидидимит - 14 (16,87%) и с орхиепидидимит - 9 (24,32%) пациенти.

Таблица 22. Наличие на левкоцити преди и след лечението.

			Левкоцити в еякулата след лечение		Общо
			0 Норма	1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000	
Левкоцити в еякулата преди лечение	0 Норма	Брой	**171**	**7**	**178**
		%	**96,07%**	**3,93%**	**100,0%**
	1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000	Брой	**134**	**35**	**169**
		%	**79,29%**	**20,71%**	**100,0%**
Общо	Брой		**305**	**42**	**42**
	%		**87,9%**	**12,1%**	**12,1%**

Подобряването е 100,00% в групата на лекувалите се за уретрит, 87% при прекаралите простатита, 63,16% при прекаралите орхиепидидимит и 51,72% при лекувалите се за епидидимит (Приложение 13).

Нормализиране на показателя при възрастовите групи е 100% за цялата група 51-60 г., 80,36% за групата от 21-30 г., 78,38% - от 31-40 г., 78,13% - от 41-50 г. и влошаване на 1 пациент (100%) > 60 г. (Приложение 14).

Концентрация на сперматозоидите

Олигозооспермия (сперматозоиди под 15 млн/мл) се устанаха при 71 (20,46%) пациенти след лечение. Нормализиране на този параметър настъпи при 75% от патологичните преди лечението (Табл. 23). Няма влошаване на този

показател след лечението. Най-високият относителен дял на нормализиране е в групата на епидидимита, където този процент е 76,80% от паталогията в групата преди лечение, последвана от групата на простатита и орхиепидидимита (Приложение 15).

Нормализирането на този показател е най-високо във възрастовата група от 31-40 г., последвана от 21-30 г. и 41-50 г. (Приложение 16).

Таблица. 23. Концентрация на сперматозоидите след лечението.

			Концентрация - нарма		Общо
			0	1	
Концентрация - патология	0	Брой	63		63
		%	100,0%		100,0%
	1	Брой	213	71	284
		%	75,0%	25,0%	100,0%
Общо	Брой		276	71	347
	%		79,5%	20,5%	100,0%

Общ брой на сперматозоидите

Олигозооспермия по общия брой на сперматозоидите (под 39 млн в еякулата) се откри при 53 (15,27%) от пациентите. Един от тях е имал сперматозоиди > 39 мил преди лечение. Процентът на нормализиране на този показател е 81,6% (Табл. 24).

Най-висок е относителният дял при простатита – 83,20%, последван от този при епидидимита – 74,60% и – орхиепидидимита – 66,70% (Проложение 17).

Табл. 24. Общ брой на сперматозоидите преди и след лечението.

			Общ брой на сперматозоидите - норма		Общо
			0	1	
Общ брой на сперматозоидите - патология	0	Брой	**63**	**1**	**64**
		%	**98,4%**	**1,6%**	**100,0%**
	1	Брой	**231**	**52**	**283**
		%	**81,6%**	**18,4%**	**100,0%**
Общо	Брой		**294**	**53**	**347**
	%		**84,7%**	**15,3%**	**100,0%**

Най-висок относителен дял при възрастовите групи е на групата от 31-40г. – 88,60%, последвана от тази до 20 г. – 83,30%, от 21-30 г. – 71,60%.

За излекувани пациенти приемаме тези, които нямат клинични оплаквания, нямат микроорганизми в еякулата и всичките им параметри на спермограмата са в границите на нормата.

Общо излекуваните пациенти са 126 (36,31%) (Таблица 25).

Най-големият относителен дял е на пациентите с уретрит, които представляват 100% от групата си, последвана от групата на епидидимита - при 47,0%, при орхиепидидимита 45,95% и групата на простатита - 11,3% (Таблица 26).

Разглеждането на статистическите данни по възрастови групи показват, че от пациентите < 20 г. са излекувани 91,7%, от 21-30 г. – 46,15%, от 31-40 г. – 30,8% и от 41-50 г – 24,1%. Не се наблюдава пълно излекуване в другите две възрастови групи, но се установи подобрение на параметрите (Таблица 27).

Табл. 25. Общо излекуваните пациенти.

Оздравели					
		Честота	**Процент**	**Валиден %**	**Кумулативен %**
Валидни	Оздравели	126	36,31%	36,3%	36,3%
	Неоздравели	221	63,69%	63,7%	100,0%
	Общо	347	100,0%	100,0%	
Общо		347	100,0%		

Табл. 26. Излекуваните пациенти по диагноза.

Оздравели по диагнози								
	Уретрит		Простатит		Епидидимит		Орхиепидидимит	
	Брой	%	Брой	%	Брой	%	Брой	%
Оздравели	50	100,0%	20	11,3%	39	47,0%	17	45,95%
Неоздравели			157	88,7%	44	53,0%	20	54,05%
Общо	50	100,0%	177	100,0%	83	100,0%	37	100,0%

Табл. 27. излекуваните пациенти по възрастова група.

	Оздравели по възрастови групи											
В. група	< 20		21 - 30		31 - 40		41- 50		51 - 60		> 60	
	Брой	%	Брой	%	Брой	%	Брой	%	Брой	%	Брой	%
Оздравели	11	91,7%	54	46,15%	48	30,8%	14	24,1%				
Неоздравели	1	8,3%	63	53,85%	108	69,2%	44	75,9%	3	100,0%	1	100,0%
Общо	12	100,0%	117	100,0%	156	100,0%	58	100,0%	3	100,0%	1	100,0%

Влошаване на множесто от параметрите или клиничните оплаквания по време на лечението не е установено, но се откриха влошени параметри на спермограмата при малък брой пациенти след лечението, както се спомена при описание на съответните параметри по-горе.

VI. О Б С Ъ Ж Д А Н Е

Проблемите, свързани със заболяванията, предавани по полов път, имат много по-сериозни последствия, отколкото съществуването просто на дискомфорт и болка. Основна опасност както за женския, така и за мъжкия организъм представляват усложненията, вследствие на тези инфекции в половите пътища. Наред с многото неприятности безплодието е най-актуалният и трудно отстраним проблем.

Честотата на безплодните двойки (по данни на Световната здравна организация) е твърде висока и се колебае в развитите страни в границите на 15 - 20%. По данни от литературата мъжкото безплодие съставлява от 30 до 50% от тях, а нарушения в сперматогенезата се срещат в около 50% от случаите. В световен мащаб се наблюдава необяснимо снижаване не само на количеството, но и на качеството на сперматозоидите в еякулата на мъжа. Този факт предполага, че ролята на мъжкия фактор в безплодието ще се увеличава. Така проблемът на мъжкото безплодие става все по-съществен и придобива особена медицинска и социална значимост.

При съществуващата ситуация е важно двойката с проблем от такова естество да се консултира със специалист по инфертилитет (андролог, акушергинеколог, ендокринолог и др.), защото голяма част от причините за развитието му са лечими и съответно шансът за създаване на поколение е голям.

Анализът на социалния статус в нашето проучване показва, че болшинството от пациентите са работещи 212 (61,10%), служещи са – 81 (23,34%), а временно неработещи - са 54 (15,56%). В литературата се срещат данни за по-висок процент на неработещите в някои държави (предимно от третия свят). В среда с професионални вредности се намират 54 (15,56%) от респондентите.

Непушачи са 85 (24,49%), а пушачи на повече от 2 кутии цигари на ден са 59 (17%) от пациентите.

За употреба на наркотични вещества съобщават само 13 пациенти (3,74%). У нас този процент все още е нисък, но има тенденция към повишаването му.

Причините, водещи към мъжкото безплодие, включват: генетични нарушения и вродени дефекти, анатомични и физиологични изменения на половите органи, нарушения в хормоналния статус на мъжа, травми на половите и тазовите органи, както и прекарани или налични инфекции в гениталната

система (най-често полово предавани инфекции - хламидии, трихомони, гонорея, уреаплазма и др.).Най-често последните са познати в практиката като „скрити“ полови инфекции.

Тук ще отбележим, че най-многочислена - 89 (25,65%) – е групата на респондентите, които са имали първи полови контакти във възрастта от 16 до 18 години. В течение на времето само 38 (10,95%) са имали един партньор, а 19 (5,47%) съобщават за повече от 3 партньори. Много висок е броят на осъществявалите безразборни полови контакти - 47 (13,54%). Ролята на семейната среда и здравната култура на индивидите е от голямо значение в този смисъл [279, 302, 313].

Повече от тридесет са причинителите на инфекциите, предавани по полов път. Голяма част от тях са лечими с прилагане на адекватни антимикробни препарати. Въпреки наличието на етиологична терапия, бактериалните ППИ остават нерешен здравен обществен проблем, както за развитите, така и за развиващите се страни. Според новите възгледи ППИ са заболявания, предавани не само по полов път. Начините им за разпространение включват, както полов контакт (в 95% от случаите), така и възможност за разпространение чрез кръв и кръвни продукти, органна трансплантация и др. В числото на причинителите на инфекции, водещи до патологични състояния в урогениталния тракт, все по-активно се проучват гениталните микоплазми и уреаплазми, за които сигурно установените взаимовръзки с патологичните състояния са малко, а дебатите продължават. По данни на СЗО всяка година се регистрират около 448 млн (2005 г.) нови случая на инфекции на гениталната система, причинени от *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *U. urealyiticum* и *M. genitalium* и др.

Полово предаваните инфекции могат да бъдат причина за мъжкото безплодие поради настъпващите възпалителни изменения чрез прякото им разрушително въздействие върху сперматогенния и останалите епители, водещо до нарушения в сперматогенезата, както и до намаляване на защитните имунни бариери в тестисите и появата на антиспермални антитела. Анатомични и физиологични промени могат да настъпят в епидидимите, простатната жлеза и други органи. Тези процеси водят до промени в състава на семенната течност и могат да причинят нарушения в проходимостта на семепроводящите пътища. Нашите проучвания подкрепят тази теза.При данни за инфекция заболяванията

протичат с оскъдна симптоматика, понякога в течение на няколко години и тяхното проявление може да се установи единствено когато се развиват някои от усложненията. Прави впечатление фактът, че пациентите, твърде късно установяват своята фертилност - обикновено след 1 - 2 годишен безплоден брак или партньорство. От това следва, че те твърде късно, след 20-та година, проявяват загриженост за своето здраве и провеждат профилактичен преглед или проверяват своята фертилност чрез изследване на еякулат.

Известно е, че образуването на сперматозоиди започва в подрастващата възраст при момчетата и протича до дълбока старост. Това ни дава основание да проучим мъжкия фактор като причина за безплодие при различните възрастови групи с прекарани възпалителни заболявания на половата система, причинени от ППИ.

Съществуването на групата от 80 пациенти на възраст над 40 години показва необходимостта от съхраняване на сперматогенезата и в по-късна възраст. Днес наблюдаваме изместване на кривата на създаване на поколение към по-напреднала възраст по една или друга причина (било то лична, социална или друга).

Немалък е делът на подрастващите младежи, при които се установяват полово предавани инфекции и нарушения в спермограмата. По данни от нашето проучване при 18 до 25 годишните младежи има сериозни нарушения в спермограмата. Налага се изводът, че в семействата у нас, не се обръща достатъчно внимание на здравословното състояние на момчетата и те нямат достатъчна здравна култура.

Промените в спермата най-често са резултат от различни патологични процеси в организма, които предизвикват в някои случаи *дистрофични промени* в семенните каналчета и стромата на тестисите, в други имат *обратим характер*. Ние отбелязваме много висок процент - 51,01% на пациентите, прекарали простатит. Това е едно коварно заболяване, което може да придобие хронична форма и да доведе до необратими състояния на сперматогенезата.

Често до безплодие водят също и заболявания на ендокринната и нервната система, в частност на хипоталамуса, хипофизата, щитовидната жлеза, надбъбречните жлези, задстомашната и други ендокринни жлези, ЦНС и ВНС.

Инфекцията може да порази спермата пряко, при което микроорганизмите се прикрепват към сперматозоидите. Това води до значително намаляване на

тяхната подвижност, появата на патологични форми на сперматозоидите, намаляване на дела на овалните форми и относително нарастване на броя на дребните сперматозоиди, поява на комбинации от различни дефекти, както и удължаване на процеса аглутинация. Най-високи стойности на промени в сперматозоидите, изразени в дефекти на опашката, се наблюдава при полово предаваните инфекции. Наред с това при съществуващи инфекции в семенната течност се повишава нейният вискозитет, установява се намаляване на съдържанието на фруктоза и недостатъчното й усвояване от сперматозоидите. Всички тези характерни изменения на спермата се отнасят към главните фактори, определящи намаляването на жизнеспособността на сперматозоидите и влошаването на показателите на качеството на еякулата. При провеждане на правилно лечение тези промени могат да бъдат с обратим характер.

Понастоящем се счита за доказано, че сперматозоидите с тясно прикрепени към тях микроби, както се получава при урогениталната хламидийна или уреаплазмена инфекция, други бактериални и вирусни хронични възпалителни заболявания, могат да бъдат средство за пренасяне на инфекцията в горните полови женски пътища и да предизвикат сраствания и облитериращи процеси, които водят до безплодие на маточните тръби.Същият е механизмът, при който става запушването на семенните канали при мъжа.

Инфекцията на спермата и пикочо-половите пътища е едно от най-честите заболявания при мъжете с понижени оплождащи способности [170].

Бактериоспермията се приема за едно от най-сериозните заболявания, като се отчита нейната честота, а също така и фактът, че тя често протича атипично или без характерни признаци. Мъжете узнават за такова състояние едва при провеждане на изследване – спермограма. По литературни данни това се среща при около 15% от мъжете на 40-годишна възраст. Заболяването може да остане неразпознато или да се диагностицира твърде късно. Закъснялото лечение и недостатъчно продължителната или неправилна терапия често водят до безплодие. Установено е, че бактериоспермията довежда до снижаване броя на сперматозоидите и до поява на аглутинацията им. Не са рядкост и случаите, при които се отключва и имунологично безплодие благодарение на наличието на бактериоспермията. Някои специалисти считат, че бактериоспермията се явява хронично заболяване и е възможно нейното рецидивиране отново и отново, по

мнението на други това състояние е напълно излечимо след отстраняване на всички причини, довели до него.

В спермата се откриват гонококи, туберкулозни и лепрозни микобактерии, хламидии, микоплазми, вируси и др. микроорганизми, разполагащи със сперматоцидната активност, в т. ч. златисти стафилококи, чревни болестотворни бактерии, стрептококи от група В, протеуси, клебсиели, нейсерии.

Научните изследвания показват, че бактериалната флора на спермалната течност при мъжете, страдащи от безплодие, е твърде разнообразна, както и микрофлората на влагалището при жените със същата диагноза.

Доколкото става въпрос за бактериална инфекция, важно е да се изясни вида на микробите (или комбинацията от тях), предизвикващи изменения в семенната течност и последващо безплодие.

Възпалителните гонококови и други бактериални процеси в пикочо-половата система на мъжете (уретра, простатна жлеза, семенни мехурчета, придатъци на тестисите-епидидими, тестиси) могат да предизвикат изразено количествено и качествено изменение на семенната течност, което води до намаляване на опложданата им способност. Нашето проучване определя ***гонокока*** като причинител на инфертилитета при 1,02% от пациентите, обърнали се за консултация към андролог. В литературата срещнахме по-висок процент, но вероятно това различие се дължи на по-големи обследвани групи. В тези случаи при уретрити, простатити, везикулити и орхиепидидимити вредно действие на сперматозоидите наред с бактериите оказват съдържащите се в секретите на простатата, семенните мехурчета и епидидимите слуз, левкоцити и други продукти, произведени от възпалените тъкани.

Известно е, че в паренхима на простатната жлеза след прекарана гонорея, туберкулоза на пикочо-половите органи се появяват възпалителни инфилтрати с фиброза и атрофия на жлезите, вследствие на разрастване на влакнестата съединителна тъкан. Такива морфологични изменения понижават секреторната функция на простатата, намаляват обема на еякулата, влияят на буферните и ферментни свойства на спермата, което води до понижаване на нейната оплодителна способност. В семенните мехурчета в резултат на наличието на гонококова, туберкулозна и други инфекции настъпва **хроничен възпалителен процес** с атрофия на лигавицата, което понижава секреторната функция на

семенните мехурчета, намалява количеството на еякулата и съдържанието на фруктоза в секрета им; това се отразява на жизнеспособността и подвижността на сперматозоидите и, следователно, на оплодителната им способност. В епидидимите хроничното възпаление, фиброзата и атрофията на каналчетата на епидидима, нерядко запушването и притискането на пропускливостта на отклоняващите се каналчета създават механично препятствие за изхода на сперматозоидите навън. Настъпва азооспермия, която обуславя безплодието при мъжете. В семепроводящия канал също може да се развие облитерация на пропускливостта, което нарушава проходимостта и функцията на семеизхвърлящия канал. В паренхима на тестисите настъпва изразена атрофия, огнищна фиброза и разрастване на влакнеста, съединителна тъкан. Отбелязва се намаляване на съдържанието и даже напълно изчезване на гландулоцитите в тестисите (клетките на Лейдиг), а с намаляването на техните функции се нарушава и процесът на сперматогенеза, което също може да доведе до разстройство на способността за опложданe.

Заслужават внимание получените в последно време клинични данни и резултати от лабораторни изследвания от други лаборатории, които показват, че урогениталната **хламидийна инфекция** е една от най-честите причини за безплодие при съпружеските двойки (до 40 %) [45, 56, 77, 96, 186, 192, 227].

Честотата на разпространение на полово предаваната хламидиална инфекция в страните от Европа, както и извън нея, варира в широки граници. Като причина за това могат да се изтъкнат контингентът изследвани лица, използваните методи, възрастта, пола и расата на участниците в проучванията, техният социално-икономически статус, култура и други. Сред общата популация честотата на полово предаваната хламидиаза варира в диапазона от 0,5% - 16% [33, 37, 82, 100, 128, 129, 143, 167, 175, 182, 191, 213, 239, 249, 276].

Обсъждайки честотата на която и да е инфекциозна болест в даден регион, от значение са и нейните стойности за съседни на този ареал територии. Резултатите за честотата на диагностициране на хламидиалната ППИ, проучена от други български колективи, е 5,5% от изследваните мъже [3], 4,5% [262]; от колеги от Гърция - 1,78% [250]; а от Македония – 2,3% [249]. Анализът на наличните данни показва близки стойности на честота на хламидиалната инфекция в района на Балканите.

Нашият резултат е 22,77% при случаите на съществуващ стерилитет, а спрямо прегледаните болни в амбулаторията, този резултат е 5,75%.

В съответствие със съвременните постижения в лабораторната диагностика на хламидиите, успяхме заедно с лаборатория на Катедрата по микробиология да продължим търсенето в клинични материали на *C. trachomatis* чрез вече разработения културелен метод, въведен рутинно в практиката на полимеразната верижна реакция, и сравнявайки на получените резултати от различните методики, постигнахме максимална достоверност при интерпретация на клиничното състояние на изследваните индивиди въз основа на получените от тях материали. Изолирането на хламидиите в клетъчни култури и доказването им чрез имунофлуоресценция с помощта на моноклонални антитела и до днес се счита за златен стандарт в микробиологичната диагностика.

Разпространението на инфекциите, причинени от *C. trachomatis*, варира значително в зависимост от пола, възрастта, възпитанието и броя на сексуалните партньори (между 4 и 10%). Нашите данни са в подкрепа на това твърдение.

Болестта често протича без ясно изразени симптоми. Особености на хламидиазата при мъжете се характеризира с:

- най-често отсъствие на симптоми;
- парене при уриниране;
- незначително секретиране от уретрата;
- леко подуване на тестисите и скротума в резултат на увреждането на епидидимите и семепроводните каналчета;
- безплодие.

При мъжете хламидиалната инфекция рядко е *субклинична,* обикновено се наблюдава във вид на леко негонококово “неспецифично” възпаление на пикочния канал, което продължава няколко месеца. В редица случаи симптомите на заболяването могат да се проявят късно (след 3-4 седмици) и да не са ясно изразени, болестта може да се развива бавно.

При *остро възпаление* клиничната картина малко се различава от гонококовото заболяване. При хроничен процес клиничните проявления зависят от степента на въвличане във възпалителния процес на пикочо-половата система. Така заедно с уретрита (преден или цялостен) с различна честота могат да се

отбележат простатит, везикулит, орхоепидидимит, фуникулит. Тъй като пренесената хламидийна инфекция не предизвиква траен имунитет, възможни са реинфекции, които са твърде чести в случаите, когато се лекува само един от сексуалните партньори и половите контакти продължават.

Много характерна е способността на хламидиите да се прикрепват към различните части на сперматозоидите. Нарушението на *киселинността на средата във влагалището* може да благоприятства за това. Наличието на хроничен възпалителен процес в половите органи също така може да усили това явление и по този начин се увеличава рискът от нарушение на репродуктивната функция. Уро-гениталната хламидийна инфекция при мъжете, съпровождаща се от безплодие, може да доведе до значителни нарушения и промени на еякулата. При това количеството на сперматозоидите в 1 мл еякулат намалява, отбелязва се рязко нарушение на способността им за праволинейно-постъпателно движение, сред тях се появяват сперматозоиди с вибриращи, трептящи движения и кръгови движения. Откриват се дегенеративни форми на сперматозоидите, броят на които превишава физиологично допустимата норма (8-8%), което доказва патологичното състояние на семенната течност. Сред сперматозоидите се срещат такива с увеличен или намален размер на главичката, понякога в зачатък, щрихирани във вид на точка с дълга тънка или скъсена дегенеративна опашка. Установяват се също двуглави сперматозоиди, при които главичката има форма на двойни кълба, сперматозоиди с две или даже три опашчици. На фона на измененията се отбелязват понижения в съдържанието на фруктоза и на интензивността на фруктолиза в еякулата. Ние установихме значима зависимост между изолираната *C. trahomatis* и следните параметри: при възрастова група 41-50 г. е променено времето за втечняване на еякулата (P=0,027), както и промени на морфологията на сперматозоидите и в другите групи.

Един от най-отговорните етапи в ***диагностиката на хламидиазата*** е вземането на материал. Много са причините, които могат да компрометират правилното протичане и интерпретация на резултатите от клетъчнокултурелния метод. Чувствителността на изолацията на *C. trachomatis* зависи от правилното вземане, транспортиране и съхранение на материалите. Значение имат квалификацията и опитът на персонала.

Анализирайки наличните в литературата данни, може да се каже, че в сравнение с амплификационните методи на детекция, чувствителността на клетъчнокултурелния метод най-често варира между 50-85%, а специфичността му е приблизително 100%. Обяснение на това явление е фактът, че нуклеиновите киселини на РТ на хламидиите могат безпроблемно да бъдат уловени от PCR методиката, независимо дали са получени от жива или нежива клетка, докато при култивирането е необходим жив бактерий и намножаването му, който да бъде уловен от специфичните антитела, използвани при имунофлуоресценцията.

От друга страна процесите на замразяване и размразяване, съпровождащи съхранението и обработката на клиничните материали за изследване, намаляват преживяемостта на хламидиите в случай, че те наистина са инфектирали определени еукариотни клетки, и това е причина, дори и налични, те невинаги да бъдат доказвани. Културелният метод, обаче, остава единственият, който доказва живия микроорганизъм и продължава да бъде стандарт за валидирането на всеки един новопоявил се метод в диагностичната научна и клинична практика.

Именно този етап трябва да се провежда в широкопрофилни лечебни заведения и същевременно по-нататъшната обработка на материала трябва да става в специализирани лаборатории.

При изследването на хламидии по метода на отглеждане на клетъчни култури преди вземането на материала болните не трябва да приемат в продължение на месец тетрациклинови антибиотици; при цитологичната методика, в това число и при използване на моноколониални флуоресциращи антитела, тези лекарства не трябва да се приемат две седмици преди изследванията.

Преди вземане на материала болните не трябва да са уринирали в продължение на 1-1,5 часа.

Известно е, че хламидиите са бактерии, които не могат да бъдат култивирани на стандартните хранителни среди поради забавения им растежен цикъл и необходимостта от развитието им в еукариотна клетка. Знае се и, че локализацията, клиничната изява и протичането на хламидиалните инфекции, предизвикани от различните видове и серовари, варират чувствително. Това е

причина за съществуването на различни подходи в лабораторната диагностика на всяка една от инфекциите.

При вземане на материала за хламидии не трябва да се забравя, че оптималните за персистенция и размножаване на Chlamydia trachomatis са определени участъци от цилиндричния епител на пикочо-половите пътища (предната част на уретрата на дълбочина 2,5-4 см при мъжете и лигавицата на цервикалния канал на матката на дълбочина 1,5 см при жените).

Достатъчно информативно при мъжете е изследването на утайка от първата порция сутрешна урина по метода на полимеразната верижна реакция (ПВР).

В нашето проучване установихме съчетание на ***гонококов причинител и хламидиазна инфекция*** при един пациент. Както е известно, гонококът отвън е защитен с многослойна капсула, под която има мембрана, предпазваща вътрешното му устройство на гонокока. На външната стеничка на гонокока има микроскопични нишки, които способстват за активното му въздействие върху здравите клетки. Гонококът може да проявява активността си както във вътреклетъчното пространство, така и извън клетките.

Удивителната способност на гонокока при неблагоприятни за него външни условия да образува т. нар. L-форми (подобно на анабиозата), му позволява да „изчака“ лечението и да го провокира в следващ рецидив на заболяването.

При слабосимптомно или безсимптомно протичане на гонореята периодично настъпват етапи на обостряне, свързани с въздействието на провокиращи фактори, като алкохол, пикантна храна, полови контакти, преохлаждане, простудни заболявания.

Гонореята има и социално значение: тази болест влияе неблагоприятно върху демографските показатели, тъй като отчетливо повишава разпространението на безплодието. Гонореята е разпространена главно сред младите хора на 20 - 30 години, но може да се срещне във всяка възраст, както при мъжете, така и при жените. От гонорея човек може да се зарази няколко пъти и, развивайки се, болестта може да доведе до тежки усложнения.

Нашето проучване установява относително нисък процент на заразените с гонококова инфекция пациенти (21 пациенти). При направената контрола не се установи *N. Gonorrhoeae,* т.е. лечението беше ефективно дори и припациента със съчетана с хламидийна инфекция.

Това вероятно се дължи на действащата програма на национално ниво. В България има регистрирани години с голяма численост на разпространение на заболяването.

Причините за тези спадове и върхове на заболяванията причинени от ППИ най-вероятно са аналогични. На първо място за увеличаване на честотата на инфекцията значение имат бързото нарастване на антимикробната резистентност на микроорганизмите в резултат на широко използвани в обществото препарати и синергичният патогенетичен ефект между HIV вируса и гонокока.

Други причини, допринасящи за по-високите стойности на честотата на инфекцията, са урбанизацията, все по-честото използване на орални контрацептиви, увеличаването на проституцията, миграцията на населението, фактори, свързани с достъпа до медицинска помощ, беднотията, зачестяването на половите контакти (включително хетеро- и хомосексуални).

От друга страна въвеждането на нови, ефективни антимикробни средства, на програми за образование, обучение и превенция на обществото във връзка с ППИ, наличността на методики за доказване на инфекциите в ранен етап от развитието им, нарастването на материалния и културния стандарт на живот на хората определено водят до ограничаване разпространението на инфекцията и намаляване на честотата й [148]. Бактериалните половопредавани инфекции са тежко бреме, както за отделния индивид, така и за обществото поради факта, че са причина за развитието на остра заболеваемост, инфертилитет, продължителна инвалидност и др.

Известно е, че сексуалните нарушения при мъжа се явяват и като характерни признаци на хронично протичащите възпалителни процеси в половите органи на мъжа, особено тези в простатната жлеза. Нарушения може да се открият в различните етапи на сексуалния акт като: промени в либидото, в появата и поддържането на ерекцията, промени в еякулацията,промени в оргазма и сензитивността, неудовлетвореност от половия контакт. Всички те са в резултат на органичните промени в половите пътища на страдащия индивид. За полово предаваните инфекции е характерно, че с тяхното излекуване в малък процент се наблюдават остатъчни явления под формата на дискретни симптоми. Съгласни сме с тези автори [9], които отчитат ролята на пусков механизъм в нарушение от ППИ на сексуалното здраве и психогенни соматични или социогенни фактори. В

дадения случай действат и симптомите на простатита, епидидимита, орхита и орхиепидидимита. Наличието на психо-емоционални проблеми у мъжа, в допълнение могат да поддържат дисстреса и сами по себе си се превръщат в психотравма, заключвайки един порочен кръг. Това дава отражение на цялостното качество на живот на мъжа.

Други важни микроорганизми, оказващи влияние на спермата според нас, са **микоплазмите** и в частност **уреаплазмите**. В списъка на причинителите на инфекции, водещи до патологични състояния в урогениталния тракт, задължително вече се включват и полово предаваните генитални микоплазми/уреаплазми.

Причина за тези разисквания е наличието на множество критерии, на които трябва да отговаря един микроорганизъм, за да бъде категорично възприет като такъв с патогенен потенциал. В случая с полово предаваните микоплазми/уреаплазми проучванията са противоречиви, а критериите са следните:

1. Честотата на изолиране сред пациентите или опитните животни със заболяване да е значително по-висока спрямо тази без заболяване;
2. Наличният антителен отговор към съответния причинител в пациентите или опитните животни да е значително по-висок спрямо този при здравите индивиди;
3. Да се постига клиничен отговор при *in vitro* изследване към приложено чувствително антимикробно средство, който отговор да води до елиминиране на микроорганизма;
4. Инхибиращото микоплазмата антимикробно средство, но не и други предполагаеми причинители на даденото състояние, да оказва положителен клиничен ефект;
5. Да е възможно при въвеждането на микоплазма от човешки произход в животински вид възпроизвеждането на заболяване, аналогично на това при хората, да се стимулира сходен имунологичен отговор и предотврати състоянието при прилагането на антимикробно средство (аналогия да съществува и при въвеждането на микоплазмата от животински произход в друг животински вид);

6. Да се развива идентично клинично състояние при хора доброволци, на които експериментално е въведен микроорганизмът, те да реагират с имунен отговор, съпоставим с този при естествена инфекция, както и развилото се клинично състояние да бъде повлияно чрез терапия с тестваното антимикробно средство;
7. Специфичното антитяло към микроорганизма, което е индуцирано чрез имунизация, да може да предпазва от развитие на заболяването [261].

Част от научната общност приема, че инфертилитетът може да е резултат на налична BV, а в същината си микроорганизмът да има незначителна роля. Наскоро проведено проучване установява 10,8% честота на *M. hominis* при изследвани инфертилни мъже. Честотата на установената от В. Райкова [23] инфекция е 2,66%. Съпоставена с гореспоменатите честоти на колонизация получените резултати са значително по-ниски. Maeda и сътр. регистрират честота на инфекцията, близка до тази на В.Райкова [166]. Други изследователи също дават подобни стойности на честота на инфекцията – 2,78% и 4,3% съответно Simou и Dogan и сътр. [86, 241].

Според последни сведения уреаплазмите са способни да предизвикат безплодие, като влияят на качествените характеристики на спермата. *M. hominis* е първата изолирана от човека микоплазма и се доказва съвместно с *U. urealyticum.* Колонизацията на двата микроорганизма при възрастните индивиди нараства през пубертета и се свързва най-често с честотата на половите контакти, както и с броя на сексуалните партньори. *M. hominis* се изолира в най-голям процент от материали от урогениталния тракт. Наскоро проведени проучвания – McIver [178] и сътр., както и Baczynska и сътр. [37], откриват колонизация с *M. hominis* в здрави полово активни жени в 13,7% и съответно 18,63% [37, 175]. Смята се, че микроорганизмът не води до развитието на урогенитални заболявания при мъжете с изключение на 5% от случаите на остър пиелонефрит. Едни изследователи приемат, че микоплазмите се отнасят към абсолютно патогенните микроорганизми, други ги считат за условно патогенни.

На базата на множество проучвания на пациенти и опитни животни, въз основа на серологични показатели и повлияване на патологичното състояние от определени антимикробни средства в групите с клиничо състояние „уретрит" вече

се знае, че *U. urealyticum* е причинител на негонококов уретрит при мъжете [275]. Значението на уреаплазмите спрямо това на хламидиите и *M. genitalium* остава значително по-малко.

Чрез нашето проучване *потвърждаваме* участието на уреаплазмата като причина за мъжкото безплодие. Установихме я като причинител на стерилитета както следва: M. hominis - 3,79 %; M. genitalium - 2,04 %; U. urealyticum - 5,39 %.

Влиянието на микроорганизмите върху параметрите на спермограмата след лечението е отчетено след статистически анализ на данните общо, при различните диагнози (уретрит, простатит, епидидимит и орхиепидидимит) и относно възрастовите групи е както следва: Съществува значима зависимост между ***U. Urealyticumu*** *и общия брой на сперматозоидите* (P=0,031) и при простатит – общ брой на сперматозоидите (P=0,032).

Така също се установи зависимост и при ***M. genitalium,*** *който оказва статистически значимо влияние върху параметъра морфология в популацията, от която е направена извадката както е подчертано и при* възрастова група 21-30 г. - мотилитет (P=0,034).

Като си взаимодействат със сперматозоидите, тези микроорганизми могат да влияят по специфичен начин на фертилността. Редица автори вече приемат, че уреаплазмите благодарение на лепкавата си повърхност са способни да се прикрепват към всеки сегмент на сперматозоида (главичка, опашка, средна част), и да увредят всяка негова част, в т. ч. и главичката. Много често тя се съчетава с трихомониална, хламидиална, гардниела инфекции, което често затруднява решението за ролята им като основна причина на заболяването. В спермата, съдържаща уреаплазми, има най-ниска концентрация на сперматозоиди, те са слабо подвижни, сред тях има голямо количество атипични форми с увреждания на опашните сегменти и главичките. При наличие на уреаплазми в семенната течност се съкращава делът на овалните форми на сперматозоидите и се увеличава броят на дребните форми, повишава се визкозитетът на спермата.

Нашите резултати показват, че методът на PCR осигурява бърза и ефективна техника за откриването на човешки генитални микоплазми и уреаплазми, което е полезно за етиологичните и епидемиологичните изследвания на тези патогени.

Доказването на уреаплазми и микоплазми не е задължително да се свързва с развитието на заболяване. Уреаплазмите, обаче, могат да бъдат предпоставка и/или фактор за инфекции, като нехламидиален негонококов уретрит при мъжете [262]. Значението на уреаплазмите спрямо това на хламидиите и *M. genitalium* остава значително по-малко. Причина е фактът, че *U. urealyticum* може да доведе до развитие на болестно състояние в уретрата само при първа среща на микроорганизма с макроорганизма, а всяка следваща среща резултира в колонизация без развитие на заболяване.

Отсъствието на решаващо мнение по отношение на патогенния потенциал на *Mycoplasma* и *Ureaplasma spp.* в много случаи се дължи на общото им неразпознаване от страна на лекари и микробиологични лаборатории, поради капризните изисквания за растеж на тези патогени, което прави трудно откриването им. Най-често жените се явяват носители на уреаплазмата, а мъжете се заразяват по полов път с нея.

Друг причинител на заболяване, който колонизира в половите пътища, и може да бъде свързан с мъжкото безплодие, е влагалищната трихомона.

Сред познатите до момента и един от най-често използваните в клиничната диагностична практика метод е наблюдението на нативен препарат. Установено е, че неговата чувствителност е приблизително 58%-77% в сравнение с култивирането. Методът е силно зависим от опита на микроскопиращия, както и от правилното вземане на материала. Чувствителността на оцветяването на препарат по Папаниколау е приблизително 57%. А чувствителността на култивирането спрямо тази на PCR техниката е приблизително 70% [165]. Като метод за доказване на трихомонасната инфекция В. Райкова [23] използва in-house PCR.

Shafir и сътр. анализират наличните данни за честота на трихомонасната инфекция и установяват, че тя варира в широки граници - между 3% и 58%. В проучените от тях статии само три се базират на обширни данни и сигурни методи за доказване на инфекцията – тези на Miller и сътр. през 2005 г. и 2008 г. [181, 183,] и Sutton и сътр. през 2007 [258]. Установените в тези изследвания честоти на трихомонасната инфекция са съответно: 38%; 3,1% и 2,8%.

Трихомоназата в последните десетилетия е считана за най-разпространената в целия свят инфекция, предавана по полов път, и е често

причина за хроничните възпалителни заболявания на пикочо-половата система на човека.

При мъжете най-честата локализация на трихомоните и съпътстващата я патогенна флора е уретрата и простатната жлеза, като причинява усложненията простатит и уретрит. В един или няколко сектора на жлезата, в резултат на инокулираната инфекция, първоначално се развива възпалителен инфилтрат. Това е защитна реакция на организма, който се стреми да ограничи разпространението на патогенните микроорганизми към здравите участъци на органа или извън неговите предели. С течение на времето, постепенно в засегнатите зони започват да се формират необратими склеротично-дистрофични промени, кисти и калцификати. Могат да бъдат засегнати също така и добавъчните жлези, семенните мехурчета (везикулит), куперовата жлеза (куприт), органите на скротума. При мъжете безсимптомното носителство е често явление, а клиничната изява е най-честата формата на уретрит. Наскоро проведени проучвания доказват по-честата клинична проява на уретрита сред хомосексуално ориентираните мъже. Причина за все по-големия интерес към *T. vaginalis* сред научната общественост са и данните за по-лесното инфектиране с HIV вируса на индивидите с вече налична *T. vaginalis* инфекция.

По данни от литературата броят на цитираните засегнати от трихомоназа мъже с уретрити варира в много широк диапазон: от 2 до 60-85%. Ние установихме трихомоназа при 6,12% от прегледаните пациенти с андрологични оплаквания. В групата на инфертилните пациенти този процент е 24,21%. Това е групата с най-висок процент на изолиран причинител на ППИ. От статистическия анализ на данните при възрастовите групи установихме значими зависимости между *T. vaginalis* и следните параметри: при възрастовата група 41-50 годишни и при показателя мотилитет (P=0,013) преди лечението. Подобряването е 100,00% в групата на уретрита, 87% при простатита, 63,16% при орхиепидидимита и 51,72% при епидидимита (Приложение 13).

Присъствието на този микроорганизъм в спермата, особено при намалено съдържание на фруктоза в нея, поражда изменения в подвижността на сперматозоидите и в тяхната жизнеспособност. Това сочат данните от литературната справка. Ние не сме провеждали проучване в тази посока.

Добавянето на култура трихомони в еякулата намалява подвижността на сперматозоидите in vitro. При намаляване на подвижността на сперматозоидите се понижава и съдържанието на фруктоза в образците сперма. *Този факт, че на фона на такива изменения в семенната течност трихомоните обуславят намаляване подвижността на сперматозоидите, се потвърждава от забелязаното увеличение на подвижността им след добавяне на фруктоза в сперма с намалена подвижност на сперматозоидите след нейната инкубация с трихомони.* Възможно е влиянието на трихомоните върху подвижността на сперматозоидите да се осъществява посредством влиянието им върху съдържанието (концентрацията) на фруктоза в спермата. Доколкото трихомоните притежават активна подвижност, те могат да достигнат до вътрешните отдели на половите органи, особено при хроничните форми на болестта, да се локализират в епидидимите и простатната жлеза и да предизвикат безплодие.

Уро-гениталната трихомоназа може да остане незабелязана преди всичко в случаите на безсимптомно носителство на T.vaginalis, което при мъжете е в рамките на 10,6 до 27,8%.

Субманифестното протичане на болестта води до повишени изисквания за по-задълбочена лабораторна диагностика на трихомоназата. Регламентираната клауза гласи, че единственото достоверно доказателство за наличие на трихомоназа е откриването на типични (подвижни) паразитни форми в намазките или посевките (културите).

За излекувани пациенти приемаме тези, които нямат клинични оплаквания, нямат микроорганизми в еякулата и всичките им параметри на спермограмата са в границите на нормата. Общо излекуваните пациенти са 126 (36,31%) (Таблица 25). Най-големият относителен дял е на пациентите с уретрит, където представляват 100% от групата, последвана от групата на епидидимита - при 47,0%, при орхиепидидимита 45,95% и простатита - при 11,3% (Таблица 26). Разглеждането на статистическите данни по възрастови групи показват, че от пациентите <20 г. са излекувани 91,7%, от 21-30 г. – 46,15%, от 31-40 г. – 30,8% и от 41-50 г – 24,1%. Не се наблюдава пълно излекуване в другите две възрастови групи, но се установи подобрение на параметрите (Таблица 27).

Влошаване на множесто от параметрите или клиничните оплаквания по време на лечението не е установено, но се откриха влошени параметри на спермограмата при малък брой пациенти след лечение

В **заключение** може да се отбележи, че въвеждането на съвременни методи и тестове в лабораторната диагностика на ППИ, е важен момент по отношение ефективния контрол и лечението при тези инфекции. Препоръчително е извършване на съпоставяне на диагностичния потенциал на наличните в България молекулярногенетични, културелни и комерсиални методики за установяване на ППИ в клинични материали от пациенти и здрави индивиди. Търсенето и доказването на други причинители на ППИ в наличните клинични материали, както във връзка с определянето на тяхната честота на разпространение сред популацията или конкретна клинична група, така и за определяне на коинфекциите са начини за борба с тях.

Подобно на много други медико-социални проблеми, например самоубийство, алкохолизъм, рак и сърдечни заболявания, обяснението за увеличението на полово предавани инфекции има множество предпоставки. Отношението към секса и сексуалното поведение са се променили вследствие на разбирането и отношението на обществото към проблема:

- Възрастта на първото сношение е намаляла, а половината от всички тийнейджъри правят секс, преди 17-годишната си възраст.
- По данни от световната литература броят на хетеросексуалните партньори при мъжете и жените се е увеличил от 1990 г. насам, с най-високи показатели сред младите хора.
- Делът на мъжете и жените, които имат едновременно няколко връзки (с повече от един сексуален партньор по едно и също време се е увеличил.
- Населението сега е по-мобилно на национално и на международно ниво. Някои социални групи (туристи, професионални пътници, членовете на въоръжените сили, и имигрантите) са изложени на риск. Те са разделени от семействата си и социалното ограничение и е по-вероятно да имат сексуални контакти извън трайните си отношения. В допълнение, бедност, урбанизацията, войната, и социални миграции често водят до повишени нива на проституция.

Ако диагностиката е първи етап за установяване на причинителите на полово предаваните инфекции, то лечението е *задължителен етап* за оздравяване на пострадалите от съответното заболяване индивиди.

Назначената терапия винаги е индивидуална и се извършва като се отчита общият и локалният статус, засегнатият орган или органи и евентуално проведено предишно лечение. Понякога се налага прилагане на максимални дози или на различни комбинации от медикаменти. Курсът на лечение приключва след двукратно установени стерилни резултати от микробиологичните проби.

Болният трябва да знае, че:

- самолечението е най-неправилният подход при наличие на полово предавани инфекции;
- правилната диагноза е ключ към справяне с проблема;
- успехът на лечението е гаранция за запазване на фертилитета;
- се налага правилното му провеждане, изследване на партньорката и лекуването ѝ при необходимост;
- провеждане на консултации след преминалия терапевтичен курс с оглед предотвратяване на повторна залраза;
- приемът на контрацептивни средства от партньорката не я предпазва от заразяване с ППИ;
- всичко това трябва да протича съчетано с положително въздействие върху психиката;
- е необходимо повишаване нивото на грамотност и здравна култура.

Едновременното лечение на двамата или повече партньори е изключително важно при прилагане на схемите на противовъзпалителното лечение на уретрита, простатита, епидидимита. Причината за неудачно лечение на ППИ се явява неизползването на презервативи по време на лечението на съпружеската двойка, нови полови връзки по време на самото лечение, неадекватен подбор на антибактериалните средства, неизпълнение на лечебните препоръки, устойчивост на възбудителите към даден препарат.

Комплексната стратегия, съчетаваща ефективна просветителска работа с населението и усъвършенстване на системата на медицинското обслужване, може да окаже значително влияние на нивото на разпространение на ППИ и

техните усложнения. По-качествените медицински услуги способстват за излекуване на по-голям брой лица. По-добрата ефективна профилактика на заболяванията сред населението, особено когато тя е насочена към тези категории от населението, наречени рискови групи, може да съдейства за намаляване мащаба на проблемите, свързани с ППИ. Съвкупният ефект от подобна стратегия е в полза на цялото общество.

И З В О Д И

1. Представена и анализирана е структурата на бактериалните причинители на ППИ за периода на изследването, като са определени честотата и вариантите на коинфекции с *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. hominis*, *U. urealyiticum, M. genitalium* и *T. vaginalis* от материали от урогениталния тракт на инфертилни двойки.
2. Разработен е и въведен в диагностичната практика мултиплекс PCR за установяването на пет причинителя за половопредавани инфекции - *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. hominis*, *U. urealyiticum, M. genitalium*.
3. Потвърждава се честотата на *C. trachomatis* у нас (5,98%) като причинител на ППИ в сравнение с други български и чуждестранни проучвания.
4. Установените в еякулата генитални микоплазми (6,92%) и уреаплазми (5,76%) сред мъжките партньори на безплодни двойки в България са съпоставими с цитираните в литературата данни на Maeda S., et al. от 2004.
5. Установено е статитически значимо неблагоприятно влияние на проучваните причинители на ППИ върху параметрите на спермограмата както следва:
   - *N. gonorrhoeae* – морфологията и общия брой на сперматозоидите;
   - *C. trachomatis* – времето на втечняване на еякулата;
   - *U. Urealyticum* и *T. Vaginalis* – обема и вискозитета на еякулата, както и мотилитета и общия брой на сперматозоидите;
   - *M. genitalium* – втечняването на еякулата и виталитета на сперматозоидите;
6. В изследвания контингент мъже с инфертилитет са доказани причинители на ППИ в еякулата в 25,91%, данни които за първи път се съобщават в научната литература.
7. При адекватно своевременно лечение е постигнато пълно възстановяване на пораженията върху герминативния епител и другите части на мъжката полова система, както и параметри на спермограмата са в границите на нормата в 36,31%, описано за първи път в България.
8. Увеличаване на ролята на мъжкия фактор при безплодието е съвременна тенденция, която изисква прилагане на национални програми и нова здравна култура на населението.

ПРИНОСИ

Приноси с оригинален характер:

1. За първи път в България се провежда епидемиологично проучване за едновременно определяне честотата на хламидиалните, гонококцията, гениталните микоплазмени и трихомониалните инфекции на инфертилни пациенти чрез съвременни молекулярно-биологични методи.
2. Представени и анализирани са бактериалните причинители на ППИ за периода на изследването, като са определени техните честоти: *C. trachomatis (*5,98 %), *N. gonorrhoeae (*1,53 %), *M. hominis (*4,66 %), *U. urealyiticum (*5,76 %), *M. genitalium (*2,26 %) и протозоя *T. vaginalis (*6,27 %), *както и* вариантите на коинфекции с тях (1,17 %) от материали на мъже с фертилитетни проблеми.
3. Установен е съпоставим резултат *(*5,76 %) на позитивни находки *U. urealyticum* в пациентите с нарушен фертилитет спрямо литературните данни.
4. Установено е съществуването на статистическа зависимост между различните причинители на ППИ и оплодителната способност на мъжете от прекараните възпалителни процеси на различните нива на семенния тракт при мъжа.
    - *N. gonorrhoeae* - морфологията и общия брой на сперматозоидите;
    - *C. trahomatis* - втечняването;
    - *U. urealyticum* - обема, вискозитета, мотилитета и общия брой на сперматозоидите;
    - *M. genitalium* - втечняването и виталитета;
    - *T. vaginalis* - обема, вискозитета, мотилитета и броя на левкоцитите.

5. Установяват се следните статистически значими зависимости между микроорганизмите и някои параметри на спермограмата при определени диагнози:

    - *C. trahomatis* оказва влияние при епидидимита върху параметъра виталитет и при орхиепидидимита върху параметъра виталитет и параметъра морфология;
    - *M. hominis* – оказва влияние при орхиепидидимита - върху параметъра концентрация и параметъра общ брой на сперматозоидите в популацията, от която е направена извадката;

- *T. vaginalis* оказва влияние при: простатита – върху броя на левкоцитите и при епидидимита върху параметъра мотилитет.

6. За първи път у нас се представят обобщени данни за установените шест микроорганизми, причинители на ППИ при инфертилни мъже (25,91%).

Приноси с потвърдителен характер:

1. Потвърждава се отрицателният ефект на ППИ на гениталните органи при мъжа върху сперматогенезата и фертилитета.
2. Потвърждава се високата чувствителност на PCR метода за откриване част от генома на *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. hominis*, *U. urealyiticum, M. genitalium* и *T. vaginalis*.
3. Потвърждава се надеждността на PCR метода в диагностиката на хламидиалните ППИ в сравнение с клетъчно-културелния.

Приноси с научно-приложен характер:

1. Въведен е в андрологичната практика диагностичната мултиплекс PCR за установяването на пет причинителя за половопредавани инфекции - *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. hominis*, *U. urealyiticum, M. genitalium* при пациенти с нарушен фертилитет.
2. Препоръчва се методът да се прилага най-вече при пациенти, при които не е възможно да дават еякулат или даването за момента на изследването е противопоказно поради остър стадий на заболяването (уретрит, остър простатит, орхиепидидимит).
3. Ранното и адекватно лечение при установени ППИ на половите органи при мъжа е предпоставка за излекуване на заразата, възстановяване на сперматологичните параметри и съхраняване на неговия фертилитет.
4. Рискът от възникване на заболявания и тяхното разпространяване може да бъде намален при повишаване на здравната и сексуалната култура при подрастващите както и прилагане на различни здравни програми сред застрашени групи от обществото.

VII. Книгопис

1 **Боджева Е.,** Маринова М., Гърбачева М., Сербезов В. Диагноза на урогенитални инфекции с хламидиална етиология в хора. Акушерство и гинекология. 1983, 5:379-382.

2 **Борисов И.** Генитална хламидиална инфекция при жени, диагностицирана с новия Clearview Chlamydia diagnostic test. Акушерство и гинекология. 1994, 33:17-19.

3 **Бранкова Н.**, Панайотов С., Левтерова В., Кантарджиев Т. Скринингово проучване на асимптоматични пациенти за инфекция с Chlamydia trachomatis в София. Акушерство и гинекология 2006, 2:25-28.

4 **Георгиева Е.**, Панайотов С., Левтерова В., Кантарджиев Т. PCR метод за етиологична диагноза на полово предавана хламидиаза. Инфектология. 2003, 4:19-21.

5 **Давидова Р.,** С. Йочкова, Стратегии за подобряване на оплодителната способност на сперматозоидите чрез намаляване нивото на оксидативния стрес, Medicine, 2012, Vol. II, 1, 179-183).

6 **Димитров К.**, Мартинов С., Попов Г. Клинико-етиологични паралели на хламидиалния уретрит при мъже. Дерматология и венерология. 1984, 2:9-17.

7 **Димитров К.** Проучвания върху най-честите хламидиални инфекции в мъже и жени. Дисертация, 1985.

8 **Ел Тиби, Мохамед.** Възпалителни заболявания на мъжката полова система. Андрология, под редакцията на Й. Узунова 2011. С.189, 87-113.

9 **Ел Тиби, Мохамед.** Съвременни проучвания относно влиянието на възпалителните заболявания на половите органи при мъжа върху спермообразуването, инфертилитета и сексуалната функция, Дисертация за присъждане на образователна и научна степен „Доктор", 2013.

10 **Завьялов, А. И.** Лечение и профилактика гонореи: основные исторические вехи, Издательство Саратовского медицинского университета, 2006.

11 **Зозиков Б.** Неспецифични инфекции на пикочо-половата система, в Клинична урология. Изд. "Арсо". София, 2004. 173-233.

12 **Караджова Р.**, Карагьозов И., Мечанджиева В., Крутилин С., Цонева В. Клинични аспекти на генитална хламидиална инфекция при жени. Акушерство и гинекология. 1989, 28:69-75.

13 **Караджова Р.,** Маринова М., Борисов И., Цонева В. Хламидиални инфекции при жени с ектопична бременност. Акушерство и гинекология. 1991, 30:44-48.

14 **Караджова Р.,** Маринова М., Нейкова В., Борисов И., Цонева В. Нашият опит за диагностициране на хламидиален цервицит с Chlamydiazyme и Chlamyset antigen test. Акушерство и гинекология, 1992. 31:24-25.

15 **Майнхард К.,** Борисов И. Директен имунофлуоресцентен тест за диагноза на Chlamydia trachomatis в гинекологията. Акушерство и гинекология. 1995, 34:14-16.

16 **Мартинов С.,** Попов Г., Димитров К. Серологични проучвания върху хламидиални инфекции при негонококов уретрит и цервицит. Дерматология и венерология, 1983. 4:30-37.

17 **Мартинов С.**, Попов Г., Димитров К., Бонев А. Етиологични и клинични изследвания върху хламидиалния постгонококов уретрит при мъже. Дерматология и венерология, 1984. 4:24-30.

18 **Мартинов С.,** Димитров К., Попов Г. Проучвания върху цервицит, причинен от Chlamydia trachomatis. Дерматология и венерология, 1988. 2:12-19.

19 **Петрова Е.**, Янакиева Т., Дурмишев А. Честота и разпространение на генитална хламидиална инфекция при жени със стерилитет и техните партньори. Дерматология и венерология, 1997. 2:17-23.

20 **Пехливанов Г.** Проучвания върху съвременната епидемиология, клиника, лечение и организация на борбата с гонококцията в България. Дисертация за присъждане на образователна и научна степен „Доктор", 1991.

21 **Пехливанов Г.** и Славов Ч., под ред. на проф. Цанков Н., Уретритите и свързаните с тях състояния, „Агора АД", София, 2007.

22 **Попов Г.,** Мартинов С., Димитров К. Изолиране на Chlamydia trachomatis от пациенти с урогенитални инфекции и култивиране в жълтъчната торбичка на кокоши ембриони. Дерматология и венерология, 1986. 2:28-37.

23 **Райкова В.** Микробиологични проучвания върху *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis* и гениталните микоплазми като причинители на полово предавани инфекции. Дисертация за присъждане на образователна и научна степен „Доктор", 2010.

24 **Симеонов П.**, Ал. Заимов, Възпалителни заболявания на простатната жлеза-хроничен неспецифичен простатит. Урология, изд. Арсо, 2012. 201-203.

25 **Хараламбиева Я.** Получаване, охарактеризиране и проучване на биологичните свойства и диагностичния потенциал на моноклонални антитела срещу родовоспецифичния липополизахариден антиген на хламидиите. Дисертация за присъждане на образователна и научна степен „Доктор", 2003.

26 **Цветков Д.**, в Консервативна урология, под ред. на проф. Н. Минков. Изд. „Медицина и физкултура", София, 1985.

27 **Чернышева М. Л.,** Османов Э. М., Лебедев В. В., Чернышев А. В. Моделирование и прогнозирование риска бесплодия у мужчин по их медико-социальным характеристикам // Вестник ТГУ, 2011 - Т. 16. - Вып. 3. - С. 860-863.

28 **Чудомирова К.** Полово предавани болести и свързани с тях състояния при жени, считащи се здрави. *Автореферат* на дисертация за образователна и научна степен "доктор". Пловдив, 2000.

29 **Adu-Sarkodie Y.**, Opoku B. K., Danso K. A., Weiss H. A., Mabey D. Comparison of latex agglutination, wet preparation, and culture for the detection of Trichomonas vaginalis. Sex. Transm. Infect. 2004. 80:201-203.

30 **Agrawal T.**, Bhengraj AR, Vats V, Salhan S, Mittal A. Expression of TLR 2, TLR 4 and iNOS in cervical monocytes of Chlamydia trachomatis-infected women and their role in host immune response. Am J Reprod Immunol, 2011, 66, 534-543.

31 **Akduman D.,** Ehret J.M., Messina K., Ragsdale S., Judson F.N. Evaluation of a strand displacement amplification (BD Probtec-SDA) for detection of Neisseria gonorrhoeae in urine specimens. J. Clin. Microbiol. 2002, 40:281-283.

32 **Albert John Phillips**. Chlamydial Infections in Sexually Transmitted Diseases, Edited by Anita L. Nelson and JoAnn Woodward, Totowa, New Jersey Humana Press Inc., 2006. p. 127-152.

33 **Anagrius C.**, Loré B., Jensen J. S. Mycoplasma genitalium: prevalence, clinical significance, and transmission. Sex. Transm. Inf., 2005. 81, 458-462.

34 **Andrade-Roeha FT.** *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in men attending for routine semen analysis. Prevalence, incidence by age and clinical setting, influence on sperm characteristics, relationship with the leukocyte count and clinical value. *Urol Int.,* 2003; 71:377–381.

35 **Arnoult C** Escoffier J. Musch L Pierre V. Les phospholipases enzymes clés de la physiologie spermatique : Quels enjeux thérapeutiques? *Med Sci,* 2012. 28, 512-518.

36 **Auger J.**, M.D., Ph.D., Jean Marie Kunstmann, M.D., Françoise Czyglik, M.D., and Pierre Jouannet, M.D., Decline in Semen Quality among Fertile Men in Paris during the Past 20 Years, N. Engl. J. Med. 1995; 2, 332:281-285.

37 **Baczynska A.,** Hvid M, Lamy P., Birkelund S., Christiansen G., Fedder J. Prevalence of Mycoplasma genitalium, Mycoplasma hominis and Chlamydia trachomatis among danish patients requesting abortion. Syst. Biol. Reprod. Med. 2008; 54 (3):127 – 134.

38 **Badalyan RR**, Fanarjyan SV, Aghajanyan IG. Chlamydial and ureaplasmal infections in patients with nonbacterial chronic prostatitis. *Andrologia*. 2003, 35:263–265.

39 **Bandea C.I.**, Kubota K., Brown T.M., Kilmarx P.H., Bhullar V., Yanpaisarn S., Chaisilwattana P., Siriwasin W., Black C.M. Typing of Chlamydia trachomatis strains from urine samples by amplification and sequencing the major outer membrane protein gene (omp1). Sex. Transm. Infect. 2001, 77(6):419-422.

40 **Barnes R.C.** Laboratory diagnosis of chlamydial infections. Clin. Microbiol. Rev. 1989; 2:119.

41 **Batteiger B.E.,** Jones R.B. Chlamydial infections. Infect. Dis. Clin. North Am. 1987, 1:55-81.

42 **Battle T.J.,** Golden M.R., Suchland K.L., Counts J.M., Hughes J.P., Stamm W.E., Holmes K.K. Evaluation of laboratory testing methods for Chlamydia trachomatis infection in the era of nucleic acid amplification. J. Clin. Microbiol. 2001; 39(8):2924-7.

43 **Beverly A.L.,** Venglarik M., Cotton B., Schwebke J.R. Viability of Trichomonas vaginalis in transport medium. J. Clin. Microbiol. 1999; 37:3749– 3750.

44 **Bisno AL.** Acute pharyngitis. N Engl J Med, 2001; 344:205–11.

45 **Black C.M.** Current methods of laboratory diagnosis of Chlamydia trachomatis infections. Clin. Microbiol. 1997, Rev.10:160–84.

46 **Black C.M.**, Morse S.A. The Use of Molecular Techniques for the Diagnosis and Epidemiologic Study of Sexually Transmitted Infections. Curr. Infect. Dis. Rep. 2000; 2(1):31-43.

47 **Boman J.,** Gaydos C.A., Quinn T.C. Molecular diagnosis of Chlamydia pneumoniae infection. J. Clin. Microbiol.1999; 37(12):3791-3799.

48 **Bongaarts J.** Infertility after age 30: a false alarm. Fam Plann Perspect 1982; 14:75–8.8.

49 **Borchardt K.,** Smith R. An evaluation of an InPouch TV culture method for diagnosing Trichomonas vaginalis infection. Genitourin. Med., 1991; 67:149–152.

50 **Brade H.**, Brunner H. Serological cross-reaction between Acinetobacter calcoaceticus and Chlamydiae. J. Clin. Microbiol. 1979; 10:819-822.

51 **Brade H.,** Brunner H. Detection of chlamydial inclusion bodies with antisera to Acinetobacter calcoaceticus subsp. anitratus by indirect immunofluorescence. Infection. 1980; 8:215-216.

52 **Brade H.**, Brabetz W., Brade L., Holst O., Lobau S., Lucakova M., Mamat U., Rozalski A., Zych K., Kosma P. Chlamydial lipopolysaccharide. J.Endotoxin Res., 1997; 4(1):67-84.

53 **Brade L.,** Nurminen M., Mäkelä P.H., Brade H. Antigenic properties of Chlamydia trachomatis lipopolysaccharide. Infect. Immun. 1985; 48: 569-572.

54 **Brade L.,** Schramek S., Schade U., Brade H. Chemical, biological and immunochemical properties of the lipopolysaccharide of Chlamydia psittaci. Infect. Immun.1986; 54: 568-574.

55 **Brade L.,** Holst O., Kosma P., Zhang You-Xun, Paulsen H., Krausse R., Brade H. Characterization of murine monoclonal, murine, rabbit, and human polyclonal antibodies against chlamydial lipopolysaccharide. Infect. Immun. 1990; 58:205-213.

56 **Bradshaw CS,** Tabrizi SN, Read TRH, et al. Etiologies of nongonococcal urethritis: bacteria, viruses, and the association with orogenital exposure. J Infect Dis, 2006; 193:336–45.

57 **British Andrology Society Education Sub-committee.** Seminal Fluid Analysis and Anti-sperm Antibody Testing. Standard Operating Procedures – Laboratory Manual. 1997.[www.repromed.org.uk/bas/bas2000/Publications/labmanual.html] Accessed 21 November 2002

58 **Buckett W,** Bentick B. The epidemiology of infertility in a rural population. Acta Obstet Gynecol Scand 1997; 76:233–7.

59 **Burns**, A. August et al Where Women Have No Doctor: A Health Guide for Women. Berkeley: The Hesperian Foundation, 1997.

60 **Cai ZM.** Y chromosome microdeletion and male infertility: past, present and future. Zhonghua Nan Ke Xue. 2010; 16(5): 94.

61 **Carlsen et al.** Evidence for Decreasing Quality of Semen during Last 50 Years., Br Med J, 1992; 305:609-613.

62 **Cates W**, Farley TM, Rowe PJ. Worldwide patterns of infertility: is Africa different? Lancet, 1985; 2:596–598.

63 **Centers for Disease control and Prevention.** Recommendations for the prevention and management of Chlamydia trachomatis infections. Morbid. Mortal. Weekly Rep. 1993, 42(RR-12):1-39.

64 **Centers for Disease Control and Prevention (CDC).** Increases in fluoroquinolone-resistant Neisseria gonorrhoeae among men who have sex with men — United States, 2003, and revised recommendations for gonorrhea treatment, 2004. Morbidity and Mortality Weekly Report 2004. 53(16):335-338.

65 **Centers for Disease Control and Prevention (CDC).** Trends in reportable sexually transmitted diseases in the United States, 2006. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention; 2006. Available at www.cdc.gov/std/stats/trends2006.htm.

66 **Centers for Disease Control and Prevention** Update to CDC's sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2006: Fluoroquinolones no longer recommended for treatment of gonococcal infections. 2007, MMWR 56:332–336

67 **Centers for Disease Control and Prevention.** Sexually Transmitted Disease Surveillance, 2008. Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services, November 2009.

68 **Chavarro JE,** Toth TL, Wright DL, Meeker JD, Hauser R. Body mass index in relation to semen quality, sperm DNA integrity, and serum reproductive hormone levels among men attending an infertility clinic. Fertil Steril, 2009; 93, 2222-2231.

69 **Chen MY**, Rohrsheim R, Donovan B. The differing profiles of symptomatic and asymptomatic Chlamydia trachomatis-infected men in a clinical setting. Int J STD AIDS, 2007; 18:384–388.

70 **Chia S.**, C. Ong, L. Chua, L. Ho, S. Tay. Comparison of zink concentration in blood and seminal plasma and the various sperm parameters between fertile and infertile men. J. Androl., 21, 2000; 1, 53-57.

71 **Chowdhury TA**, Chowdhury TS, An overview of infertility, The ORION Medical Journal, 2009 Jan; 32(1):610-611.

72 **Clausen H.F.,** Fedder J., Drasbek M., Pernille K., Nielsen, Toft B., Ingerslev H.J., Birkelund S., Christiansen G. Serological investigation of Mycoplasma genitalium in infertile women.. Hum. Reproduct. 2001, 16(9):1866-1874.

73 **Cles L.D.,** Stamm W.E. Use of HL cells for improved isolation and passage of Chlamydia pneumoniae. J. Clin. Microbiol. 1990; 28:938-940.

74 **Cohen C.R.,** Manhart L.E., Bukusi E.A., Astete S., Brunham R.C., Holmes K.K., Sinei S.K., Bwayo J.J., Totten P.A. Association between Mycoplasma genitalium and acute endometritis. Lancet. 2002, 359(9308):765-6.

75 **Cohen D.A.,** Nsuami M., Martin D.H., Farley T.A. Repeated school-based screening for sexually transmitted diseases: a feasible strategy for reaching adolescents. Pediatrics. 1999; 104:1281-1285.

76 **Comhaire FH**, Rowe PJ, Farley TM. The effect of doxycycline in infertile couples with male accessory gland infection: a double blind prospective study. Int J Androl. 1986; 9:91-8.

77 **Corradi G.,** Bucsek M., Panovics J., Verebelyi A. , Kardos M., Kadar A., Frang D. Detection of Chlamydia trachomatis in the prostate by in-situ hybridization and by transmission electron microscopy. International J. Androl. 2008; 19(2):109 – 112.

78 **Cotch M.F.,** Pastorek J.G., Nugent R.P., Yerg D.E., Martin D.H., Eschenbach D.A. Demographic and behavioral predictors of Trichomonas vaginalis infection among pregnant women. The vaginal infections and prematurity study group. Obstet. Gynecol. 1991, 78(6):1087–1092.

79 **Creighton S**, Tenant-Flowers M, Taylor CB, Miller R, Low N. Co-infection with gonorrhoea and chlamydia: how much is there and what does it mean? Int J STD AIDS, 2003; 14:109–113.

80 **Cunningham, K.A.** & Beagley, K.W. Male genital tract chlamydial infection: implications for pathology and infertility. *Biology of Reproduction*, Vol. 79, No. 2, August 2008, pp. 180-189

81 **Davis CH**, et al. What is the best way to evaluate secondary infertility? The Journal of Family Practice. 2007; 56:573.

82 **De Barbeyrac B.,** Geniaux M, Hocke C., Dupon M., Bebear C., Detection of Chlamydia trachomatis in symptomatic and asymptomatic populations with urogenital specimens by AMP CT (Gen-probe incorporated) compared to others commercially available amplification assays. Diagn Microbiol Infect Dis., 2000; 37(3):181-5.

83 **De Melo-Martin I**, Относно клонирането на хора. Биоетика, 2002; 16, № 3: 246-265, на 254.

84 **Diemer T**, Huwe P, Michelmann HW, Mayer F, Schiefer HG and Wiedner W Escherichia coli-induced alterations of human spermatozoa. Anelectron microscopy analysis. Int J Androl, 2000; 23: 178-186.

85 **Dimitrakov J.,** Ganev V., Zlatanov T., Detchev I., Horvat A., Kirov S., Vatchkova I., Dimitrakov D. PCR studies on the presence of Chlamydia trachomatis in the upper urinary tract of patients with obstructive pyelonephritis. Folia Med. 1998; 40(3):24-28.

86 **Dogan M.,** Gunyeli I., Yilmaz B., Gokturk U., Mollamahmutoglu L. The prevalence of Chlamydia tarchomatis, Ureaplasma urealyticum, Neisseria gonorrhoeae and other infectious microorganisms of low genital tract in first trimester pregnancies. Jinekoloji-Obstetrik ve Neonatoloji. 2008.

87 **Dohle et al.,** G.M. Colpi, T.B. Hargreave, G.K. Papp, A. Jungwirth, W. Weidner, The EAU Working Group on Male Infertilityp Eur. Urol. 2005; 48, 703–711.

88 **Dohle, G. R.**, Should We Bother About Male Accessory Gland Infection? ART for male infertility: looking beyond the sperm, European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), COURSE 2, Prague - Czech Republic. 18 June 2006, p. 13-17.

89 **Domeika M.**, Drulyte O. Use of PCR for the detection of genital Chlamydia trachomatis infection on self-obtained mailed vaginal samples. Acta Obstet. Gynecol. Scand. 2000; 79(7):570-575.

90 **Donckers J,** Evers JLH, Land JA. The long-term outcome of 946 consecutive couples visiting a fertility clinic in 2001-2003. *Fertil Steril,* 2011; 96, 160-164.

91 **Dowell S.F.,** Peeling R.W., Boman J., Carlone G.M., Fields B.S., Guarner J., Hammerschlag M.R., Jackson L.A., Kuo C.C., Maass M., Messmer T.O., Talkington D.F., Tondella M.L., Zaki S.R.; C. pneumoniae Workshop Participants. Standardizing Chlamydia pneumoniae assays: recommendations from the Centers for Disease Control and Prevention (USA) and the Laboratory Centre for Disease Control (Canada). Clin. Infect. Dis. 2001, 33(4):492-503.

92 **Egnatz DG,** Ott MG, Townsend JC, Olson RD, Johns DB. DBCP and testicular effects in chemical workers: an epidemiological survey in Midland, Michigan. J Occup Med 1980; 22:727–32.

93 **Eley A,** Pacey AA, Galdiero M, Galdiero M, Galdiero F. Can *Chlamydia trachomatis* directly damage your sperm? *Lancet Infect Dis,* 2005; 5, 53-57.

94 **European.** *Assisted Reproductive Technology in Europe, 2001. Results;* 2005.

95 **Everett K.D.,** Bush R.M., Andersen A.A. Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. Int. J. Syst. Bacteriol. 1999, 49 Pt 2:415-440.

96 **Ević B.**, Habek J.C., Habek D. Prevalence of infection with Neisseria gonorrhoeae or Chlamydia trachomatis in acute mucopurulent cervicitis. Arh. Hig. Rada. Toksikol. 2009; 60(2):197-203.

97 **Falk L.,** Fredlund H., Jensen J.S. Signs and symptoms of urethritis and cervicitis among women with or without Mycoplasma genitalium or Chlamydia trachomatis infection. Sex. Transm. Infect. 2005, 81(1): 73–78.

98 **Farencena A.,** Comanducci M., Donati M., Ratti G., Cevenini R. Characterization of a new isolate of Chlamydia trachomatis which lacks the common plasmid and has properties of biovar trachoma. Infect. Immun. 1997, 65:2965 - 2969.

99 **Farley TA**, Cohen DA, Elkins W. Asymptomatic sexually transmitted diseases: the case for screening.Prev Med, 2003; 36:502–509.

100 **Fernandes A.M.**, Daher G., Nuzzi R.X., Petta C.A. Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae among women in a family planning clinic. Rev. Bras. Ginecol. Obstet. 2009; 31(5):235-40.

101 **Fleming D.T.,** Wasserheit J.N. From epidemiological synergy to public health policy and practice: the contribution of other sexually transmitted diseases to sexual transmission of HIV infection. Sex. Transmitt. Infect. 1999, 75:3-17.

102 **Fraczek M.**, Kurpisz M. Inflammatory mediators exert toxic effects of oxidative stress on human spermatozoa. J Androl, 2007; 28:325 – 33. doi:10.2164/jandrol.106.001149.

103 **Freund M.** Interrelationships among the characteristics of human semen and factors affecting semen-specimen quality. Reprod Fertil, 1962; 4:143–59.

104 **Frutos R.,** Pages M., Bellis M., Roizes G., Bergoin M. Pulsed-field gel electrophoresis determination of the genome size of the obligate intracellular bacteria belonging to the genera Chlamydia, Rickettsiella and Prochlamydia. J. Bacteriol. 1989, 171:4511-4513.

105 **Fu Y.,** Baumann M., Kosma P., Brade L., Brade H. A synthetic glycoconjugate representing the genus-specific epitope of chlamydial lipopolysaccharide exhibits the same immunoreactivity as its natural counterpart. Infect. Immun. 1992; 60:1314-1321.

106 **Gallegos G.**, Ramos B, Santiso R, Goyanes V, Gosalvez J, Fernandez JL. Sperm DNA fragmentation in infertile men with genitourinary infection by Chlamydia trachomatis and Mycoplasma. Fertil Steril 2008; (in press). Published online ahead of print 20 October 2007; doi: 10.1016/j. fertnstert.2007.06.035.

107 **Gilson L.**, Mkanje R., Grosskurth H., Mosha F., Picar .J, Gavyole A., Todd J., Mayaud P., Swai R., Fransen L., Mabey D., Mills A., Hayes R. Cost-effectiveness of improved treatment services for sexually transmitted diseases in preventing HIV-1 infection in Mwanza Region, Tanzania. Lancet. 1997, 350:1805-09.

108 **Golden M.R.,** Hughes J.P., Cles L.E., Crouse K., Gudgel K., Hu J., Swenson P.D., Stamm W.E., Handsfield H.H. Positive predictive value of Gen-Probe APTIMA Combo 2 testing for Neisseria gonorrhoeae in a population of women with low prevalence of N. gonorrhoeae infection. Clin. Infect. Dis. 2004, 39:1387-90.

109 **Golshani M.**, Taheri S, Eslami G, Suleimani Rahbar AA, Fallah F and Gourdazi H Genital tract infection in asymptomatic infertile men and its effect on semen quality. Ir J Publ Health, 2006; 35(3):81-84.

110 **Goulet V,** De Barbeyrac B, Raherison S, Prudhomme M, Velter A, Semaille C, Warszawski J. Enquête nationale de prévalence de l'infection à Chlamydia trachomatis : à quelles personnes proposer un dépistage ? *BEH* n°12. 2011.

111 **Grabe M.,** Bishop MC, Bjerklund-Johansen TE, Botto H, Cek M, Lobel B, Naber KG, Palou J, Tenke P, Wagenlehner F Guidelines on urological infections. European Association of Urology (Hrsg.) EAU Urological Guidelines, Arnhem, 2009; www.uroweb.org

112 **Guaschino S.,** De Seta F. Update on Chlamydia trachomatis. Ann. N. Y. Acad. Sci., 2000; 900:293– 300.

113 Haidl G., Schill WB. Guidelines for drug treatment of male infertility. Drugs. 1991; 41:60-8.[PubMed]

114 **Han XD**, Wang Y, Chen JX. A comparative study on interrelations among microelements, infection of *Ureaplasma urealyticum*, and male infertility. *Arch Androl.* 2003; 49:265–269.

115 **Hardick J.,** Yang S., Lin S., Duncan D., Gaydos C. Use of the Roche LightCycler instrument in a real-time PCR for Trichomonas vaginalis in urine samples from females and males. J. Clin. Microbiol. 2003; 41:5619–22.

116 **Harrison's** Principles of Internal Medicine. 13th ed. New york, McGraw hill; 1994: 2006-2017.

117 **Hindiyeh M.,** Carroll K.C. Laboratory diagnosis of atypical pneumonia. Semin. Respir. Infect. 2000; 15(2):101-113.

118 **Hobbs M.,** Kazembe P., Reed A., Miller W., Nkata E. Trichomonas vaginalis as a cause of urethritis in malawian men. Sex. Transm. Dis. 1999, 26(7):381-387.

119 **Hogberg U,** Sandstrom A, Nilsson NG. Reproductive patterns among Swedish women born 1936–1960. Acta Obstet Gynecol Scand, 1992; 71:207–14.

120 **Hook E.W.,** Handsfield H.H. Gonococcal infections in the adult. In Holmes KK, Sparling PF, et al eds. Sexually Transmitted Diseases 3rd ed. New York, NY. McGraw Hill. 1999; 451-66.

121 **Hook E.W.,** Trichomonas vaginalis — no longer a minor STD. Sex. Transm. Dis. 1999; 26: 388–389.

122 **Horii T.,** Ohtsuka H., Osaki M., Ohkuni H. (2009) Use of a dual priming oligonucleotide system to detect multiple sexually transmitted pathogens in clinical specimens. Lett. Appl. Microbiol. 2009; 49(1):46 – 52.

123 **Hosseinzadeh S,** Eley A, Pacey AA. Semen quality of men with asymptomatic chlamydial infection. J Androl, 2004, 25, 104-109.

124 **Hull MG,** Glazener CM, Kelly NJ, Conway DI, Foster PA, Hinton RA, et al. Population study of causes, treatment, and outcome of infertility. BMJ 1985; 291:1693–7.

125 **Ison C.,** Mouton J., Jones K. et al. Which cephalosporin for gonorrhoea? Sex Transm Infect. 2004 Oct; 80, 5: 368 – 8 http://sti.bmjjournals.com

126 **Jackson D.J.,** Rakwar J.P., Bwayo J.J., Kreiss J.K., Moses S. Urethral Trichomonas vaginalis infection and HIV-1 transmission. Lancet. 1997, 350(9084):1076.

127 **Jaquier AM.** *Clinical andrology - still a major problem in the treatment of infertility*. Hum. Reprod. 2004; 19:1245-9.

128 **Jaschek G.**, Gaydos C., Welsh L. and Quinn T.C. Direct detection of *Chlamydia trachomatis* in urine specimens from symptomatic and asymptomatic men by using a rapid polymerase chain reaction assay. J. Clin. Microbiol. 1993, 31:1209-1212.

129 **Jensen J.S.** Mycoplasma genitalium: the aetiological agent of urethritis and other sexually transmitted diseases. J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. 2004; 18(1):1-11.

130 **Jensen TK,** Andersson AM, Jørgensen N, Andersen AG, Carlsen E, Petersen JH, Skakkebaek NE, 2004. Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones among 1,558 Danish men. *Fertil Steril* 82, 863-870.

131 **Jephcott A.E.** Microbiological diagnosis of gonorrhoea. Genitourin Med. 1997, 73:245-52.

132 **Jequier A.,** The Management of the Infertile Male: The Limitations of a Semen Analysis and the Importance of the Clinical Assessment, ART for male infertility: looking beyond the sperm, European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), COURSE 2, Prague - Czech Republic, 18 June 2006, p 3-7.

133 **John S Moran**, Gonorrhoea, BMJ Publishing Group, Published online 1 March 2007.

134 **Johnson G,** Roberts D, Brown R, Cox E, Evershed Z, Goutam P, et al. Infertile or childless by choice? A multipractice survey of women aged 35 and 50. BMJ 1987; 294:804–6.

135 **Jungwirth A.,** Straberger A, Esterbauer B, Fink K, Schmeller N. Acrosome reaction in Chlamydia-positive and -negative patients. Andrologia, 2003; 35:314–316.

136 **Kalman S.,** Mitchell W., Marathe R., Lammel C., Fan J., Hyman R.W., Olinger L., Grimwood J., Davis R.W. and Stephens R. Comparative genomes of Chlamydia pneumoniae and Chlamydia trachomatis. Nature Genetics. 1999, 21:385-389.

137 **Kamel RM.** Management of the infertile couple: An evidence-based protocol. Reproductive Biology and Endocrinology. 2010; 8:21.

138 **Kaydos S.C.,** Swygard H., Wise S.L., Sena A.C., Leone P.A., Miller W.C., Cohen M.S., Hobbs M.M. Development and validation of a PCR enzyme-linked immunosorbent assay with urine for use in clinical research settings to detect Trichomonas vaginalis in women. J. Clin. Microbiol. 2002; 40:89–95.

139 **Kaydos-Daniels S.C.,** Miller W.C., Hoffman I., Banda T., Dzinyemba W., Martinson F., Cohen M.S., Hobbs M.M. Validation of a urine-based PCR-enzyme-linked immunosorbent assay for use in clinical settings to detect Trichomonas vaginalis in men. J. Clin. Microbiol. 2003; 41:318–23.

140 **Kelly A.** Cunningham and Kenneth W. Beagley, Male Genital Tract Chlamydial Infection: Implications for Pathology and Infertility, BIOLOGY OF REPRODUCTION, August 1, 2008; 79, № 2, 180–189.

141 **Kent CK**, Chaw JK, Wong W, et al. Prevalence of rectal, urethral, and pharyngeal chlamydia and gonorrhea detected in 2 clinical settings among men who have sex with men: San Francisco, California, 2003. Clin Infect Dis. 2005; 41:67–74.

142 **Kilic D**, Basar MM, Kaygusuz S, et al. Prevalence and treatment of *Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum,* and *Mycoplasma hominis* in patients with non-gonococcal urethritis. *Jpn J Infect Dis.* 2004; 57:17–20.

143 **Kirk E.**, Bora S., Van Calster B., Condous G., Van Huffel S., Timmerman D., Bourne T.: C. trachomatis infection in patients attending an Early Pregnancy Unit: prevalence, symptoms, pregnancy location and viability. Acta Obstet. Gynecol. Scand. 2008; 87(6):601-7.

144 **Knox J.,** Tabrizi S.N., Miller P., Petoumenos K., Law M., Chen S., Garland S.M. Evaluation of self-collected samples for Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, and Trichomonas vaginalis by polymerase chain reaction among women living in remote areas. Sex. Transm. Dis. 2002, 29:697-654.

145 **Kodner C.** Sexually transmitted infections in men. Prim Care. 2003; 30: 173–91.

146 **Kohn FM**, Erdmann I, Oeda T, el Mulla KF, Schiefer HG, Schill WB. Influence of urogenital infections on sperm functions. Andrologia. 1998; 30 (Suppl. 1):73–80

147 **Kort HI,** Massey JB, Elsner CW, Mitchell-Leef D, Shapiro DB, Witt MA, Roudebush WE. Impact of body mass index values on sperm quantity and quality. *J Androl,* 2006; 27, 450-452.

148 **Kostiukova N.N.,** Bekhalo V.A. Epidemic process of gonorrhea in modern world. Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 2009, (1):87-93.

149 **Koumans E.H.,** Johnson R.E., Knapp J.S., St. Louis M.E. Laboratory testing for Neisseria gonorrhoeae by recently introduced nonculture tests: a performance review with clinical and public health considerations. Clin. Infect. Dis. 1998, 27:1171–1180.

150 **Krause W.** Contribution of andrological factors to sterility. Andrologia, 28, 1996; Suppl. 1, 15-17.

151 **Krieger J.N.,** Tam M.R., Stevens C.E., Nielsen I.O., Hale J., Kiviat N.B., Holmes K.K. Diagnosis of Trichomoniasis. Comparison of conventional wet-mount examination with cytologic studies, cultures, and monoclonal antibody staining of direct specimens. JAMA. 1988, 259(8):1223-1227.

152 **Krieger JN** New sexually transmitted diseases treatment guidelines. J Urol, 1995, 154:209–213.

153 **Kruger TF, et al.,** Male Infertility: Diagnosis and Treatment, 1986, Taylor & Francis, 23.01.2007 г. - 496 стр.

154 **Kuohung W,** et al. Infertility overview. http://www.uptodate.com/home/index.html. Accessed Dec. 13, 2010.

155 **La Montagne DS**, Fenton KA, Randall S, Anderson S, Carter P. Establishing the National Chlamydia Screening Program in England: results from the first full year of screening. Sex Transm Infect, 2004; 80: 335–341.

156 **La Vignera S,** Vicari E, Condorelli RA, D'Agata R, Calogero AE. Male accessory gland infection and sperm parameters (review). *Int J Androl,* 2011; 34, e 330-347.

157 **Lawing L.F.,** Hedges S.R., Schwebke J.R. Detection of trichomonosis in vaginal and urine specimens from women by culture and PCR. J.Clin.Microbiol. 2000; 38:3585-3588.

158 **Lee S.R.,** Chung J.M., Kim Y.G. Rapid one step detection of pathogenic bacteria in urine with sexually transmitted disease (STD) and prostatitis patient by multiplex PCR assay (mPCR). J. Microbiol. 2007, 453-459.

159 **Leke RJ,** Oduma JA, Bassol-Mayagoitia S, Bacha AM, Grigor KM. Regional and geographical variations in infertility: effects of environmental, cultural, and socioeconomic factors. Environ Health Perspect, 1993; 101 Suppl 2: 73-80.

160 **Lima Freitas NS,** Borborema-Santos CM, Barroso Serrão das Neves D, Costa de Oliveira CM, Dutra Ferreira JR, Astolfi-Filho S. High prevalence detection of *Chlamydia trachomatis* by polymerase chain reaction in endocervical samples of infertile women attending university hospital in Manaus-Amazonas, Brazil. *Gynecol Obstet Invest,* 2011; 72, 220-226.

161 **Lin P.R.**, Shaio M.F., Liu J.Y. One-tube, nested-PCR assay for the detection of Trichomonas vaginalis in vaginal discharges. Ann.Trop.Med. Parasitol. 1997; 91:61-65.

162 **Lynch C. M.,** Felder T. L., Schwandt R. A., Shashy R. G. Lymphogranuloma venereum presenting as a rectovaginal fistula. Infect. Dis. Obstet. Gynecol. 1999; 7:199 - 201.

163 **Lyss SB**, Kamb ML, Peterman TA et al; Project RESPECT Study Group. Chlamydia trachomatis among patients infected with and treated for Neisseria gonorrhoeae in sexually transmitted disease clinics in the United States. Ann Intern Med, 2003; 139:178–185.

164 **MacLeod J.** Human seminal cytology as a sensitive indicator of the germinal epithelium. Int J.Fertil 1964; 9:281–95.

165 **Madico G.,** Quinn T.C., Rompalo A., McKee K. T.Jr., Gaydos C.A. Diagnosis of Trichomonas vaginalis infection by PCR using vaginal swab samples. J. Clin. Microbiol. 1998, 36:3205–3210.

166 **Maeda S,** Deguchi T, Ishiko H, Matsumoto T, Naito S, Kumon H, Tsu-kamoto T, Onodera S, Kamidono S: Detection of *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum* (biovar 1) and *Ureaplasma urealyticum* (biovar 2) in patients with non-gonococcal urethritis using polymerase chain reaction-microtiter plate hybridization. *Int J Urol,* 2004, 11:750-4.

167 **Mahafzah A.M.**, Al-Ramahi M.Q., Asa'd A.M., El-Khateeb M.S. Prevalence of sexually transmitted infections among sexually active Jordanian females. Sex. Transm. Dis. 2008; 35(6):607-10.

168 **Malka R.**, Levi H., Kahane I., Bartoov B. Dual Energy Metabolism-Dependent Effect of Ureaplasma urealyticum Infection on Sperm Activity. J. Andrology, 2001; 22: 404–412.

169 **Marchbanks PA,** Peterson HB, Rubin GL, Wingo PA. Research on infertility: definition makes a difference. The Cancer and Steroid Hormone Study Group. Am J Epidemiol, 1989; 130:259–67.

170 **Marconi M.**, Pilatz A, Wagenlehner F, Diemer T, Weidner W Are antisperm antibodies really associated with proven chronic inflammatory and infectious diseases of the male reproductive tract? Eur Urol, 2009; 56:708–715.

171 **Mardh P.A.,** Novikova N. Chlamydia trachomatis infections--a major concern for reproductive health. Where do we stand regarding epidemiology, pathogenesis, diagnosis and therapy? Eur. J. Contracept. Reprod. Health, 2001; 6(2):115-126.

172 **Marshall FF,** Chang T, Vindivich D. Microsurgical vasoepididymostomy to corpus epididymidis in treatment of inflammatory obstructive azoospermia. *Urology* 30, 1987; 565-567.

173 **Matzuk MM**, Lamb DJ., Genetic dissection of mammalian fertility pathways. Nat Cell Biol., 2002 Oct; 4 Suppl:s 41-9.

174 **Mazzoli S,** Cai T, Addonisio P, Bechi A, Mondaini N, Bartoletti R. *Chlamydia trachomatis* infection is related to poor semen quality in young prostatitis patients. *Eur Urol,* 2010; 57, 708-714.

175 **McIver C.J.**, Rismanto N., Smith C., Naing Z.W., Rayner B., Lusk M.J., Konecny P., White P.A., Rawlinson W.D. Multiplex PCR testing detection of higher-than-expected rates of cervical Mycoplasma, Ureaplasma, and Trichomonas and Viral agent infections in sexually active australian women. J. Clin. Microbiol, 2009; 47(5):1358-1363.

176 **McNagny SE**, Parker RM, Zenilman JM, Lewis JS. Urinary leukocyte esterase test: a screening method for the detection of asymptomatic chlamydial and gonococcal infections in men. J Infect Dis. 1992; 165:573-576.

177 **Menkveld R. and Kruger T. F.** Sperm morphology and male urogenital infections. Andrologia Volume 30, Issue S1, 12, 1998; pages 49-53.

178 **Mertz K.J.,** McQuillan G.M., Levine W.C., et al. A pilot study of the prevalence of chlamydial infections in a national household survey. Sex. Transm. Dis. 1998; 25:225-228.

179 **Michael Adler**, Frances Cowan, Patrick French, Helen Mitchell, and John Richens, ABC OF SEXUALLY TRANSMITTED INFECTIONS, BMJ Books, London. 2004; p. 3-6.

180 **Michel CE**, Sonnex C, Carne CA, White JA, Magbanua JP, Nadala EC Jr, Lee HH. Chlamydia trachomatis load at matched anatomic sites: implications for screening strategies. J Clin Microbiol, 2007; 45:1395–1402.

181 **Miller M.,** Liao Y., Gomez A.M., Gaydos C.A., D'Mellow D. Factors associated with the prevalence and incidence of Trichomonas vaginalis infection among African American women in New York city who use drugs. J. Infect. Dis. 2008, 197:503–509.

182 **Miller WC**, Ford CA, Morris M, et al. Prevalence of chlamydial and gonococcal infections among young adults in the United States. JAMA. 2004; 291:2229-2236.

183 **Miller W.C.,** Swygard H., Hobbs M.M., Ford C.A., Handcock M.S., Morris M., Schmitz J.L., Cohen M.S., Harris K.M., Udry J.R. The prevalence of trichomoniasis in young adults in the United States. Sex. Transm. Dis. 2005, 32:593–598.

184 **Miller, K.E.** Diagnosis and treatment of Chlamydia trachomatis infection. *American Family Physician*, Vol. 73, No. 8, April 2006; pp. 1411-1416

185 **Miyashita N.,** Matsumoto A., Fukano H., Niki Y., Matsushima T. The 7.5-kb common plasmid is unrelated to the drug susceptibility of Chlamydia trachomatis. J. Infect. Chemother. 2001, 7:113 - 116.

186 **Moi H.**, Reinton N., Moghaddam A. Mycoplasma genitalium is associated with symptomatic and asymptomatic non-gonococcal urethritis in men. Sex. Transm. Infect. 2009; 85:15–18.

187 **Moncada J.,** Schachter J., Hook E.W., Ferrero D., Gaydos C., Quinn T.C., Willis D., Weissfield A., Martin D.H. The effect of urine testing in evaluations of the sensitivity of the Gen-Probe APTIMA Combo 2 assay on endocervical swabs for Chalymdia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae. Sex. Transm. Dis. 2004, 31:273-277.

188 **Monika Fraczek**, Anna Szumala-Kakol, Grzegorz Dworacki, Dorota Sanocka, Maciej Kurpisz , In vitro reconstruction of inflammatory reaction in human semen: effect on sperm DNA fragmentation Journal of Reproductive Immunology 01.2013; 100(1):76–8.

189 **Morre S.**, Van Valkengoed I., Moes R., Boeke A., Meijer C., Van den Brule A. Determination of Chlamydia trachomatis prevalence in an asymptomatic screening population: performances of the LCx and COBAS Amplicor tests with urine specimens. J. Clin. Microbiol. 1999; 37(10):3092-6.

190 **Moulder J.W.** Interaction of chlamydiae and host cells in vitro. Microbiol. 1991, Rev. 55:143-190.

191 **Mulhall BP**, Hart G, Harcourt C. Sexually transmitted diseases in Australia: a decade of change. Epidemiology and surveillance. Ann Acad Med Singapore. 1995 Jul; 24(4):569-78.

192 **Nassar F.A.**, Abu-Elamreen F.H., Shubair M.E., Sharif F.A. Detection of Chlamydia trachomatis and Mycoplasma hominis, genitalium and Ureaplasma urealyticum by Polymerase Chain Reaction in patients with sterile pyuria. Adv. Med. Scien. 2008; 53(1):80-86.

193 **Nguyen, C.T.** & Shoskes, D.A. Evaluation of the prostatitis patient, In: *Chronic Prostatitis/Chronic Pelvic Pain Syndrome*, D.A. Shoskes (Ed.), 2008. pp. 1-16.

194 **Nieschlag E.** Scope and Goals of Andrology. In. *Andrology. Male reproductibe health and dysfunction, Nieschlag E.,H. Behre /eds./,* Springer, Berlin, 1997, 3-8.

195 **Noblanc A,** Kocer A, Drevet JR. Protection post-testiculaire des gamètes mâles contre les dommages radicalaires : le rôle de l'épididyme. *Med Sci,* 2012; 28, 519-525.

196 **Novak DP**, Karlsson RB. Simplifying chlamydia testing: an innovative Chlamydia trachomatis testing approach using the internet and a home sampling strategy – population based study. Sex Transm Infect, 2006; 82:142–147.

197 **Nunez-Calonge R.**, Caballero P., Redondo C., Baquero F., Martinez-Ferrer M., Meseguer MA. Ureaplasma urealyticum reduces motility and induces membrane alterations in human spermatozoa. *Hum Reprod.* 1998; 13*:* 2756–2761.

198 **Nurminen M.,** Leinonen M., Saikku P, Makela P.H. The genus-specific antigen of Chlamydia: resemblance to the lipopolysaccharide of enteric bacteria. Science, 1983; 220:1279-1281.

199 **Nurminen M.,** Wahlstrom E., Kleemola M., Leinonen M., Saikku P., Makela P.H.Immunologically related ketodeoxyoctonate-containing structures in Chlamydia trachomatis, Re mutants of Salmonella species, and Acinetobacter calcoaceticus var. anitratus. Infect. Immun. 1984; 44: 609-613.

200 **Ochsendorf FR,** Ozdemir K, Rabenau H, Fenner T, Oremek R, Milbradt R, Doerr HW. Chlamydia trachomatis and male infertility: chlamydia-IgA antibodies in seminal plasma are C. trachomatis specific and associated with an inflammatory response. *J Eur Acad Dermatol Venereol,* 1999; 12, 143-152.

201 OMS. Prevalence and incidence of selected sexually transmitted infections. Organisation Mondiale de la Santé. http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241502450_eng.pdf

202 **Osegbe DN.** Testicular function after unilateral bacterial epididymo-orchitis. *Eur Urol,* 1991; 19, 204-208.

203 Ostergaard L. Diagnosis of urogenital Chlamydia trachomatis infection by use of DNA amplification. APMIS, 1999; 89:5-36.

204 **Page H.** Estimation of the prevalence and incidence of infertility in a population: a pilot study.Fertil Steril, 1989; 51:571–7.

205 **Palladino S.,** Pearman J.W., Kay I.D., Smith D.W., Harnett G.B., Woods M., Marshall L., McCloskey J. (1999) Diagnosis of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae, genitourinary infections in males by the Anplicor PCR assay of urines. Diagn. Microbiol. Infect .Dis. 33:141-6.

206 **Papagrigoriadis S.,** Rennie J.A. Lymphogranuloma venereum as a cause of rectal strictures. Postgrad. Med. J. 1998, 74:168- 69.

207 **Parikh U. R., et al.,** Diagnostic utiity of fnac in HIV positive lymphadenopathy, J. Clin. Res. Lett. 2012, Volume 3, Issue 2, pp.37-40.

208 **Pearlman M.D.,** McNeeley S.G. A review of the microbiology, immunology, and clinical implications of Chlamydia trachomatis infections. Obstet. Gynecol. Surv. 1992, 47:448-461.

209 **Poland ML**, Moghissi KS, Giblin PT, Ager JW, Olson JM. Variation of semen measures within normal men. Fertil Steril 1985;44:396–400

210 **Potts JM**, Sharma R, Pasqualotto F, et al. Association of *Ureaplasma urealyticum* with abnormal reactive oxygen species levels and absence of leukocytospermia. *J Urol.* 2000; 163:1775–1778.

211 **Purvis K.**, Christiansen E. Male infertility: current concepts. Ann. Med. 1992; 24:259–272.

212 **Rachootin P,** Olsen J. Prevalence and socioeconomic correlates of subfecundity and spontaneous abortion in Denmark. Int J Epidemiol, 1982; 11:245–9.

213 **Rahman S.**, Garland S., Currie M., Tabrizi S.N., Rahman M., Nessa K., Bowden F.J. Prevalence of Mycoplasma genitalium in health clinic attendees complaining of vaginal discharge in Bangladesh. Int. J. STD AIDS. 2008, 19(11):772-4.

214 **Rantala M-L,** Koskimies AI. Infertility in women participating in a screening program for cervical cancer in Helsinki. Acta Obstet Gynecol Scand, 1986; 65:823.

215 **Raymond JG**, Women as Wombs: Reproductive Technologies and the Battle over Women's Freedom (San Francisco: Harper Collins Publishers, 1993, at 6.)

216 **Reichart M,** Kahane I, Bartoov B. In vivo and in vitro impairment of human and ram sperm nuclear chromatin integrity by sexually transmitted Ureaplasma urealyticum infection. *Biol Reprod,* 2000; 63, 1041- 1048.

217 **Richmond S.J.,** Caul E.O. Fluorescent antibody studies in chlamydial infections. J. Clin. Microbiol. 1975; 1:345-352.

218 **Rietmeijer C.A.M.**, Judson F.N., van Henshroek M.B., Ehret J.M., Douglas J.M. Unexpected Chlamydia trachomatis infection in heterosexual men attending a sexually transmitted diseases clinic: evaluation of the risk factors and screening methods. Sex. Transm. Dis. 1991), 18:28-35.

219 **Ripa T.K.** (1982) Biological principles of culture of Chlamydia trachomatis in cell monolayers. Scan. J. Infect. Dis. Suppl. 32:25-29.

220 **Roblin P.M.,** Dumornay W. and Hammerschlag M.R. Use of HEp-2 cells for improved isolation and passage of Chlamydia pneumoniae. J. Clin. Microbiol. 1992; 30:1968-1971.

221 **Rusz A.**, A. Pilatz et al. Influence of urogenital infections and inflammation on semen quality and male fertility Word Journal of Urology.01.02. 2012; Volume 30, Issue1, pp 23-30.

222 **Rybar R,** Kopecka V, Prinosilova P, Markova P, Rubes J. Male obesity and age in relationship to semen parameters and sperm chromatin integrity. *Andrologia* 2011; 43, 286-291.

223 **Sandro C. Esteves,** Ashok Agarwal, Novel concepts in male infertility, Int Braz J Urol. 2011; 37: 5-15.

224 **Schachter J.,** Grossman M. Chlamydial infections. Annu. Res. Med. 1981; 32:45-61.

225 **Schachter J.**, Stoner E., Moncada J. Screening for chlamydial infections in women attending family planning clinics. West. J. Med. 1983; 138:375-379.

226 **Schachter J.** Why we need a program for the control of Chlamydia trachomatis? N. Engl. J. Med. 1989, 320:802-804.

227 **Schachter J.** Epidemiology of human chlamydial infections. Proc. Fourth Meeting of the Eur. Soc. For Chlamydial Res. Helsinki, Finland, 20-23.08.2000., Ed: P. Saikku, 2000; p.307-310.

228 **Schmidt L,** Munster K, Helm, P. Infertility and the seeking of infertility treatment in a representative population. Br J Obstet Gynaecol, 1995; 102:978–84.

229 **Schmidt L,** Munster K. Infertility, involuntary infecundity, and the seeking of medical advice in industrialised countries 1970–1992: a review of concepts, measurements and results. Hum Reprod, 1995; 10:1407–18.

230 **School of Public Health**, University of Leeds, Centre for Health Economics, University of York, Research Unit, Royal College of Physicians. The management of subfertility. Effective Health Care 1992; 1(3):1–240.

231 **Schuppe H. C.**, Meinhardt A., Allam J. P., Bergmann M., Weidner W., Haidl G., Chronic orchitis: a neglected cause of male infertility? Andrologia. 2008, 40:84-91.

232 **Schwebke J.R.,** Lawing L.F. Improved detection by DNA amplification of Trichomonas vaginalis in males. J.Clin.Microbiol. 2002; 40:3681-3683.

233 **Schwebke JR**, Hook EW III. High rates of *Trichomonas vaginalis* among men attending a sexually transmitted diseases clinic: Implications for screening and urethritis management. J Infect Dis. 2003; 188:465–8.

234 **Segnini A.**, Camejo MI, Proverbio F. Chlamydia trachomatis and sperm lipid peroxidation in infertile men. Asian J Androl 2003; 5:47–49.

235 **Seligson RA**, Pollack CV Jr, Section Editors, Talan DA, Moran GJ, Pinner RW. Update on emerging infections: News from the Centers for Disease Control and Prevention. Ann Emerg Med 1998, 32:748–750.

236 **Sermondade N,** Faure C, Fezeu L, Lévy R, Czernichow S. Obesity and increased risk for oligozoospermia and azoospermia. *Arch Int Med*, 2012; 172, 440-442.

237 **Shah K** и др. Генетичната основа на безплодието. Възпроизвеждане, 2003; 126:13-25.

238 **Shalika S.**, Dugan K, Smith RD, et al. The effect of positive semen bacterial and *Ureaplasma* cultures on *in vitro* fertilization success. *Hum Reprod.* 1996; 11:2789–2792.

239 **Shankar M.**, Dutta R, Gkaras A, Tan B, Kadir RA, Economides D. Prevalence of Chlamydia trachomatis and bacterial vaginosis in women presenting to the early pregnancy unit. J. Obstet. Gynaecol. 2006, 26(1):15-9.

240 **Sherrad J.,** Barlow D. Gonorrhoea in men: clinical and diagnostic aspects. Genitourin. Med. 1996, 72:422-6.

241 **Simou M.** Prevalence of Mycoplasma in female genital tract and susceptibility to antimicrobial agents. 14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases Prague / Czech Republic, May 1–4; abstract number: 2004, 902_p1598.

242 **Sinclair S.** Male infertility: Nutritional and environmental consideration. Alt. Med. Rev. 2000, 5: 28-38.

243 **Skakkebaek Niels E.,** Giwercman, Aleksander; de Kretser, David, Pathogenesis and management of male infertility, 1994; 343:1473-9.

244 **Skrzypulec V.,** Drosdzol A, Evaluation of marital and sexual interactions of Polish infertile couples. J Sex Med, 2009; 6:3335–3346.

245 **Slutsky M,** Levin JL, Levy BS. Azoospermia and oligospermia among a large cohort of DBCP applicators in 12 countries. Int J Occup Environ Health 1999; 5:116–22.

246 **Smith JF**, Walsh TJ, Shindel AW, Turek PJ, Wing H, Pasch L et al. Sexual, Marital and social impact of a Man's Perceived Infertility Diagnosis. J Sex Med 2009; 6(9): 2505-15

247 **Soper D.E.,** Bump R.C., Hurt W.G. Bacterial vaginosis and trichomoniasis vaginitis are risk factors for cuff cellulitis after abdominal hysterectomy. Am. J. Obstet. Gynecol. 1990, 163(3):1016-21.

248 **Sorvillo F**, Smith L, Kerndt P, Ash L., Trichomonas vaginalis, HIV, and African-Americans., Trichomonas vaginalis, HIV, and African-Americans, Emerg. Infect. Dis., 2001 Nov-Dec; 7(6):927-32.

249 **Spasovski MS**, Simjanovska LJ, Taleski V, Petrova N, Lazetic L, Popeska Z, *et al* Screening of Chlamydia trachomatis urogenital infections among the male and female population of the Republic of Macedonia. J Eur Acad Dermatol Venereol 2005; 19: 427–30.

250 **Spiliopoulou A.**, Lakiotis V., Vittoraki A., Zavou D., Mauri D. Chlamydia trachomatis: time for screening? Clin. Microbiol. Infect. 2005; 11(9):687-9.

251 **Stamm W.E.,** Running K., Hale J., Holmes K.K. Etiologic role of Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum in women with the acute urethral syndrome. Sex. Transm. Dis. 1983, 10(4 Suppl):318-22.

252 **Stamm WE**, Koutsky LA, Benedetti JK, Jourden JL, Brunham RC, Holmes KK. Chlamydia trachomatis urethral infections in men. Prevalence, risk factors, and clinical manifestations. Ann Intern Med 1984; 100:47–51.

253 **Stamm W.W.**, Cole B. Asymptomatic Chlamydia trachomatis urethritis in men. Sex. Transm. Dis. 1986; 13:163-165.

254 **Stary A.**, Choueiri B., Hörting-Müller I., Halisch P., Teodorowicz L. Detection of Chlamydia trachomatis in urethral and urine samples from symptomatic and asymptomatic male patients by the polymerase chain reaction. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 1996; 15, Issue 6; 465-471.

255 **Stephen EH,** Chandra A. Use of infertility services in the United States: 1995. Fam Plann Perspect 2000; 32:132–7.

256 **Stephens AJ,** Aubuchon M, Schust DJ. Antichlamydial antibodies, human fertility, and pregnancy wastage. *Infect Dis Obstet Gynecol,* 2011, 525182.

257 **Stephens R.S.,** Kalman S., Lammel C., Fan J., Marathe R., Aravind L., Mitchell W., Olinger L., Tatusov R.L., Zhao Q., Koonin E.V. and Davis R.W. Genome sequence of an obligate intracellular pathogen of humans: Chlamydia trachomatis. Science. 1998, 282:754-759.

258 **Sutton M.,** Sternberg M., Koumans E.H., McQuillan G., Berman S., Markowitz L. The prevalence of Trichomonas vaginalis infection among reproductive-age women in the United States, 2001-2004. Clin. Infect. Dis. 2007, 45:1319–1326.

259 **Tam J.E.,** Davis C. H., Thresher R. J., Wyrick P. B. Location of the origin of replication for the 7.5-kb Chlamydia trachomatis plasmid. Plasmid, 1992, 27:231- 236.

260 **Taylor-Robinson D.** Genital mycoplasma infections. Clin. Lab. Med. 1989, 9(3):501-23.

261 Taylor-Robinson D. Infections due to species of Mycoplasma and Ureaplasma: an update. Clin Infect Dis 1996; 23:671–84.

262 **Tchoudomirova K.**, Bassiri M., Savova J., Hellberg D., Mardh P.A. Gynecological and microbiological findings in women attending for a general health check-up. J. Obstet. Gynecol. 1998, 18:558-567.

263 **Templeton A.**, Fraser, C. and Thompson, B. The epidemiology of infertility in Aberdeen. *Br. Med. J.,* 1990; 301, 148-152.

264 **Templeton A,** Fraser C, Thompson B. Infertility-epidemiology and referral practice. Hum Reprod 1991; 6:1391–4.

265 **Thomas N.S.,** Lusher M., Storey C.C., Clarke I.N. Plasmid diversity in Chlamydia. Microbiol. (UK). 1997, 143:1847 - 1854.

266 **Thonneau P,** Marchand S, Tallec A, Ferial ML, Ducot B, Lansac J, et al. Incidence and main causes of infertility in a resident population (1,850,000) of three French regions, 1988–1989. Hum Reprod 1991; 6:811–6.

267 **Thornley M.J.,** Zamze, S.E., Byrne M.D., Lusher M., Evans R.T. Properties of monoclonal antibodies to the genus-specific antigen of Chlamydia and their use for antigen detection by reverse passive haemagglutionation. J.Gen. Microbiol. 1985; 131: 7-15.

268 **Tong C.Y.,** Mallinson H. Moving to nucleic acid-based detection of genital Chlamydia trachomatis. Expert. Rev. Mol. Diagn. 2002; 2(3):257-266.

269 **Tran, K.B.** & Wessells, HGenital and infectious emergencies. Prostatitis, urethritis, and epididymo-orchitis, In: *Urological Emergencies. A Practical Guide*, H. Wessells & J.W McAninch. 2005; (Eds.), pp. 135-146, Humana Press.

270 **Tremellen K.,** Oxidative stress and male infertility. A clinical perspective. Human Reproduction Update, 2008; 14(3), 243-258.

271 **Turchi P, Simi S, Pescatori ES. Testosterone replacement therapy in male late onset hypogonadism: available pharmacological strategies. J Endocrinol Invest. 2005; 28, 61-68.**

272 **Turner CF**, Rogers SM, Miller HG, et al. Untreated gonococcal and chlamydial infection in a probability sample of adults. JAMA, 2002; 287:726–733.

273 **Tuuminen T.**, Palomaki P., Paavonen J. The use of serologic tests for the diagnosis of chlamydial infections. J. Microbiol. Methods, 2000; 42(3):265-79.

274 **Upadhyaya M.**, Hibbard BM, Walker SM. The effect of *Ureaplasma urealyticum* on semen characteristics. *Fertil Steril.* 1984; 41:304–308.

275 **Uusküla A.,** Kohl P.K. Genital mycoplasmas, including Mycoplasma genitalium, as sexually transmitted agents. Int. J. STD AIDS. 2002, 13(2):79-85.

276 **van Bergen J.E.**, Spaargaren J., Götz H.M., Veldhuijzen I.K., Bindels P.J., Coenen T.J., Broer J., de Groot F., Hoebe C.J., Richardus J.H., van Schaik D., Verhooren M. PILOT CT study-group. Population prevalence of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in the Netherlands. Should asymptomatic persons be tested during population-based Chlamydia screening also for gonorrhoea or only if chlamydial infection is found? BMC Infect. Dis. 2006; 7; 6:42.

277 **Van Doornum G.J.,** Schouls L.M., Pijl A., Cairo I., Buimer M., Bruisten S. Comparison between the LCx Probe system and the COBAS AMPLICOR system for the detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae infections in patients attending a clinic for sexually transmitted diseases in Amsterdam, The Netherlands. J. Clin. Microbiol. 2001, 39:829-835.

278 **Van Dyck E.,** Ieven M., Pattyn S., Van Damme L., Laga M. Detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae by enzyme immunoassay, culture and three nucleic acid amplification tests. J. Clin. Microbiol. 2001, 39:1751-56.

279 **Veronica Tucci, John F. Toney**, Not so benign: the clinical manifestations, diagnosis and treatment of trichomoniasis in men, Asian Biomedicine. April 2008, Vol. 2, No. 2, 91-100.

280 **Veznik Z,** Pospisil L, Svecova D, Zajicova A, Unzeitig V. Chlamydiae in the ejaculate: their influence on the quality and morphology of sperm. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2004; 83, 656-660.

281 **Vicari E,** Calogero AE, Condorelli RA, Vicari LO, La Vignera S. Male accessory gland infection frequency in infertile patients with chronic microbial prostatitis and irritable bowel syndrome. *Int J Androl*, 2012. 35, 183-189.

282 **Vigil P,** Morales P, Tapia A, Riquelme R, Salgado AM. *Chlamydia trachomatis* infection in male partners of infertile couples: incidence and sperm function. *Andrologia* 34, 2002; 155-161.

283 **Wagenlehner, F.M.,** Weidner, W. & Naber, K.G. Chlamydial infections in urology. *World Journal of Urology*, Vol. 24, No. 1, February 2006, pp. 4-12.

284 **Waites K.,** Talkington D. New developments in human diseases due to mycoplasmas, 2005, p. 289-354. In A. Blanchard and G. Browning (ed.) q Mycoplasmas: Pathogenesis, Molecular Biology, and Emerging Strategies for Control. Horizon Scientific Press, Norwich, United Kingdom.

285 **Walschaerts M,** Bujan L, Isus F, Parinaud J, Mieusset R, Thonneau P. Cumulative parenthood rates in 1735 couples: impact of male factor infertility. *Hum Reprod,* 2012; 27, 1184-1190.

286 **Walsh TJ**, et al. Differences in the clinical characteristics of primarily and secondarily infertile men with varicocele. Fertility and Sterility. (2009); 91:826.

287 **Wang S.P.**, Grayston J.T. Immunologic relationship between genital TRIC, lymphogranuloma venereum and related organisms in a new microtiter indirect immunofluorescence test. Am. J. Ophthalmol. 1970; 70:367-374.

288 **Ward M.E.** The chlamydial developmental cycle. A. L. Barron (ed.), Microbiology of chlamydiae. CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla., 1988, p. 71-98.

289 **Weidner W.,** Ludwig M., Brähler E. et al. Outcome of antibiotic therapy with ciprofloxacin in chronic bacterial prostatitis. Drugs. 1999, (Suppl. 2.) 58, 103-106.

290 **Weidner W.,** Which efforts towards conservative treatment of male infertility will be successful? Antibiotic therapy. Andrologia. 1999; 31:297.

291 **Weinstein, S.A.**, Stiles, B.G. A review of the epidemiology, diagnosis and evidence-based management of Mycoplasma genitalium (Review), Sexual Health, Volume 8, Issue 2, 2011, pp. 143-158.

292 **Weinstock H.,** Dean D., Bolan G. Chlamydia trachomatis infections. Sexually transmitted diseases in the AIDS era, part II. Infect. Dis. Clin. North Am. 1994, 8:797-819.

293 **Weinstock H.,** Berman S., Cates W. Sexually transmitted diseases among American youth: incidence and prevalence estimates. Perspect. Sex. Reproduct. Health. 2000, 36(1):6-10.

294 **Weinstock Hillard S.**, Irum Zaidi, Walid Heneine, Diane Bennett, Gerardo J. Garcia-Lerma, John M. Douglas, Jr., Marlene LaLota, Gordon Dickinson, Sandra Schwarcz, Lucia Torian, Deborah Wendell, Sindy Paul, Garald A. Goza, Juan Ruiz, Brian Boyett, and Jonathan E. Kapla The Epidemiology of Antiretroviral Drug Resistance among Drug-Naive HIV-I-Infected Persons in 10 US Cities J Infect Dis. 2004; 189 (12): 2174-2180 doi:10.1086/420789

295 **WHO Laboratory Manual** for the Examination of Human Semen and Sperm–Cervical Mucus Interaction. Cambridge: Cambridge University Press; 2000.

296 **WHO Laboratory Manual** for the Examination and Processing of Human Semen, 5th edn 2010. Geneva: *World Health Organization*

297 **WHO** Manual for the standardized investigation and diagnosis of the infertile couple **Rowe PJ, Comhaire FH, Hargreave TB, Mellows HJ** (eds.). Cambridge University Press, Cambridge.1993.

298 **WHO.** Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 4th ed. 1999.

299 **WHO.** The epidemiology of infertility. Report of a WHO scientific group. Tech Rep Ser 1975; 582:1–37.

300 **WHO**: Report of the meeting on the prevention of infertility at the primary health care level. WHO, Geneva 1983, WHO/MCH/ 1984.

301 **WHO.** Towards more objectivity in diagnosis and management of male infertility. *Int. J. Androl.*, 1987, (Suppl. 7.) 19–33.

302 **WHO.** *Global Prevalaence and Incidencce of Selected Curable Sexually Transmitted Infections: Overview and Estimates.* Geneva: WHO, 2001.

303 **Wuppermann F.N.,** Hegemann J.H., Jantos C.A. Heparan sulfate-like glycosaminoglycan is a cellular receptor for Chlamydia pneumoniae. J. Infect. Dis. 2001, 184(2):181-187.

304 **Xu C,** Sun GF, Zhu YF, Wang YF: The correlation of Ureaplasma urealyticum infection with infertility. *Andrologia,* 1997; 29:219-226.

305 **Yanushpolsky EH**, Politch JA, Hill JA, et al. Antibiotic therapy and leukocytospermia: a prospective, randomized, controlled study. Fertil Steril. 1995; 63: 142-7.

306 **Young H.,** Moyes A., McMillan A. Azithromycin and erythromycin resistant Neisseria gonorrhoeae following treatment with azithromycin, Int J STD AIDS, 1997; 8: 299 – 302 http://www.ncbi.nlm.nih.gov

307 **Zdrodowska-Stefanow, B.,** Ostaszewska, I., Darewicz, B., Darewicz, J., Badyda, J., Pucilo, K., Bulhak, V. & Szczurzewski, M. Role of Chlamydia trachomatis in epididymitis. Part I: Direct and serologic diagnosis. *Medical Science Monitor*, Vol. 6, No. 6, November-December 2000, pp. 1113-1118.

308 **Zelin J.M.,** Robinson A.J., Ridgway, G.L., Allason-Jones E., Williams P. Chlamydial urethritis in heterosexual men attending a genitourinary medicine clinic: prevalence, symptoms, condom usage and partner change. Int. J. STD AIDS, 1995; 6:27-30.

309 **Zhang J.P.,** Stephens R.S. Mechanism of C. trachomatis attachment to eukaryotic cells Cell. 1992, 69:861-869.

310 http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/110526SURSTIinEurope1990-2009.pdf

311 http://www.cdc.gov/std/stats08/gonorrhea.htm

312 http://www.invs.sante.fr/surveillance/ist/bulletins_ist/bulletin_ist_311208.pdf [archive] Bulletin des réseaux de surveillance des infections sexuellement transmissibles au 31 décembre 2008 – Rénago, Rénachla et RésIST

313 http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs110/en/index.html update Nov. 2013

VIII. Приложения

Приложение 1. Възрастта на пациентите и кумулативният процент.

Възраст					
	Възраст	Честота	Процент	Валиден %	Кумулативен %
Валидни	16	1	,3	,3	,3
	17	2	,6	,6	,9
	18	2	,6	,6	1,4
	19	4	1,2	1,2	2,6
	20	3	,9	,9	3,5
	21	2	,6	,6	4,0
	22	2	,6	,6	4,6
	23	2	,6	,6	5,2
	24	14	4,0	4,0	9,2
	25	9	2,6	2,6	11,8
	26	13	3,7	3,7	15,6
	27	18	5,2	5,2	20,7
	28	13	3,7	3,7	24,5
	29	24	6,9	6,9	31,4
	30	20	5,8	5,8	37,2
	31	28	8,1	8,1	45,2
	32	12	3,5	3,5	48,7
	33	17	4,9	4,9	53,6
	34	12	3,5	3,5	57,1
	35	9	2,6	2,6	59,7
	36	10	2,9	2,9	62,5
	37	18	5,2	5,2	67,7
	38	15	4,3	4,3	72,0
	39	20	5,8	5,8	77,8
	40	15	4,3	4,3	82,1
	41	10	2,9	2,9	85,0
	42	9	2,6	2,6	87,6
	43	14	4,0	4,0	91,6
	44	6	1,7	1,7	93,4
	45	4	1,2	1,2	94,5
	46	3	,9	,9	95,4
	47	5	1,4	1,4	96,8
	48	4	1,2	1,2	98,0
	49	2	,6	,6	98,6
	50	1	,3	,3	98,8
	53	2	,6	,6	99,4
	57	1	,3	,3	99,7
	63	1	,3	,3	100,0
	Общо	347	100,0	100,0	

Приложение 2. Комбинации на откритите микроорганизми

	Neisseria gonorrhoeae	Chlamidya trahomatis	Ureaplasma urealyticum	Mycoplasma hominis	Mycoplasma genitalium	Trichomonas vaginalis
Neisseria gonorrhoeae	**21**	1 (0,3%)	2 (0,6%)	0 (0,0%)	2 (0,6%)	0 (0,0%)
Chlamidya trahomatis	1	**82**	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Ureaplasma urealyticum	2	0	**79**	11 (3,2%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Mycoplasma hominis	0	0	11	**64**	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Mycoplasma genitalium	2	0	0	0	**31**	0 (0,0%)
Trichomonas vaginalis	0	0	0	0	0	**86**

Приложение 3.

Изолираните микроорганизми след лечение са при 74 пациенти

Микрорганизми					
		Честота	**Процент**	**Валиден %**	**Кумулативен %**
Валидни	**Без наличие на микроорганизъм**	273	78,7%	78,9%	78,9%
	С наличие на микроорганизъм	74	21,3%	21,1%	100,0%
	Общо	347	100,0%	100,0%	
Общо		347	100,0%		

Приложение 4. Време за втечняване по диагноза преди и след лечение.

1 Уретрит

		ВРЕМЕ НА ВТЕЧНЯВАНЕ				Общо	
		0 Норма - до 60 мин.		1 Патология - над 60 мин.		Брой	%
		Брой	%	Брой	%		
ВРЕМЕ ЗА ВТЕЧНЯВАНЕ	0 Норма - норма до 60 мин.	27	100,0%			27	100,0%
	1 Патология - над 60 минути	23	100,0%			23	100,0%
Общо		50	100,0%			50	100,0%

2 Простатит

		ВРЕМЕ НА ВТЕЧНЯВАНЕ				Общо	
		0 Норма - до 60 мин.		1 Патология - над 60 мин.		Брой	%
		Брой	%	Брой	%		
ВРЕМЕ ЗА ВТЕЧНЯВАНЕ	0 Норма - до 60 мин.	45	95,7%	2	4,3%	47	100,0%
	1 Патология - над 60 мин.	106	81,5%	24	18,5%	130	100,0%
Общо		151	85,3%	26	14,7%	177	100,0%

Извод:

Без промяна (норма→норма) – 95,70%

Без промяна (патология→ патология) – 18,50%

Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 81,50%

Влошаване (норма→патология) – 4,30%

3 Епидидимит

		ВРЕМЕ НА ВТЕЧНЯВАНЕ				Общо	
		0 Норма - до 60 мин.		1 Патология - над 60 мин.		Брой	%
		Брой	%	Брой	%		
ВРЕМЕ ЗА ВТЕЧНЯВАНЕ	0 Норма - до 60 мин.	69	100,0%			69	100,0%
	1 Патология - над 60 мин.	5	35,7%	9	64,3%	14	100,0%
Общо		74	89,2%	9	10,8%	83	100,0%

Извод:

Без промяна (норма→норма) – 100,00%

Без промяна (патология→ патология) – 64,30%

Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 35,70%

Влошаване (норма→патология) – 0,00%

4 Орхиепидидимит

		ВРЕМЕ НА ВТЕЧНЯВАНЕ				Общо	
		0 Норма - до 60 мин.		1 Патология - над 60 мин.		Брой	%
		Брой	%	Брой	%		
ВРЕМЕ ЗА ВТЕЧНЯВАНЕ	0 Норма – до 60 мин.	8	100,0%			8	100,0%
	1 Патология - над 60 мин.	23	79,3%	6	20,7%	29	100,0%
Общо		31	83,8%	6	16,2%	37	100,0%

Извод:

Без промяна (норма→норма) – 100,00%

Без промяна (патология→ патология) – 20,70%

Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 79,30%

Влошаване (норма→патология) – 0,00%

Приложение 5. Вискозитетът и диагнозата.

2 Простатит

			ВИСКОЗИТЕТ		Общо
			0 Норма	1 Патология - повишен вискозитет	
ВИСКОЗИТЕТ	0 Норма	Брой	48	9	57
		%	84,2%	15,8%	100,0%
	1 Патология - повишен вискозитет	Брой	80	40	120
		%	66,7%	33,3%	100,0%
Общо	Брой		128	49	177
	%		72,3%	27,7%	100,0%

Извод:
Без промяна (норма→норма) – 84,20%
Без промяна (патология→ патология) – 33,30%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 66,70%
Влошаване (норма→патология) – 15,80%

3 Епидидимит

			ВИСКОЗИТЕТ		Общо
			0 Норма	1 Патология - повишен вискозитет	
ВИСКОЗИТЕТ	0 Норма	Брой	55		55
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология - повишен вискозитет	Брой	21	7	28
		%	75,0%	25,0%	100,0%
Общо	Брой		76	7	83
	%		91,6%	8,4%	100,0%

Извод:
Без промяна (норма→норма) – 100,00%
Без промяна (патология→ патология) – 25,00%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 75,00%
Влошаване (норма→патология) – 0,00%

Приложение 6. Виталитетът по диагноза преди и след лечение.

2 Простатит

			Виталитет		Общо
			0 норма >= 58%	1 Патология	
Виталитет _ живи сперматозоиди	0 норма >= 58%	Брой	163		163
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология	Брой	12	2	14
		%	85,7%	14,3%	100,0%
Общо	Брой		175	2	177
	%		98,9%	1,1%	100,0%

Без промяна (норма→норма) – 100,00%
Без промяна (патология→ патология) – 14,30%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 85,70%
Влошаване (норма→патология) – 0,00%

3 Епидидимит

			Виталитет		Общо
			0 норма >= 58%	1 Патология	
Виталитет _ живи сперматозоиди	0 норма >= 58%	Брой	31		31
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология	Брой	33	19	52
		%	63,5%	36,5%	100,0%
Общо	Брой		64	19	83
	%		77,1%	22,9%	100,0%

Без промяна (норма→норма) – 100,00%
Без промяна (патология→ патология) – 36,50%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 63,50%
Влошаване (норма→патология) – 0,00%

4 Орхиепидидимит

			Виталитет		Общо
			0 норма >= 58%	1 Патология	
Виталитет _ живи сперматозоиди	0 норма >= 58%	Брой	27		27
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология	Брой	6	4	10
		%	60,0%	40,0%	100,0%
Общо	Брой		33	4	37
	%		89,2%	10,8%	100,0%

Без промяна (норма→норма) – 100,00%
Без промяна (патология→ патология) – 40,00%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 60,00%
Влошаване (норма→патология) – 0,00%

Приложение 7. Виталитетът по възрастови групи преди и след лечение.

Възрастова група 1 < 20

			Виталитет		Общо
			0 норма >= 58%	1 Патология	
Виталитет _ живи сперматозоиди	0 норма >= 58%	Брой	11		11
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология	Брой		1	1
		%		100,0%	100,0%
Общо	Брой		11	1	12
	%		91,7%	8,3%	100,0%

Извод:

Без промяна (норма→норма) – 100,00%

Без промяна (патология→ патология) – 100,00%

Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 0,00%

Влошаване (норма→патология) – 0,00%

Възрастова група 2 - от 21 - 30

			Виталитет		Общо
			0 норма >= 58%	1 Патология	
Виталитет _ живи сперматозоиди	0 норма >= 58%	Брой	82		82
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология	Брой	24	11	35
		%	68,6%	31,4%	100,0%
Общо	Брой		106	11	117
	%		90,6%	9,4%	100,0%

Извод:

Без промяна (норма→норма) – 100,00%

Без промяна (патология→ патология) – 31,40%

Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 68,60%

Влошаване (норма→патология) – 0,00%

Възрастова група 3 - от 31 - 40

			Виталитет		Общо
			0 норма >= 58%	1 Патология	
Виталитет _ живи сперматозоиди	0 норма >= 58%	Брой	125		125
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология	Брой	19	12	31
		%	61,3%	38,7%	100,0%
Общо	Брой		144	12	156
	%		92,3%	7,7%	100,0%

Извод:

Без промяна (норма→норма) – 100,00%

Без промяна (патология→ патология) – 38,70%

Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 61,30%

Влошаване (норма→патология) – 0,00%

Възрастова група 4 - от 41- 50

			Виталитет		Общо
			0 норма >= 58%	1 Патология	
Виталитет _ живи сперматозоиди	**0 норма >= 58%**	**Брой**	50		50
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология	**Брой**	7	1	8
		%	87,5%	12,5%	100,0%
Общо	**Брой**		57	1	58
	%		98,3%	1,7%	100,0%

Извод:

Без промяна (норма→норма) – 100,00%

Без промяна (патология→ патология) – 12,50%

Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 87,50%

Влошаване (норма→патология) – 0,00%

Възрастовите групи 5 - от 51-60 г. и над 60 г.

			Виталитет		Общо
			0 норма >= 58%	1 Патология	
Виталитет _ живи сперматозоиди	**0 норма >= 58%**	**Брой**	3		3
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология	**Брой**	1		1
		%	100,0%		100,0%
Общо	**Брой**		4		4
	%		100,0%		100,0%

Извод:

Без промяна (норма→норма) – 100,00%

Без промяна (патология→ патология) – 0,00%

Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 100,00%

Влошаване (норма→патология) – 0,00%

Приложение 8. Мотилитетът – PR – по диагноза преди и след лечение.

2 Простатит

			Мотилитетът – PR - норма		Общо
			0 норма >= 32%	1 Патология	
Мотилитетът – PR - патология	0 норма >= 32%	Брой	34	10	44
		%	77,3%	22,7%	100,0%
	1 Патология	Брой	100	33	133
		%	75,2%	24,8%	100,0%
Общо	Брой		134	43	177
	%		75,7%	24,3%	100,0%

Без промяна (норма→норма) – 77,30%
Без промяна (патология→ патология) – 24,80%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 75,20%
Влошаване (норма→патология) – 22,70%

3 Епидидимит			Мотилитетът – PR - норма		Общо
			0 норма >= 32%	1 Патология	
Мотилитетът – PR - патология	0 норма >= 32%	Брой	21		21
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология	Брой	30	32	62
		%	48,4%	51,6%	100,0%
Общо	Брой		51	32	83
	%		61,4%	38,6%	100,0%

Без промяна (норма→норма) – 100,00%
Без промяна (патология→ патология) – 51,60%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 48,40%
Влошаване (норма→патология) – 0,00%

4 Орхиепидидимит			Мотилитетът – PR - норма		Общо
			0 норма >= 32%	1 Патология	
Мотилитетът – PR - патология	0 норма >= 32%	Брой	9		9
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология	Брой	22	6	28
		%	78,6%	21,4%	100,0%
Общо	Брой		31	6	37
	%		83,8%	16,2%	100,0%

Без промяна (норма→норма) – 100,00%
Без промяна (патология→ патология) – 21,40%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 78,60%
Влошаване (норма→патология) – 0,00%

Приложение 9. Морфология по диагноза преди и след лечението.

2 Простатит

			Морфология – след лечение		Общо
			0 Норма	1 Патология - при нормални сперматозоиди под 4%	
Морфология – преди лечение	0 Норма	Брой	150		150
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология - при нормални сперматозоиди под 4%	Брой	17	10	27
		%	63,0%	37,0%	100,0%
Общо	Брой		167	10	177
	%		94,4%	5,6%	100,0%

Без промяна (норма→норма) – 100,00%
Без промяна (патология→ патология) – 37,00%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 63,00%
Влошаване (норма→патология) – 0,00%

3 Епидидимит

			Морфология – след лечение		Общо
			0 Норма	1 Патология	
Морфология – преди лечение	0 Норма	Брой	45		45
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология	Брой	12	26	38
		%	31,6%	68,4%	100,0%
Общо	Брой		57	26	83
	%		68,7%	31,3%	100,0%

Без промяна (норма→норма) – 100,00%
Без промяна (патология→ патология) – 68,40%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 31,60%
Влошаване (норма→патология) – 0,00%

4 Орхиепидидимит

			Морфология – след лечение		Общо
			0 Норма	1 Патология	
Морфология – преди лечение	0 Норма	Брой	28		28
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология	Брой	6	3	9
		%	66,67%	33,33%	100,0%
Общо	Брой		34	3	37
	%		91,89%	8,11%	100,0%

Без промяна (норма→норма) – 100,00%
Без промяна (патология→ патология) – 33,33%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 66,67%
Влошаване (норма→патология) – 0,00%

Приложение 10. Морфология по възрастови групи преди и след лечение

Възрастова група 1 < 20					
			Морфология – след лечение		Общо
			0 Норма	1 Патология - при нормални сперматозоиди под 4%	
Морфология – преди лечение	0 Норма	Брой	11		11
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология - при нормални сперматозоиди под 4%	Брой		1	1
		%		100,0%	100,0%
Общо	Брой		11	1	12
	%		91,7%	8,3%	100,0%

Извод:

Без промяна (норма→норма) – 100,00%

Без промяна (патология→ патология) – 100,00%

Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 0,00%

Влошаване (норма→патология) – 0,00%

Възрастова група 2 - от 21 - 30					
			Морфология – след лечение		Общо
			0 Норма	1 Патология - при нормални сперматозоиди под 4%	
Морфология – преди лечение	0 Норма	Брой	92		92
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология - при нормални сперматозоиди под 4%	Брой	9	16	25
		%	36%	64%	100,0%
Общо	Брой		100	16	117
	%		86,2%	13,8%	100,0%

Извод:

Без промяна (норма→норма) – 100,00%

Без промяна (патология→ патология) – 64%

Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 36%

Влошаване (норма→патология) – 0,00%

Възрастова група 3 - от 31 - 40					
			Морфология – след лечение		Общо
			0 Норма	1 Патология - при нормални сперматозоиди под 4%	
Морфология – преди лечение	0 Норма	Брой	118		118
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология - при нормални сперматозоиди под 4%	Брой	19	19	38
		%	50,0%	50,0%	100,0%
Общо	Брой		137	19	156
	%		87,8%	12,2%	100,0%

Извод:

Без промяна (норма→норма) – 100,00%

Без промяна (патология→ патология) – 50,00%

Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 50,00%

Влошаване (норма→патология) – 0,00%

Възрастова група 4 - от 41- 50

			Морфология – след лечение		Общо
			0 Норма	1 Патология - при нормални сперматозоиди под 4%	
Морфология – преди лечение	0 Норма	Брой	48		48
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология - при нормални сперматозоиди под 4%	Брой	7	3	10
		%	70,0%	30,0%	100,0%
Общо	Брой		55	3	58
	%		94,8%	5,2%	100,0%

Извод:

Без промяна (норма→норма) – 100,00%

Без промяна (патология→ патология) – 30,00%

Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 70,00%

Влошаване (норма→патология) – 0,00%

Възрастова група 5 - от 50-60 г. и 6 - над 60 г.

			Морфология – след лечение		Общо
			0 Норма	1 Патология - при нормални сперматозоиди под 4%	
Морфология – преди лечение	0 Норма	Брой	4		4
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология - при нормални сперматозоиди под 4%	Брой			
		%			
Общо	Брой		4		4
	%		100,0%		100,0%

Извод:

Без промяна (норма→норма) – 100,00%

Без промяна (патология→ патология) – 0,00%

Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 0,00%

Влошаване (норма→патология) – 0,00%

Приложение 11. Аглутинацията по диагнози преди и след лечение

1 Уретрит

			АГЛУТИНАЦИЯ – след лечение		Общо
			0 норма - няма аглутинати	1 патология - единични аглутинати	
АГЛУТИНАЦИЯ – преди лечение	0 норма - няма аглутинати	Брой	19		19
		%	100,0%		100,0%
	1 патология - единични аглутинати	Брой	31		31
		%	100,0%		100,0%
Общо	Брой		50		50
	%		100,0%		100,0%

Без промяна (норма→норма) – 100,00%
Без промяна (патология→ патология) – 0,00%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 100,00%
Влошаване (норма→патология) – 0,00%

2 Простатит

			АГЛУТИНАЦИЯ – след лечение		Общо
			0 норма - няма аглутинати	1 патология - единични аглутинати	
АГЛУТИНАЦИЯ – преди лечение	0 норма - няма аглутинати	Брой	39	14	53
		%	73,6%	26,4%	100,0%
	1 патология - единични аглутинати	Брой	87	37	124
		%	70,2%	29,8%	100,0%
Общо	Брой		126	51	177
	%		71,2%	28,8%	100,0%

Без промяна (норма→норма) – 73,60%
Без промяна (патология→ патология) – 29,80%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 70,20%
Влошаване (норма→патология) – 26,40%

3 Епидидимит

			АГЛУТИНАЦИЯ – след лечение		Общо
			0 норма - няма аглутинати	1 патология - единични аглутинати	
АГЛУТИНАЦИЯ – преди лечение	0 норма - няма аглутинати	Брой	34		34
		%	100,0%		100,0%
	1 патология - единични аглутинати	Брой	25	24	49
		%	51,0%	49,0%	100,0%
Общо	Брой		59	24	83
	%		71,1%	28,9%	100,0%

Без промяна (норма→норма) – 100,00%
Без промяна (патология→ патология) – 49,00%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 51,00%
Влошаване (норма→патология) – 0,00%

4 Орхиепидидимит					
			АГЛУТИНАЦИЯ – след лечение		Общо
			0 норма - няма аглутинати	1 патология - единични аглутинати	
АГЛУТИНАЦИЯ – преди лечение	0 норма - няма аглутинати	Брой	15		15
		%	100,0%		100,0%
	1 патология - единични аглутинати	Брой	6	16	22
		%	27,3%	72,7%	100,0%
Общо	Брой		21	16	37
	%		56,8%	43,2%	100,0%

Без промяна (норма→норма) –	100,00%
Без промяна (патология→ патология) –	72,70%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) –	27,30%
Влошаване (норма→патология) –	0,00%

Приложение 12. Аглутинацията по възрастови групи преди и след лечение.

Възрастова група 1 < 20					
			АГЛУТИНАЦИЯ – след лечение		**Общо**
			0 норма - няма аглутинати	**1 патология - единични аглутинати**	
АГЛУТИНАЦИЯ – преди лечение	**0 норма - няма аглутинати**	**Брой**	1		1
		%	100,0%		100,0%
	1 патология - единични аглутинати	**Брой**	10	1	11
		%	90,9%	9,1%	100,0%
Общо	**Брой**		11	1	12
	%		91,7%	8,3%	100,0%

Извод:

Без промяна (норма→норма) – 100,00%

Без промяна (патология→ патология) – 9,10%

Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 90,90%

Влошаване (норма→патология) – 0,00%

Възрастова група 2 - от 21 - 30					
			АГЛУТИНАЦИЯ – след лечение		**Общо**
			0 норма - няма аглутинати	**1 патология - единични аглутинати**	
АГЛУТИНАЦИЯ – преди лечение	**0 норма - няма аглутинати**	**Брой**	47		47
		%	100,0%		100,0%
	1 патология - единични аглутинати	**Брой**	40	30	70
		%	57,1%	42,9%	100,0%
Общо	**Брой**		87	30	117
	%		74,4%	25,6%	100,0%

Извод:

Без промяна (норма→норма) – 100,00%

Без промяна (патология→ патология) – 42,90%

Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 57,10%

Влошаване (норма→патология) – 0,00%

Възрастова група 3 - от 31 - 40					
			АГЛУТИНАЦИЯ – след лечение		**Общо**
			0 норма - няма аглутинати	**1 патология - единични аглутинати**	
АГЛУТИНАЦИЯ – преди лечение	**0 норма - няма аглутинати**	**Брой**	43	8	51
		%	84,3%	15,7%	100,0%
	1 патология - единични аглутинати	**Брой**	69	36	105
		%	65,7%	34,3%	100,0%

Общо	**Брой**	112	44	156
	%	71,8%	28,2%	100,0%

Извод:
Без промяна (норма→норма) – 84,30%
Без промяна (патология→ патология) – 34,30%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 65,70%
Влошаване (норма→патология) – 15,70%

Възрастова група 4 - от 41- 50

			АГЛУТИНАЦИЯ – след лечение		**Общо**
			0 норма - няма аглутинати	**1 патология - единични аглутинати**	
АГЛУТИНАЦИЯ – преди лечение	**0 норма - няма аглутинати**	**Брой**	14	6	20
		%	70,0%	30,0%	100,0%
	1 патология - единични аглутинати	**Брой**	29	9	38
		%	76,3%	23,7%	100,0%
Общо	**Брой**		43	15	58
	%		74,1%	25,9%	100,0%

Извод:
Без промяна (норма→норма) – 70,00%
Без промяна (патология→ патология) – 23,70%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 76,30%
Влошаване (норма→патология) – 30,00%

Възрастова група 5 - от 41- 50 г.

			АГЛУТИНАЦИЯ – след лечение		**Общо**
			0 норма - няма аглутинати	**1 патология - единични аглутинати**	
АГЛУТИНАЦИЯ – преди лечение	**0 норма - няма аглутинати**	**Брой**	2		2
		%	100,0%		100,0%
	1 патология - единични аглутинати	**Брой**	1	1	1
		%	100,00%	100,00%	100,0%
Общо	**Брой**		2	1	3
	%		66,67%	33,33%	100,0%

Извод:
Без промяна (норма→норма) – 100,00%
Без промяна (патология→ патология) – 100,00%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 0,00%
Влошаване (норма→патология) – 0,00%

Възрастова група 6 – над 60 г.					
			АГЛУТИНАЦИЯ – след лечение		**Общо**
			0 норма - няма аглутинати	**1 патология - единични аглутинати**	
АГЛУТИНАЦИЯ – преди лечение	**0 норма - няма аглутинати**	**Брой**			
		%	100,0%		100,0%
	1 патология - единични аглутинати	**Брой**	1		1
		%	100,0%		100,0%
Общо	**Брой**		1		1
	%		100,0%		100,0%

Извод:

Без промяна (норма→норма) – 100,00%

Без промяна (патология→ патология) – 00,00%

Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 100,00%

Влошаване (норма→патология) – 0,00%

Приложение 13. Левкоцити в еякулата преди и след лечение по диагноза

1 Уретрит

			Левкоцити в еякулата – след лечение		Общо
			0 Норма	1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000	
Левкоцити в еякулата – преди лечение	0 Норма	Брой	37		37
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000	Брой	13		13
		%	100,0%		100,0%
Общо	Брой		50		50
	%		100,0%		100,0%

Без промяна (норма→норма) – 100,00%

Без промяна (патология→ патология) – 0,00%

Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 100,00%

Влошаване (норма→патология) – 0,00%

2 Простатит

			Левкоцити в еякулата – след лечение		Общо
			0 Норма	1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000	
Левкоцити в еякулата – преди лечение	0 Норма	Брой	64	5	69
		%	92,8%	7,2%	100,0%
	1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000	Брой	94	14	108
		%	87,0%	13,0%	100,0%
Общо	Брой		158	19	177
	%		89,3%	10,7%	100,0%

Без промяна (норма→норма) – 92,80%

Без промяна (патология→ патология) – 13,00%

Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 87,00%

Влошаване (норма→патология) – 7,20%

3 Епидидимит

			Левкоцити в еякулата – след лечение		Общо
			0 Норма	1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000	
Левкоцити в еякулата – преди лечение	0 Норма	Брой	54		54
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000	Брой	15	14	29
		%	51,72%	48,28%	100,0%
Общо	Брой		69	14	83
	%		83,1%	16,9%	100,0%

Без промяна (норма→норма) –	100,00%
Без промяна (патология→ патология) –	48,28%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) –	51,72%
Влошаване (норма→патология) –	0,00%

4 Орхиепидидимит

			Левкоцити в еякулата – след лечение		Общо
			0 Норма	1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000	
Левкоцити в еякулата – преди лечение	0 Норма	Брой	16	2	18
		%	88,9%	11,1%	100,0%
	1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000	Брой	12	7	19
		%	63,16%	36,84%	100,0%
Общо	Брой		28	9	37
	%		75,68%	24,32%	100,0%

Без промяна (норма→норма) –	88,90%
Без промяна (патология→ патология) –	36,84%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) –	63,16%
Влошаване (норма→патология) –	11,10%

Приложение 14. Левкоцити в еякулата преди и след лечение по възрастови групи.

възрастова група 1 < 20

			Левкоцити в еякулата– след лечение		Общо
			0 Норма	1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000	
Левкоцити в еякулата – преди лечение	0 Норма	Брой	9		9
		%	100,0%		100,0%
	1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000	Брой	2	1	3
		%	66,7%	33,3%	100,0%
Общо	Брой		11	1	12
	%		91,7%	8,3%	100,0%

Извод:

Без промяна (норма→норма) – 100,00%

Без промяна (патология→ патология) – 33,30%

Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 66,70%

Влошаване (норма→патология) – 0,00%

възрастова група 2 - от 21 - 30

			Левкоцити в еякулата– след лечение		Общо
			0 Норма	1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000	
Левкоцити в еякулата – преди лечение	0 Норма	Брой	60	1	61
		%	98,4%	1,6%	100,0%
	1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000	Брой	45	11	56
		%	80,36%	19,64%	100,0%
Общо	Брой		105	12	117
	%		89,74%	10,26%	100,0%

Извод:

Без промяна (норма→норма) – 98,40%

Без промяна (патология→ патология) – 19,64%

Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 80,36%

Влошаване (норма→патология) – 1,60%

възрастова група 3 - от 31 - 40

			Левкоцити в еякулата– след лечение		Общо
			0 Норма	1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000	
Левкоцити в еякулата – преди лечение	0 Норма	Брой	79	3	82
		%	96,34%	3,66%	100,0%
	1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000	Брой	58	16	74
		%	78,38%	21,62%	100,0%

Общо	**Брой**	137	19	156
	%	87,82%	12,18%	100,0%

Извод:
Без промяна (норма→норма) – 96,34%
Без промяна (патология→ патология) – 21,62%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 78,38%
Влошаване (норма→патология) – 3,66%

възрастова група 4 - от 41- 50

			Левкоцити в еякулата– след лечение		**Общо**
			0 Норма	**1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000**	
Левкоцити в еякулата – преди лечение	**0 Норма**	**Брой**	24	2	26
		%	92,31%	7,69%	100,0%
	1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000	**Брой**	25	7	32
		%	78,13%	21,87%	100,0%
Общо	**Брой**		49	9	58
	%		84,5%	15,5%	100,0%

Извод:
Без промяна (норма→норма) – 92,31%
Без промяна (патология→ патология) – 21,87%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 78,13%
Влошаване (норма→патология) – 7,69%

възрастова група 5 - от 51-60

			Левкоцити в еякулата– след лечение		**Общо**
			0 Норма	**1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000**	
Левкоцити в еякулата – преди лечение	**0 Норма**	**Брой**			
		%			
	1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000	**Брой**	3		3
		%	100,0%		100,0%
Общо	**Брой**		3		3
	%		100,0%		100,0%

Извод:
Без промяна (норма→норма) – 0,00%
Без промяна (патология→ патология) – 0,00%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 100,00%
Влошаване (норма→патология) – 0,00%

възрастова група 6 - над 60 г.					
			Левкоцити в еякулата– след лечение		**Общо**
			0 Норма	**1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000**	
Левкоцити в еякулата – преди лечение	**0 Норма**	**Брой**			
		%		100,0%	100,0%
	1 Патология - левкоцити между 250 000 и 1 000 000	**Брой**		1	1
		%	100,0%		100,0%
Общо	**Брой**			1	1
	%		100,0%	100,0%	100,0%

Извод:

Без промяна (норма→норма) – 0,00%

Без промяна (патология→ патология) – 0,00%

Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 0,00%

Влошаване (норма→патология) – 100,00%

Приложение 15. Концентрация по диагноза преди и след лечението

2 Простатит

			Концентрация - след лечение		Общо
			0=норма	1=патология	
Концентрация – преди лечение	0	Брой	19		19
		%	100,0%		100,0%
	1	Брой	111	47	158
		%	70,3%	29,7%	100,0%
Общо		Брой	130	47	177
		%	73,4%	26,6%	100,0%

Без промяна (норма→норма) – 100,00%
Без промяна (патология→ патология) – 29,70%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 70,30%
Влошаване (норма→патология) – 0,00%

3 Епидидимит

			Концентрация - след лечение		Общо
			0=норма	1=патология	
Концентрация - преди лечение	0	Брой	14		14
		%	100,0%		100,0%
	1	Брой	53	16	69
		%	76,8%	23,2%	100,0%
Общо		Брой	67	16	83
		%	80,7%	19,3%	100,0%

Без промяна (норма→норма) – 100,00%
Без промяна (патология→ патология) – 23,20%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 76,80%
Влошаване (норма→патология) – 0,00%

4 Орхиепидидимит

			Концентрация - след лечение		Общо
			0=норма	1=патология	
Концентрация - преди лечение	0	Брой	12		12
		%	100,0%		100,0%
	1	Брой	17	8	25
		%	68,0%	32,0%	100,0%
Общо		Брой	29	8	37
		%	78,4%	21,6%	100,0%

Без промяна (норма→норма) – 100,00%
Без промяна (патология→ патология) – 32,00%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 68,00%
Влошаване (норма→патология) – 0,00%

Приложение 16. Концентрация и възрастовите групи

възрастова група от **21 – 30 г.**					
			Концентрация – след лечение		Общо
			0	1	
Концентрация – преди лечение	0	Брой	**10**		**10**
		%	**100,0%**		**100,0%**
	1	Брой	**77**	**30**	**107**
		%	**72,0%**	**28,0%**	**100,0%**
Общо	Брой		**87**	**30**	**117**
	%		**74,4%**	**25,6%**	**100,0%**

Без промяна (норма→норма) – **100,00%**
Без промяна (патология→ патология) – **28,00%**
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – **72,00%**
Влошаване (норма→патология) – **0,00%**

възрастова група **от 31 – 40 г.**					
			Концентрация – след лечение		Общо
			0	1	
Концентрация – преди лечение	0	Брой	**34**		**34**
		%	**100,0%**		**100,0%**
	1	Брой	**95**	**27**	**122**
		%	**77,9%**	**22,1%**	**100,0%**
Общо	Брой		**129**	**27**	**156**
	%		**82,7%**	**17,3%**	**100,0%**

Без промяна (норма→норма) – **100,00%**
Без промяна (патология→ патология) – **22,10%**
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – **77,90%**
Влошаване (норма→патология) – **0,00%**

възрастова група от **41- 50 г.**					
			Концентрация – след лечение		Общо
			0	1	
Концентрация – преди лечение	0	Брой	**12**		**12**
		%	**100,0%**		**100,0%**
	1	Брой	**32**	**14**	**46**
		%	**69,6%**	**30,4%**	**100,0%**
Общо	Брой		**44**	**14**	**58**
	%		**75,9%**	**24,1%**	**100,0%**

Без промяна (норма→норма) – **100,00%**
Без промяна (патология→ патология) – **30,40%**
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – **69,60%**
Влошаване (норма→патология) – **0,00%**

Приложение 17. Общ брой на сперматозоидите по диагноза преди и след лечение

2 Простатит

			Общ брой на сперматозоидите след лечение		Общо
			0	1	
Общ брой на сперматозоидите преди лечение	**0**	**Брой**	10		10
		%	100,0%		100,0%
	1	**Брой**	139	28	167
		%	83,2%	16,8%	100,0%
Общо	**Брой**		149	28	177
	%		84,2%	15,8%	100,0%

Без промяна (норма→норма) – 100,00%
Без промяна (патология→ патология) – 16,80%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 83,20%
Влошаване (норма→патология) – 0,00%

3 Епидидимит

			Общ брой на сперматозоидите след лечение		Общо
			0	1	
Общ брой на сперматозоидите преди лечение	**0**	**Брой**	16		16
		%	100,0%		100,0%
	1	**Брой**	50	17	67
		%	74,6%	25,4%	100,0%
Общо	**Брой**		66	17	83
	%		79,5%	20,5%	100,0%

Без промяна (норма→норма) – 100,00%
Без промяна (патология→ патология) – 25,40%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 74,60%
Влошаване (норма→патология) – 0,00%

4 Орхиепидидимит

			Общ брой на сперматозоидите след лечение		Общо
			0	1	
Общ брой на сперматозоидите преди лечение	**0**	**Брой**	15	1	16
		%	93,8%	6,3%	100,0%
	1	**Брой**	14	7	21
		%	66,7%	33,3%	100,0%
Общо	**Брой**		29	8	37
	%		78,4%	21,6%	100,0%

Без промяна (норма→норма) – 93,80%
Без промяна (патология→ патология) – 33,30%
Подобряване– ефикасност (патология→ норма) – 66,70%
Влошаване (норма→патология) – 6,30%

Списък на публикациите:

1. Нонева Р., **С. Рангелов.** Й. Узунова. Изследване на еякулата. Андрология. Й. Узунова /Ред./, Болид-Инс ЕООД, София, 2011, 23.
2. Ilieva I., S. Ivanova, **S. Rangelov**, P. Tzvetkova, V. Ormandzhieva, E. Petrova. Sperm morphometric changes in cases with Varicocele. Comp. Ren.de l Acad. Bulg. Des Sci, 2013, 66, 5, 757-764. **IF=0.219.**
3. Ouzounova-Raykova V., **S. Rangelov**, I. Ouzounova, I. Mitov Manuscript: APMIS-2015-38/R1-(3616) Detection of *C. trachomatis*, *U. urealyticum* and *M. hominis* in infertile bulgarian men with multiplex Real Time PCR. **IF=1.9.**
4. **Рангелов С.** Сексуално трансмисивни инфекции и мъжки инфертилитет I-ва част. Лекарска практика, 2014, 16, 2, 30-32.
5. **Рангелов С.** Сексуално трансмисивни инфекции и мъжки инфертилитет II-ра част. Лекарска практика, 2014, 16, 3, 23-26.
6. **Рангелов С.** Промени в качеството на спермата при инфертилни мъже с доказана инфекция. Лекарска практика, 2014, 16, 5, 23-27.