

**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**

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

**на 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  
Микробиология**

**София, 2015**

**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**

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

**на ДИСЕРТАЦИЯ  
за присъждане на образователна и научна степен  
„Доктор”**

**НАУЧНО ЖУРИ:**

**Чл. кор. проф. д-р Иван Гергов Митов, дмн,  
Проф. д-р Йорданка Великова Узунова, дмн,  
Проф. д-р Тодор Веселов Кантарджиев, дмн,  
Проф. д-р Ботьо Иванов Зозиков, пенсионер, дмн  
Доц. д-р Светослав Димитров Николов, дм,**

**Резервни членове:**

**Чл. кор. проф. д-р Чавдар Крумов Славов, дмн,  
Проф. д-р Иван Янков Дечев, дмн,**

**Научна специалност  
Микробиология  
София, 2015**

Дисертационният труд е написан на 176 страници и съдържа 27 таблици, 41 фигури и 17 приложения, оформени в 8 глави, общи изводи и списък на използваната литература от 313 заглавия, от които 28 на кирилица и 285 на латиница. Номерацията на таблиците, фигурите и главните заглавия е както в дисертацията.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за публична защита пред Научно жури по микробиология на предварително обсъждане в Катедра по микробиология при Медицински факултет на Медицински Университет - София на 17. 03. 2015 г.

Публичната защита на дисертационния труд пред Научното жури ще се състои на 17.06. 2015 г. от 12.00 часа в аулата на Университетска Кардиологична Болница „Св. Екатерина”.

Материалите по защитата на дисертацията, рецензиите и становищата са публикувани на интернет страницата на МУ - София.

## Съдържание

	Използвани съкращения .....	4
I.	ВЪВЕДЕНИЕ.....	5
III.	ЦЕЛ И ЗАДАЧИ .....	6
IV.	МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ .....	7
	1. Материал .....	7
	2. Методи .....	7
	2.1. Диагностични методи .....	7
	2.1.1. Получаване и транспорт на материалите.....	7
	2.1.2. Клетъчно култивиране и имунофлуоресцентен метод (ИФМ) за доказване на хламидии.....	7
	2.1.3. Изолиране на хромозомна и плазмидна ДНК от клинични материали и контролни щамове.....	7
	2.1.4. Полимеразна верижна реакция (PCR) за доказване причинители на ППИ.....	8
	2.1.5. Наблюдение на нативен препарат за подвижни трихомони и изолиране на <i>T. vaginalis</i> чрез TV4 среда.....	8
	2.2. Сперматологични методи.....	8
	2.2.11. Статистически методи .....	9
V.	СОБСТВЕНИ РЕЗУЛТАТИ .....	11
	1. Резултати от микробиологичните изследвания.....	13
	4. Резултати от сперматологичните изследвания.....	17
	5. Анализ на резултатите преди лечение.....	23
	7. Анализ на резултатите от откритите микроорганизми след лечение.....	26
	8. Анализ на резултатите от спермограмите след лечение..	28
VI.	ОБСЪЖДАНЕ .....	35
	Изводи .....	41
	Приноси .....	42
	Списък с публикациите .....	44

## Използвани съкращения

ДНК	- Дезоксирибонуклеиновата киселина
ИФТ	- Имунофлуоресцентна технология
ППИ	- Полово предавани инфекции
РІD	- Тазова възпалителна болест
PID	- Pelvic inflammatory disease
PR	- Прогресивно подвижни
PCR	- Полимеразна верижна реакция
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).

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.

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.

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 *S. trachomatis* ППИ в България се отбелязва с въвеждането на културелния метод. 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.

Комбинирането на съвременни диагностични методи и тестове в лабораторната практика като култивиране на *S. 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. ЦЕЛ

**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 – 2013 г. и тяхното влияние върху фертилитета при мъжа.

## III. ЗАДАЧИ

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 ѝ 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**

### **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. urealyticum*, *M. genitalium*, както и протозоите *Trichomonas vaginalis*.

За период от 3 години (2010 г. до 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 уrogenиталната система във възрастта между 16 и 63 години, средна възраст 33,67 години. Получените уретрални секрети и еякулати от прегледаните пациенти бяха изследвани в Катедрата по Микробиология на МФ.

#### **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**

##### **2.1.1. Получаване и транспорт на материалите**

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

- Контролни щамове;
- Изолиране на хламидии в клетъчни култури;
- Моноклонални антитела;
- Имунофлуоресцентен метод за доказване на хламидии в клетъчни култури.

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

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

- ДНК от контролни щамове.
- 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.
- PCR за доказване на *T. Vaginalis*
- PCR за доказване на  $\beta$ -глобин

#### **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

### **2.2. Сперматологични методи**

Извършените изследвания са по критериите и нормативите на СЗО за референтни стойности от 2010 г. за оценка на еякулата. Отчетените параметри на спермограмата са: **време на втечняване, цвят, вискозитет, рН, мотилитет, наличие на левкоцити, други клетки, сперматозоидната концентрация, общ брой на сперматозоидите, морфология.**

## 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%
<b>Други консенсусни гранични стойности</b>	
pH	$\geq 7.2$
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 ( $\mu\text{mol}$ / еякулата)	$\geq 2.4$
Фруктоза в спермата ( $\mu\text{mol}$ /еякулата)	$\geq 13$
Seminal neutral glucosidase (mU/еякулата)	$\geq 20$
Брой на белите кръвни клетки	$\leq 1 \times 10^6/1\text{ml}$

### 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 нормално 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 Р стойността (P-value) е по-малка  $\alpha$ .

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

## V. СОБСТВЕНИ РЕЗУЛТАТИ

По литературни данни, при около 50% от безплодните двойки причината 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. Поражениета 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 уреоплазми* и *Trichomonas vaginalis*.

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, 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 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%);
- Сутришна мътна урина – при 34 пациенти (9,80%);

- Промяна в качествата и количеството на отделяния 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 ППИ.

На таблица 11. са представени данни от статистическия анализ за възрастови групи и диагнозите в брой и проценти.

Таблица 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
<b>Общо</b>	<b>12</b> (3,46%)	<b>117</b> (33,72%)	<b>156</b> (44,96%)	<b>58</b> (16,71%)	<b>3</b> (0,86%)	<b>1</b> (0,29%)	<b>347</b> (100,00%)

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**

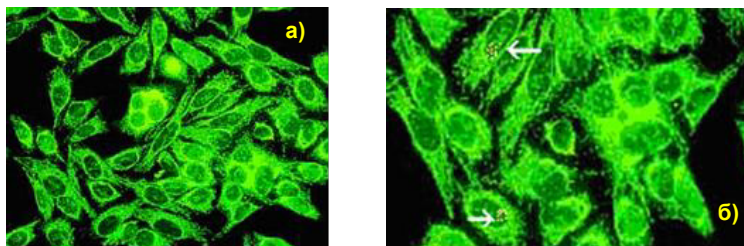
Diagnosis	N	Mean	Median	Minimum	Maximum	Range	Std. Deviation
Уретрит	50	25,40	25,00	16	32	16	4,742
Простатит	177	37,40	38,00	20	63	43	6,730
Епидидимит	83	32,00	30,00	19	42	23	5,577
Орхиепидидимит	37	30,76	31,00	24	40	16	4,896
<b>Общо</b>	<b>347</b>	<b>33,67</b>	<b>33,00</b>	<b>16</b>	<b>63</b>	<b>47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

## 1. 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 пряко 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 McCoу 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 дена (минимум четири) за реализиране на процедурата по диагностиката.

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



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

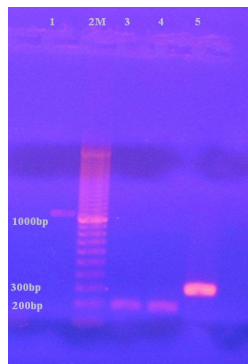
а) Имунофлуоресценция на клетъчна линия McCoу; б)Имунофлуоресценция на инклузионни телца на *C. trachomatis*, изолирани от уретрален секрет.

**Вторият метод**, използван за доказване на *C. trachomatis* е **PCR** и бе **Вторият метод**, използван за доказване на *C. trachomatis* е

**PCR** и бе проведена на **309** клинични материали.

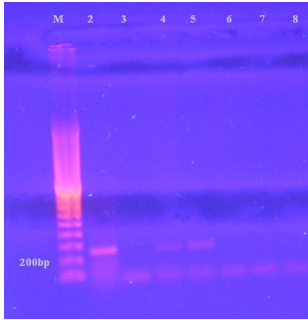
Всички **347 ДНК екстракти** от клиничните материали бяха подложени на **амплификация** по отделно за всеки от петте микроорганизма - *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *U. urealyticum*, *M. genitalium* и *M. hominis*.

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

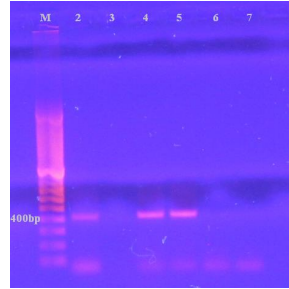


**Фиг. 15. Агарозна гел-електрофореза на PCR-продукти за доказване на *C. trachomatis* в клиничен материал. Позиции:**

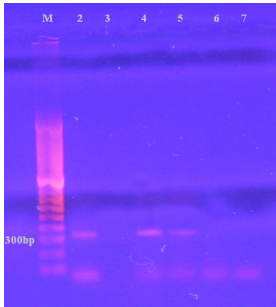
1 - фрагмент с дължина 1100bp (продукт на праймерите OMP2 и P1); 2 - 100bp Ladder; 3 - фрагмент с дължина 200bp (продукт на праймерите T1 и T2); 4 - фрагмент с дължина 200bp (продукт на праймерите OrF и OrFR); 5 - фрагмент с дължина 330bp (продукт на праймери от кит *C. trachomatis*, Sacace Biotechnologies, Italy).



**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.



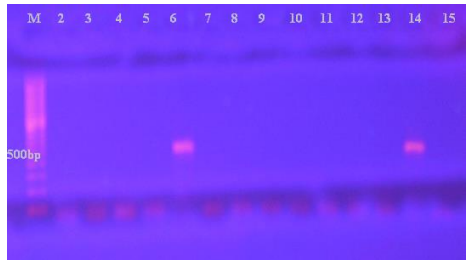
**Фиг. 17.** Агарозна гел-електрофореза на PCR-продукти за доказване на *U. urealyticum* в клинични материали. Позиции: 1 - 100bp Ladder; 2 - положителна контрола с фрагмент с дължина 423bp; 3 - отрицателна контрола; 4 - положителен клиничен материал; 5 - положителен клиничен материал.



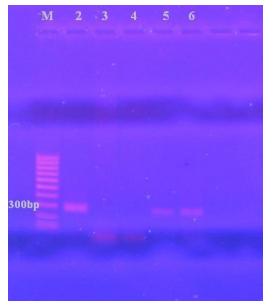
**Фиг. 18.** Агарозна гел-електрофореза на PCR-продукти за доказване на *M. genitalium* в клинични материали. Позиции:

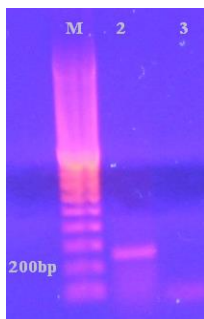
1 - 100bp Ladder; 2 - положителна контрола с фрагмент с дължина 346bp; 3- отрицателна контрола; 4 - положителен клиничен материал; 5 - положителен клиничен материал.

**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.

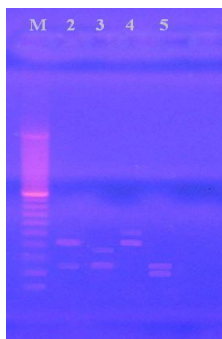


**Фиг. 20.** Агарозна гел-електрофореза на PCR-продукти за доказване на *T. vaginalis* в клинични материали. Позиции: 1 - 100bp Ladder; 2 - положителна контрола с фрагмент с дължина 300bp; 3 - отрицателна контрола; 4 - отрицателен клиничен материал; 5 - положителен клиничен материал.





Фиг. 21. Агарозна гел-електрофореза на PCR-продукти за доказване на  $\beta$ -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*.

Разпределението на откритите при пациентите микроорганизми е представено на таблица 13.

Таблица 13. Честота на микроорганизми при пациентите преди лечение.

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

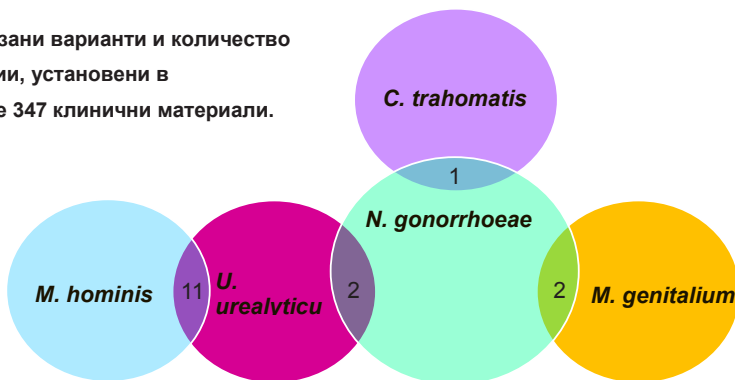
От получените резултати е видно, че най-често изолираният микроорганизъм е *T. vaginalis*, следван от *C. trachomatis*, *U. urealyticum* и др.

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

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; чрез единия и другия метод не бе установена.

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



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 зрялост 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. Макроскопична 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.

### **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. **Тератозооспермия** – 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.

**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 слузободобна нееднородна и непрозрачна течност с характерна миризма на суров кестен. В течение на 20 - 30 минути спермата се втечнява, става хомогенна, лепкава и има непрозрачен беловато-сив цвят.

### **Обем на еякулата**

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: при 140 (79,1%) от пациентите с простатит се откри pH към горните граници - между 7.8 и 8.0. От пациентите с

простатит над границата рН 8.0 са 12 (6,78%) ; 9 имат рН 8.1 и по 4 пациенти са с рН 8.2 и рН 8.3. При пациентите с епидидимит се откри рН между 7.8 и 8.0 при 39 (47%), а над 8.0 при 4 пациенти (4,82%).

### **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.

### **Вискозитет**

Повишен вискозитет има при 188 (54,18%) пациенти, като при 120 (67,8%) от тях диагнозата е простатит, при 28 (33,73%) пациенти - епидидимит, а при 21 (42,00%) - уретрит.

### **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**

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 простатита - 27 (15,25%) от пациентите и при орхиепидидимита - 9 (24,32%). При пациентите с прекаран само уретрит не установихме промяна в морфологията на сперматозоидите, а само във вида на изтичащия от канала секрет.

## **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.

## **Наличие на левкоцити**

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

## **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 прекарвали орхиепидидимит и при 28 (56,00%) прекарвали уретрит.

## **5. Анализ на резултатите преди лечение**

**Установяват се следните статистически значими зависимости между откритите микроорганизми 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. trachomatis*** 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*** – влияние 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 ( $P \leq 0,0001$ ) и виталитета ( $P \leq 0,0001$ ) 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 араметъра общия брой на сперматозоидите ( $P=0,005$ ) в популацията, от която е направена извадката.

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

Простатита 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 ( $P=0,003$ ), виталитета ( $P=0,014$ ) морфология ( $P<=0,013$ );

**Групата от 31-40 г.** върху параметъра втечняване ( $P=0,022$ ), виталитета ( $P=0,008$ ) 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 ( $P<0,008$ ), броя на левкоцитите ( $P=0,001$ ), концентрация ( $P=0,032$ ) и общия 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.

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).

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

1. **Едномоментно** лечение с цефалоспорици 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.

**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**

Ние 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
- **доксциклин (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).

При извършените контролни изследвания установихме отново наличие на хламии 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 (р.о.) 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 микробиологични изследвания в хода на лечението могат да бъдат използвани 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. При лечението се изисква овладяване на субективните оплаквания, саниране на възпалителния процес и запазване или възстановяване на фертилната способност.

### Лечение при установена *M. hominis* и *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, флуорохинолони 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.

### Лечението на **трихомониалната 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. Посъветвани бяха пациентите да се проведе лечение и на партньорките им и бельото да бъде обработено на 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.).

Нашата практика следва указанията по-горе стъпки при лечението на ППИ. Освен това е необходимо спазване на следните обстоятелства:

- 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

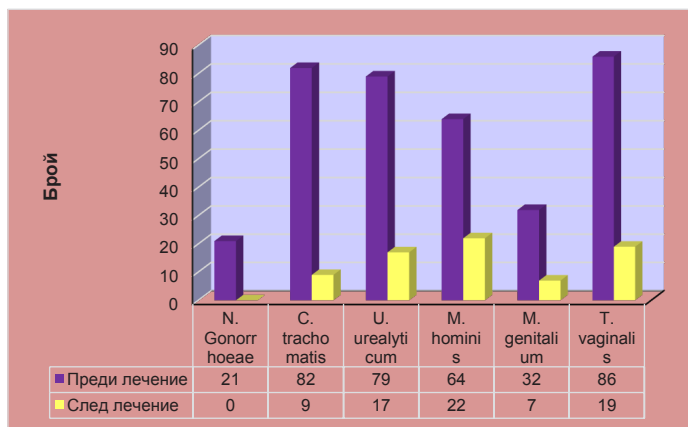
- Информацията, получена от пациентите за контактите им
- Професионалното мнение на медицинския работник
- Пациентът счита, че при него съществува риск от заразяване

Каквато и да е ситуацията, пациентите са длъжни да бъдат осведомени за полово предаваните заболявания и техните последици, за поведението, което повишава риска от заразяване, и за начините на предупреждаване 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.

## 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 (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.

Микроорганизми					
		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%		

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

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

- Значими зависимости между *U. urealyticum* и общия 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.

- Значима зависимост има между *M. genitalium* и морфологията ( $P\leq 0,034$ ).

*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 общия брой на сперматозоидите ( $P=0,032$ ) при **простатит**.

**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. trachomatis* 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:

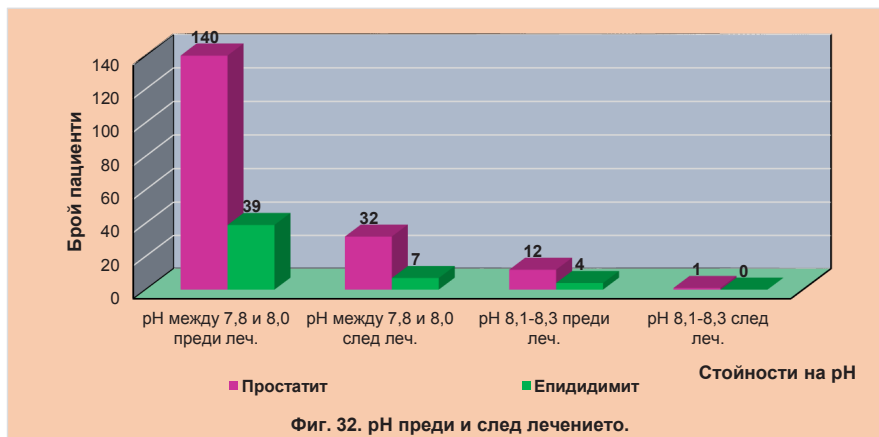
Възрастова група 41-50. - **Мотилитет** ( $P=0,013$ ).

## 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



Фиг. 32. pH преди и след лечението.

След лечението при пациентите 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 прекаралите 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).

### Време за втечняване



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

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

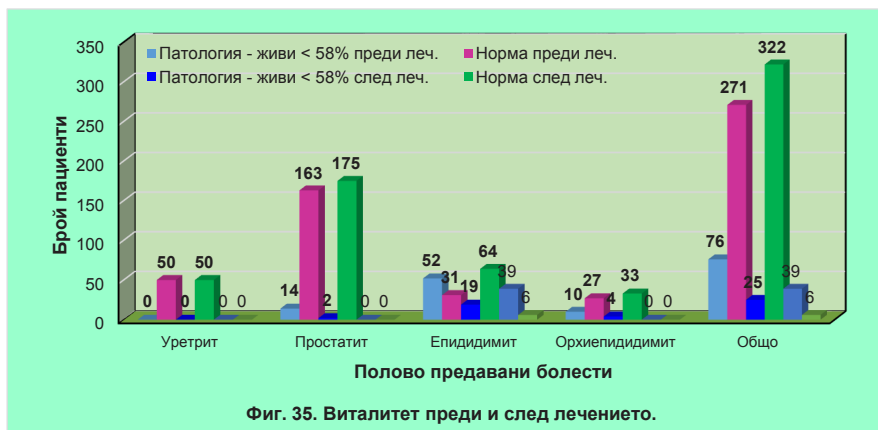
### Вискозитет

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



### Виталитет

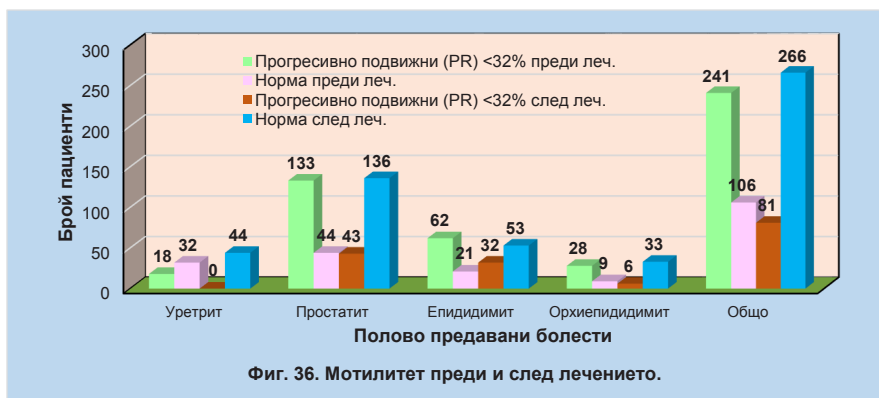
Пациенти с живи сперматозоиди под нормата след лечението (референтната стойност на СЗО е 58%) са 25 пациенти (7,20%). От тях 0 пациенти са прекарвали



уретрит, 2 (1,13%) пациенти - хроничен простатит, 19 (22,89%) пациенти -епидидимит, 4 (10,81%) пациенти - орхиепидидимит (Фиг. 35).

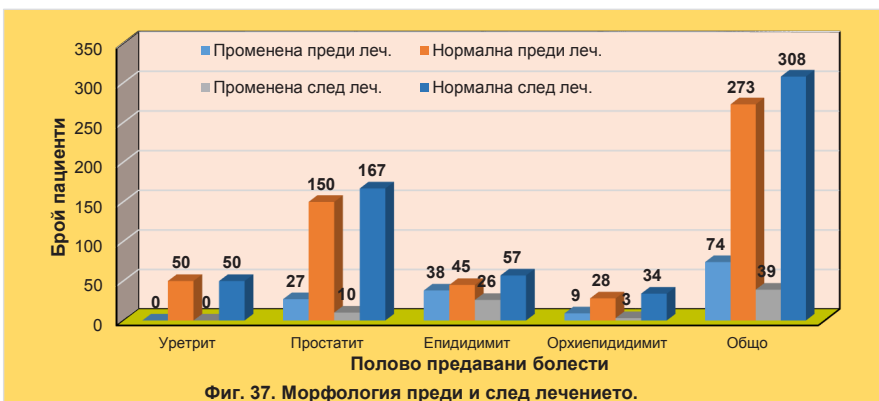
### Мотилитет

Прогресивно подвижни (PR) сперматозоиди под референтната стойност на СЗО от 32% се установиха при 81 пациенти (23,34%), като 43 (24,29%) пациенти са прекарвали хроничен простатит, а при уретрита са 0 (0,00%), при епидидимита са 32 (38,55%) и при орхиепидидимита са 6 (16,22%) пациенти (Фиг. 36).



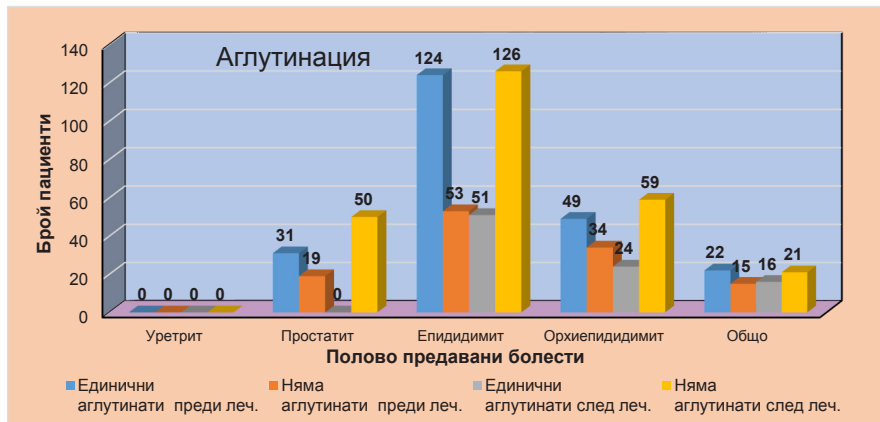
### Морфология

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%), установи се при 10 (5,65%) пациенти с прекаран хроничен простатит и при 3 (8,11%) пациенти прекарвали орхиепидидимит (Фиг. 37).



## Аглутинация

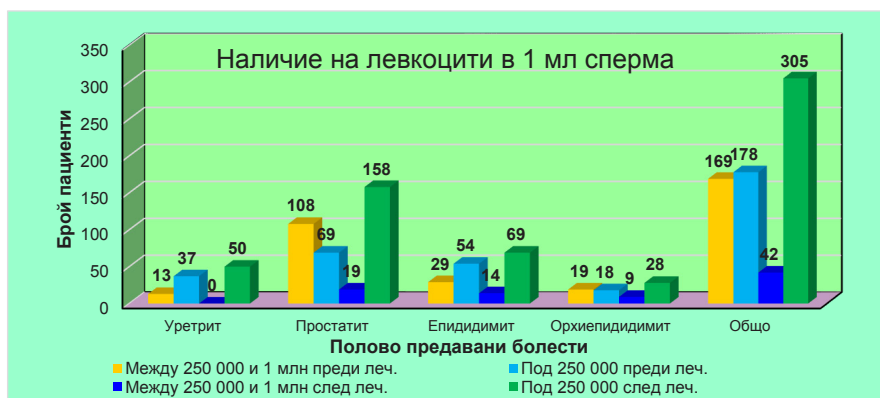
Единични аглутинати след лечение се установиха при 91 пациенти (26,22%). От тях 51 (28,81 %) пациенти са прекарвали простатит, 24 (28,92%) пациенти - епидидимит и 16 (43,24%) – орхиепидидимит (Фиг. 38).



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%), - епидидимит - 14 (16,87%) и орхиепидидимит - 9 (24,32%) пациенти (Фиг. 39).



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

## Концентрация на сперматозидите

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



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

## Общ брой на сперматозидите

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

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



Фиг. 41. Общ брой на сперматозидите 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 лечение. 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.

Спадането на високите стойности на рН след лечението е значително. Само при 1 пациент от прекаралите хроничен простатит се установи рН над 8.

### **Време за втечняване**

Нормализирането на времето за втечняване на еякулата е значително – при 80,1% от патологичните случаи.

Пълно нормализиране – 100% - настъпва в групата на уретрита. Въпреки нормализиране на втечняването при голям брой пациенти в групата на простатита се появява патология при двама, на които показателят 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.

### **Вискозитет**

Повишен вискозитет след лечение има при 56 (16,14%). 49 (27,68%) пациенти са прекарвали хроничен простатит, като 9 от тях са с влошен показател след лечение. 7 (8,43%) пациенти са от групата на епидидимита.

### **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 - епидидимит, 4 (10,81%) пациенти – орхиепидидимит. Процентът на нормализирал се показател след лечение е 67.1% и без промяна – 32,9%. (Табл. 18).

Относителният дял на подобрение на показателя е най голям при простатита – 85.70%, последван от този при епидидимита – 63,50% и орхиепидидимита – 60,00%.

### **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%. Това се установи при 81 пациенти (23,34%), като 43 (24,29%) пациенти са прекарвали хроничен простатит, а при уретрита са 0 (0,00%), при епидидимита са 32 (38,55%) и при орхиепидидимита са 6 (16,22%) пациенти.

### **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.

### **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).

Нормализирането е в 100% при уретрита, - 70,20% при простатита, - 51,00% при епидидимита и 27,30% при орхиепидидимита.

### **Наличие на левкоцити**

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

### **Концентрация на сперматозоидите**

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

### **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 >39 мил преди лечение. Процентът на нормализиране на този показател е 81,6%. Най-висок е

относителният дял при простатита – 83,20%, последван от този при епидидимита – 74,60% и – орхиепидидимита – 66,70%.

**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%). 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%.

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.

## VI. ОБСЪЖДАНЕ

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.

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

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

За употреба на наркотични вещества съобщават само 13 пациенти (3,74%). У нас все още този процент е нисък, но има тенденция към повишаването му. Тук ще отбележим, че 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 по-вече от 3 партньори. Много високо е числото на осъществяването на безпорядъчни полови контакти 47 (13,54%). Много важна роля има семейната среда и здравната култура на индивидите.

Полово предаваните инфекции могат да бъдат причина за мъжкото безплодие поради настъпващите възпалителни изменения чрез *прякото 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 нарушения може да настъпят в епидидимите, простатната жлеза и други органи. Тези процеси водят до промени в състава на семенната течност (Vigil P, et al,2004) и могат да причинят нарушения в проходимостта на семепроводящите пътища. Нашите проучвания подкрепят тази теза. При данни за инфекция заболяванията понякога протичат с оскъдна симптоматика (Schachter J.2000), други в течение на няколко години и тяхното проявление може да се установи единствено когато се развият 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.

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.

Инфекцията може да поразии 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. Наред с това при съществуващи инфекции в семенната течност се повишава нейният вискозитет, установява се намаляване на съдържанието на фруктоза и недостатъчното ѝ усвояване от сперматозоидите.

**Бактериоспермията** се приема за едно от най-сериозните заболявания, като се отчита нейната честота, а също така и факта, че тя често протича безсимптомно или без характерни признаци. По литературни данни това се среща при около 15% от мъжете на възраст около 40 години. 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.

**Възпалителните гонококови** и други бактериални процеси в пикочо-половата система на мъжете могат да предизвикат изразено количествено и качествено изменение на семенната течност, което води до намаляване на оплождащата 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 (John S Moran, 2007).

Известно е, че в паренхима на простатната жлеза след прекарана гонорея 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.

Честотата на разпространение на полово предаваната **хламидиална инфекция** в страните от Европа, както и извън нея, варира в широки граници. 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%, на други автори 4,5%; от колеги от Гърция - 1,78% от изследвани мъже; а от Македония – 2,3%. Нашият резултат е 22,77% при случаите на съществуващ стерилитет и ППИ. А спрямо прегледаните болни в амбулаторията, този резултат е 5,75%. 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. Ние установихме значима зависимост между изолираната *C. trachomatis* и времето за втечняване на еякулата ( $P=0,027$ ) при възрастова група 41-50 г. Установихме съчетание на гонококов причинител и хламидиална инфекция при 1 пациент. Нашето проучване представя относително нисък процент на заразните с гонококова инфекция пациенти срещу това на Kodner С.2003. Това вероятно се дължи на действащата програма на национално ниво.

Други важни микроорганизми, оказващи влияние на спермата според нас, са **микоплазмите** и в частност **уреаплазмите**. Наскоро проведено проучване установява 10,8% честота на *M. hominis* при изследвани инфертилни мъже.

Честотата на установената от В. Райкова 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. Други изследователи също дават подобни стойности на честота на инфекцията – 2,78% и 4,3% съответно Simou и Dogan и сътр. 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 %. Като си взаимодействат със сперматозоидите, тези микроорганизми могат да влияят по специфичен начин на фертилността. Редица автори (Jensen J.S. 2004) приемат вече, 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,( Gallegos G.,2007) 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. Отсъствието на решаващо знание по отношение на патогенния потенциал на *Mycoplasma* и *Ureaplasma spp.* в много случаи се дължи на общото им непознаване от страна на лекари и микробиологични лаборатории, поради техните капризни изисквания за растеж, което прави трудно откриването им.

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

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. Като метод за доказване на трихомонасната инфекция В. Райкова

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%. Ние установихме трихомониаза при 6,12% от прегледаните пациенти с андрологични оплаквания. В групата само на инфертилитетните пациенти този процент е 24,21%. Това е групата с най-висок процент на изолиран причинител на ППИ. Урогениталната трихомониаза 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% (Schwebke JR, Hook EW III.2003).

Трихомониазата в цял свят в последните десетилетия е считана за най-разпространената инфекция, предавана по полов път, и е честа причина за хроничните възпалителни заболявания на пикочо-половата система на човека.

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.

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

## ИЗВОДИ

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. urealyticum*, *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. urealyticum*, *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. urealyticum* (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. trachomatis* - 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. trachomatis* 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, орхоепидидимит).
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.

## Списък на публикациите във връзка с дисертацията:

1. Нонева Р., С. Рангелов. Й. Узунова. Изследване на еякулата. Андрология. Й. Узунова /Ред./, Бolid-Инс ЕООД, София, 2011, 23-27.
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<sup>ва</sup> част. Лекарска практика, 2014, 16, 2, 30-32.
5. Рангелов С. Сексуално трансмисивни инфекции и мъжки инфертилитет II<sup>ра</sup> 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.

## **НАУЧНО - ИЗСЛЕДОВАТЕЛСКА ДЕЙНОСТ**

### **Участия в монографии в България на български език**

1. Узунова Й., Ал. Заимов, **С. Рангелов** и съавт. Юбилеен сборник. Мъжко репродуктивно и сексуално здраве., Изд. Арсо, 2011, 83-85.
2. Узунова Й., Ч. Славов, И. Митов, **С. Рангелов** и съавт. Андрология. Й. Узунова /Ред./, Болид-Инс ЕООД, С., 2011, 189.

### **Постер на международен форум**

Tzvetkova P., S. Rangelov, V. Ormandjieva, E. Petrova, I. Ilieva, S. Ivanova. Erectile dysfunction, hypothalamic-pituitary-gonadal axis and fertility. EAU 8th South Eastern „European Meeting, 26-27 Octob 2012, Sofia, Programme, poster Session 4, S57; European Urology, Suppl.11, 2012, 4, 146. **им. фактор** 8.493.

### **Пленарен доклад на национален форум с чуждестранно участие**

1. 16-ТИ НАЦИОНАЛЕН СИМПОЗИУМ ПО УРОЛОГИЯ, 09-11.06.2011, САНДАНСКИ - Терапевтични ефекти н Tribulus terrestris L. и Sildenafil при олигоастеноспермия. Й Узунова, **С. Рангелов**, 25.
2. 17-ТИ НАЦИОНАЛЕН СИМПОЗИУМ ПО УРОЛОГИЯ, 07-09.2012, САНДАНСКИ – Ефект на хипоксията върху семенната характеристика и тестикуларна морфология Е. Петрова, В. Орманджиева, И. Илиева, **С. Рангелов**, Цветкова П., Ст. Иванова., 40.
3. 17-ТИ НАЦИОНАЛЕН СИМПОЗИУМ ПО УРОЛОГИЯ, 07-09.2012, САНДАНСКИ – Ултраструктурни промени в сперматозоидите при хроничен простатит И. Илиева С. Иванова П. Цветкова, **С. Рангелов**, В. Орманджиева, Е. Петрова., 42.
4. 17-ТИ НАЦИОНАЛЕН СИМПОЗИУМ ПО УРОЛОГИЯ, 07-09.2012, САНДАНСКИ – Еректилна дисфункция и мъжки инфертилитет **С. Рангелов** П., Цветкова, И. Илиева, С. Иванова., 43.

### **Пленарен доклад на национален форум**

I <sup>vi</sup> НАЦИОНАЛЕН СИМПОЗИУМ ПО АНДРОЛОГИЯ, 22.02.2013, СОФИЯ – Правилна диагностика и диагностичен алгоритъм на терапевтичния подход примъжа. **С. Рангелов**., 1.

### **Доклад на семинар у нас**

1. НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКА КОНФЕРЕНЦИЯ ЗА ОБЩОПРАКТИКУВАЩИ ЛЕКАРИ, 22.09.2012, Русе „Терапевтични възможности за лечение на уроинфекции с лекарствено средство Цистинол акут.“ **С. Рангелов**.
2. НАЦИОНАЛНА НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКА КОНФЕРЕНЦИЯ, 15.10.2012, ПЛОВДИВ “Терапевтични възможности за лечение на уроинфекциите с Cystinol Akut” **С. Рангелов**.

### **Ръководител на научен проект, финансиран от български източници**

ДИАГНОСТИЧНА ОЦЕНКА НА СПЕРМАТОЛОГИЧНИЯ СИМПТОМО-КОМПЛЕКС ПРИ НАРУШЕНА ОПЛОДИТЕЛНА СПОСОБНОСТ НА МЪЖА. 6Д/2012, МУ, София.

### **Участник в научен проект, финансиран от български източници**

ПРОУЧВАНИЯ ВЪРХУ МЕДИКО-БИОЛОГИЧНИТЕ АСПЕКТИ НА МЪЖКИЯ ИНФЕРТИЛИТЕТ. Договор. 15/2012, МУ, София.

# SUMMARY

## SUBJECT

The aim of this dissertation was to investigate the prevalence of Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Trichomonas vaginalis and genital mycoplasmas as STIs agents by microbiological and molecular biological diagnostic methods in clinical specimens from patients and asymptomatic individuals for the period 2010 - 2013, and their influence on fertility in men.

## MATERIALS AND METHODS

For a period of three years (2010 to 2013) 1372 patients have been examined in the Department of Urology at the University Hospital "Aleksandrovska" - consulting office of andrology. Clinical materials of 347 patients from symptomatic individuals with impaired fertility and complaints from the urogenital system in the age between 16 and 63 years, mean age 33.67 years were studied. Received urethral secretions and ejaculate of surveyed patients were examined at the Department of Microbiology of the Medical University. Microbiological, semen analyses and statistical methods for data obtained before and after treatment were carried out.

## RESULTS

We established the following statistically significant correlations between the detected microorganisms and some parameters of semen analysis in the population from which the sample was taken:

N. gonorrhoeae has a statistically significant impact on the morphology ( $P = 0.011$ ) and the total sperm count ( $P = 0.036$ ).

C. trachomatis has a statistically significant impact on the liquefaction ( $P = 0.007$ ).

U. urealyticum has a statistically significant impact on the volume ( $P = 0.001$ ), the viscosity ( $P = 0.007$ ), the motility ( $P = 0.005$ ) and the total sperm count ( $P = 0.005$ ).

M. hominis – The influence on the parameters in the population from which the sample was taken is large but it is not statistically significant.

M. genitalium has a statistically significant impact on the liquefaction ( $P \leq 0.0001$ ) and the vitality ( $P \leq 0.0001$ ).

T. vaginalis has a statistically significant impact on the volume ( $P = 0.002$ ), the viscosity ( $P = 0.009$ ), the motility ( $P = 0.010$ ) and the number of leukocytes ( $P = 0.0001$ ).

## **CONCLUSIONS**

A diagnostic multiplex PCR for the establishment of five causative for sexually transmitted infections - *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *M. hominis*, *U. urealyticum*, *M. genitalium* - has been developed and put into practice.

Full recovery of damage to the germinal epithelium and other parts of the male reproductive system is achieved with timely adequate treatment, and semen analysis parameters are within normal limits in 36.31%, described for the first time in Bulgaria.

The increasing the male factor role in infertility is a modern trend. The risk of diseases and their spread can be reduced by increasing the health and sexual culture in adolescents and implementation of various health programs among risk groups in society.

