

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 579.61:616-078

1.5.11. Микробиология (медицинские науки)

doi: 10.17021/1992-6499-2024-3-22-29

**МИКРОБНЫЙ СОСТАВ ЭЯКУЛЯТА У ПАЦИЕНТОВ С АСТЕНОЗООСПЕРМИЕЙ  
ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕТОДОМ  
ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ**

Екатерина Сергеевна Ворошилина<sup>1,2</sup>, Данила Леонидович Зорников<sup>1</sup>,  
Алексей Витальевич Иванов<sup>3</sup>, Евгения Александровна Паначева<sup>1,2</sup>,  
Василий Михайлович Петров<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия

<sup>2</sup>Медицинский центр «Гармония», Екатеринбург, Россия

<sup>3</sup>Институт математики и механики имени Н. Н. Красовского УрО РАН, Екатеринбург, Россия

**Аннотация.** Настоящее исследование проведено с целью оценить микробный состав эякулята у пациентов с астенозооспермией в сравнении с нормозооспермией при использовании полимеразной цепной реакции в реальном времени. В процессе ретроспективного исследования с применением полимеразной цепной реакции в реальном времени (тест-система «Андрофлор», ООО НПФ «ДНК-Технология», Россия) изучен микробный состав эякулята 242 пациентов с астенозооспермией и 377 – с нормозооспермией. Микробную ДНК (как общую бактериальную массу) в количестве не менее  $10^3$  ГЭ/мл обнаружили в 268 (71,1 %) из 377 образцов эякулята группы с нормозооспермией и в 185 (76,4 %) из 242 образцов группы с астенозооспермией. По данным кластерного анализа микробиота положительных проб была представлена одним из восьми устойчивых микробных кластеров с численным преобладанием определенной группы бактерий. При астенозооспермии статистически значимо ( $p < 0,05$ ) чаще определяли кластер с преобладанием *Lactobacillus* spp., а среди определяемых отдельных групп бактерий статистически значимо ( $p < 0,05$ ) чаще выявляли *Bacteroides* spp. / *Porphyromonas* spp. / *Prevotella* spp., *Megasphaera* spp. / *Veillonella* spp. / *Dialister* spp. и *Lactobacillus* spp. В сравнении с нормозооспермией.

**Ключевые слова:** полимеразная цепная реакция в реальном времени, микробиота эякулята, спермограмма, подвижность сперматозоидов, астенозооспермия

**Для цитирования:** Ворошилина Е. С., Зорников Д. Л., Иванов А. В., Паначева Е. А., Петров В. М. Микробный состав эякулята у пациентов с астенозооспермией по результатам исследования методом полимеразной цепной реакции в реальном времени // Астраханский медицинский журнал. 2024. Т. 19, № 3. С. 22–29. doi: 10.17021/1992-6499-2024-3-22-29.

ORIGINAL INVESTIGATIONS

Original article

**MICROBIOTA OF SEMEN SAMPLES WITH ASTHENOZOOSPERMIA:  
ANALYSIS OF REAL-TIME PCR DATA**

Ekaterina S. Voroshilina<sup>1,2</sup>, Danila L. Zornikov<sup>1</sup>,  
Alexey V. Ivanov<sup>3</sup>, Evgeniya A. Panacheva<sup>1,2</sup>, Vasiliy M. Petrov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia

<sup>2</sup>Medical Center “Garmonia”, Yekaterinburg, Russia

<sup>3</sup>Institute of Mathematics and Mechanics, Yekaterinburg, Russia

**Abstract.** This study was conducted to compare the semen microbial composition using real-time PCR in patients with asthenozoospermia and normozoospermia. The semen microbial composition was assessed by real-time PCR (Androflor kit, DNA-Technology, Russia) in 242 patients with asthenozoospermia (AS) and 377 patients with normozoospermia (NS). The microbial DNA (as total bacterial load, TBL) in quantity of at least  $10^3$  GE/ml was detected in 268 (71.1 %) of 377 semen samples with NS and 185 (76.4 %) of 242 semen samples with AS. According to cluster analysis, the microbiota of positive samples was represented by one of eight stable microbial clusters with predominance of a certain group of bacteria. In asthenozoospermia a cluster dominated by *Lactobacillus* spp. was determined significantly more often, and among the identified individual groups of bacteria *Bacteroides* spp. / *Porphyromonas* spp. / *Prevotella* spp., *Megasphaera* spp. / *Veillonella* spp. / *Dialister* spp., and *Lactobacillus* spp. were detected significantly more often in comparison with normozoospermia.

**Key words:** real-time PCR, semen microbiota, semen analysis, sperm motility, asthenozoospermia

**For citation:** Voroshilina E. S., Zornikov D. L., Ivanov A. V., Panacheva E. A., Petrov V. M. Microbiota of semen samples with asthenozoospermia: analysis of real-time PCR data. Astrakhan Medical Journal. 2024; 19 (3): 22–29. doi: 10.17021/1992-6499-2024-3-22-29 (In Russ.).

**Введение.** Более 15 % всех супружеских пар страдают бесплодием, при этом вклад мужского фактора высок и достигает по оценкам разных авторов 30–50 % [1]. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) установила разные типы отклонений от нормы для сперматозоидов, среди которых астенозооспермия (АС) определяется как снижение подвижности или полное отсутствие подвижных сперматозоидов в эякуляте [2]. Именно подвижность обеспечивает критически важные процессы оплодотворения: миграцию сперматозоидов в женский репродуктивный тракт и последующую пенетрацию в ооцит. Таким образом, АС является фактором, ухудшающим фертильный прогноз.

Одной из причин мужского бесплодия являются инфекции уrogenитального тракта, для многих из которых характерно бессимптомное течение [3]. В значительной части наблюдений причинами инфекций уrogenитального тракта (УГТ), приводящими к развитию бесплодия, являются облигатные патогены – *Chlamydia trachomatis* и *Neisseria gonorrhoeae* [4]. Однако, помимо облигатных патогенов, причиной для возникновения инфекционно-воспалительных процессов УГТ могут стать условно-патогенные бактерии. По данным литературы, при культуральном исследовании эякулята мужчин, имеющих клинические проявления инфекций УГТ, чаще выявляли *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*), *Staphylococcus* spp. (*Staphylococcus aureus*) и *Enterococcus* spp. (*Enterococcus faecalis*) [4].

Взаимосвязь между присутствием микроорганизмов в сперме и АС была отмечена рядом авторов [6, 7]. Некоторые наблюдения указывают на возможность прямого повреждающего действия бактерий и их метаболитов на подвижность сперматозоидов. В эксперименте *in vitro* установлено, что инкубирование сперматозоидов с чистыми культурами *Serratia marcescens* и *Klebsiella pneumoniae* вызывает агглютинацию сперматозоидов и тем самым приводит к снижению их подвижности [6]. Также снижение подвижности и изменение морфологии сперматозоидов отмечали при взаимодействии с *S. aureus* и *Staphylococcus saprophyticus*. Авторы выдвигают предположение, что гемолизин данных бактерий оказывает повреждающее действие на сперматозоиды [7].

Однако результаты культурального исследования дают неполную информацию о микробиоте эякулята, что обусловлено присутствием трудно культивируемых и некультивируемых видов бактерий. Для определения присутствующих бактерий в эякуляте более перспективным представляется метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Этот метод позволяет определять и ДНК микроорганизма, и его количественное содержание в изучаемом образце. В ранее проведенном исследовании показано, при использовании ПЦР-РВ в 64,3 % образцов эякулята с нормальными показателями спермограммы обнаружены бактерии в количестве  $10^3$  ГЭ/мл [8]. В положительных образцах одновременно выявляли до 15 групп бактерий в различных сочетаниях, при этом чаще всего идентифицировали облигатные анаэробы (ОА). Данное наблюдение противоречит традиционно сформировавшимся представлениям о роли единственного вида микроорганизма в развитии инфекционно-воспалительных заболеваний [9] и указывает на необходимость изучения бактериальных ассоциаций. В этой связи актуальным является исследование особенностей микробиоты эякулята при АС.

**Цель:** определить особенности микробного состава образцов эякулята, соответствующие критериям астенозооспермии.

**Материалы и методы.** Одноцентровое ретроспективное исследование включало в себя оценку параметров спермограммы и микробного состава эякулята 619 пациентов репродуктивного возраста (средний возраст –  $34,0 \pm 6,7$  года), обратившихся в Медицинский центр «Гармония» (г. Екатеринбург) для прекоцепционной подготовки. Исследование одобрено этическим комитетом Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Уральский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 7 от 20.09.2019 г.) [10].

**Критерии включения:** проведение прекоцепционной подготовки; пациенты не получали гормональные и антибактериальные препараты в течение 4 недель до исследования. **Критерии исключения:** клиническо-лабораторные признаки инфекционно-воспалительных заболеваний УГТ, наличие инфекций, передающихся половым путем, гемоконтактных инфекций, наличие у пациентов или их родственников генетических заболеваний [10].

Сбор образцов эякулята пациенты проводили в соответствии с рекомендациями ВОЗ для микробиологических исследований [2]. С целью исключения контаминации исследуемого биоматериала транзитной микрофлорой партнерши необходимо было соблюдать половое воздержание

в течение

3–4 дней. Анализ концентрации и подвижности сперматозоидов проводили с использованием спермоанализатора “Viola АФС-500” (НПФ «Биола», Россия). Параметры спермограммы оценивали в соответствии с критериями ВОЗ [2], в исследование были включены пробы, соответствующие критериям НС ( $n = 377$ ) и АС ( $n = 242$ ). Группу НС рассматривали в качестве группы сравнения [10].

Определение микробного состава эякулята проводили с помощью ПЦР-РВ. Для исследования использовали 1 мл нативного эякулята, который собирали в пробирку типа Эппендорф. Бактериальную ДНК выделяли в соответствии с инструкцией производителя (ООО «ДНК-Технология», Россия). Проведение ПЦР-РВ осуществляли с использованием теста «Андрофлор» (ООО «ДНК-Технология», Россия), согласно инструкции производителя, в амплификаторе ДТ-96 того же производителя. Тест «Андрофлор» позволяет определять ДНК условно-патогенных микроорганизмов, общей бактериальной массы (ОБМ) и геномной ДНК человека (в качестве контроля взятия биологического материала). Положительные сигналы по изучаемым микроорганизмам фиксировали не позже 35 цикла амплификации, что эквивалентно микробной нагрузке не менее  $10^3$  ГЭ/мл. Исключение составляли группы *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis*, для которых надпороговыми были все значения больше 0. Расчет доли отдельных видов и групп бактерий проводили относительно суммы всех выявленных в образце бактерий. Статистическую обработку данных проводили с помощью R версии 4.2.2 (сборка 2022-10-31). Нормальность распределения признаков проверяли тестом Шапиро – Уилка. Средний возраст пациентов в исследуемых группах выражали средним арифметическим и стандартным отклонением ( $M + s$ ). В качестве средних величин ОБМ и количества отдельных групп микроорганизмов использовали медианы ( $Me$ ). Достоверность различий между частотными показателями определяли с помощью точного двустороннего теста Фишера. Все различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$  [10].

**Кластерный анализ.** Анализ структурных особенностей микробного состава эякулята осуществляли методом кластеризации k-медоидов [10], реализованного в библиотеке машинного обучения scikit-learn-extra. Выбор оптимальной кластеризации проводили на основе внутренних оценок качества кластеризации: индекса Силуэта и Дэвиса – Болдуина. Подробное описание алгоритма кластеризации представлено в ранее проведенных работах [8, 10].

**Результаты исследования и их обсуждение.** Микробную ДНК (ОБМ) в количестве  $\geq 10^3$  ГЭ/мл обнаружили в 268 (71,1 %) из 377 образцов эякулята группы НС и в 185 (76,4 %) из 242 образцов группы АС. В положительных образцах определяли до 15 групп микроорганизмов.

Микробный состав эякулята при АС отличался от проб группы НС. Чаще всего определяли облигатно анаэробные бактерии: в 63 (26,0 %) образцах выявили группу *Bacteroides spp.* / *Porphyromonas spp.* / *Prevotella spp.* и в 50 (20,6 %) пробах – группу *Megasphaera spp.* / *Veillonella spp.* / *Dialister spp.* Также статистически значимо чаще в группе АС выявляли *Lactobacillus spp.* (табл. 1).

Учитывая, что в каждом положительном образце одновременно определяли до 15 групп микроорганизмов в разных количествах и сочетаниях, провели кластерный анализ для выявления устойчивых микробных ассоциаций и определения их структурных особенностей. Для осуществления кластерного анализа были отобраны 360 проб (145 из группы АС и 215 из группы НС), отвечающих следующим критериям: ОБМ  $\geq 10^3$  ГЭ/мл, как минимум одна группа микроорганизмов надпороговых значениях. Пробы эякулята, ОБМ в которых составила  $< 10^3$  ГЭ/мл, анализу не подлежали и были выделены в отдельную группу. Каждый из полученных кластеров отличался преобладанием определенной укрупненной группы бактерий, а в ряде случаев – дополнительным внутригрупповым доминированием. На основании значений индексов Силуэта (0,26) и Дэвиса – Болдуина (1,69) было выделено 8 устойчивых микробных кластеров, для каждого из которых было характерно преобладание определенных групп бактерий [10]:

- кластер 1 с преобладанием *Lactobacillus spp.*;
- кластер 2 с преобладанием грамположительных факультативных анаэробов и внутрикластерным доминированием *Corynebacterium spp.*;
- кластер 3 с преобладанием грамположительных факультативных анаэробов и внутрикластерным доминированием *Streptococcus spp.*;
- кластер 4 с преобладанием группы *Enterobacteriaceae / Enterococcus spp.*;
- кластер 5 с преобладанием облигатных анаэробов и внутрикластерным доминированием группы *Bacteroides spp. / Porphyromonas spp. / Prevotella spp.*;
- кластер 6 с преобладанием облигатных анаэробов и внутрикластерным доминированием группы *Peptostreptococcus spp. / Parvimonas spp.*;
- кластер 7 сформирован облигатными анаэробами без доминирования определенной группы бактерий;
- кластер 8 представлен семейством *Mycoplasmataceae*.

Таблица 1. Частота выявления отдельных групп микроорганизмов в образцах эякулята, отвечающих критериям АС и НС

Table 1. Frequency of detection of individual microorganisms' groups in sperm samples with AS and NS

Группы микроорганизмов	АС, n = 242 (n, %)	НС, n = 377 (n, %)	Достоверность, p
<i>Lactobacillus spp.</i>	54 (22,3)	55 (14,6)	0,017
<i>Corynebacterium spp.</i>	44 (18,2)	74(19,6)	> 0,05
<i>Streptococcus spp.</i>	26 (10,7)	51 (13,5)	> 0,05
<i>Staphylococcus spp.</i>	15 (6,2)	25 (6,6)	> 0,05
<i>Bacteroides spp. / Porphyromonas spp. / Prevotella spp.</i>	63 (26,0)	69 (18,3)	0,027
<i>Peptostreptococcus spp. / Parvimonas spp.</i>	33 (13,6)	48 (12,7)	> 0,05
<i>Megasphaera spp. / Veillonella spp. / Dialister spp.</i>	50 (20,7)	48 (12,7)	0,009
<i>Eubacterium spp.</i>	58 (24,0)	71 (18,8)	> 0,05
<i>Anaerococcus spp.</i>	34 (14,0)	37 (9,8)	> 0,05
<i>Gardnerella vaginalis</i>	26 (10,7)	37 (9,8)	> 0,05
<i>Atopobium cluster</i>	16 (6,6)	26 (6,9)	> 0,05
<i>Sneathia spp. / Leptotrichia spp. / Fusobacterium spp.</i>	12 (5,0)	24 (6,4)	> 0,05
<i>Enterobacteriaceae / Enterococcus spp.</i>	22 (9,1)	39 (10,3)	> 0,05
<i>U.urealyticum</i>	12 (5,0)	14 (3,7)	> 0,05
<i>U. parvum</i>	19 (7,9)	30 (8,0)	> 0,05
<i>M. hominis</i>	8 (3,3)	14 (3,7)	> 0,05
<i>Haemophilus spp.</i>	13 (5,4)	21 (5,6)	> 0,05
<i>Pseudomonas aeruginosa / Ralstonia spp. / Burkholderia spp.</i>	4 (1,7)	8 (2,1)	> 0,05

Примечание: \*для групп *U. urealyticum*, *U. parvum*, *M. hominis* надпороговые значения  $> 0$ , для остальных групп микроорганизмов  $\geq 10^3$  ГЭ/мл.

Note: \*for the groups *U. urealyticum*, *U. parvum*, *M. hominis*, above-threshold values  $> 0$ , for other groups of microorganisms  $\geq 10^3$  GE/ml.

Кластер 1 (с преобладанием *Lactobacillus spp.*) почти в 2 раза чаще определяли в группе АС, что согласуется с более высокой частотой обнаружения этих микроорганизмов ( $p = 0,004$ ; табл. 2). Кластеры 2 и 6, напротив, определяли при АС статистически значимо реже (табл. 2).

Таблица 2. Частота выявления кластеров микробиоты в образцах эякулята при АС и НС

Table 2. Frequency of microbiota clusters in sperm samples with AS and NS

Кластеры микробиоты	АС, $n = 242$ (n, %)	НС, $n = 377$ (n, %)	Достоверность, $p$
ОБМ < $10^3$ ГЭ/мл	97 (40,1)	163 (43,2)	> 0,05
Кластер 1	39 (16,1)	31 (8,2)	0,004
Кластер 2	8 (3,3)	18 (8,2)	0,014
Кластер 3	5 (2,1)	16 (4,2)	> 0,05
Кластер 4	6 (2,5)	19 (5,0)	> 0,05
Кластер 5	17 (7,0)	28 (7,4)	> 0,05
Кластер 6	7 (2,9)	25 (6,6)	0,037
Кластер 7	60 (24,3)	69 (18,3)	> 0,05
Кластер 8	3 (1,2)	9 (2,4)	> 0,05

На следующем этапе были изучены особенности формирования каждого из восьми кластеров в группе АС по сравнению с группой НС, установлен ряд достоверных различий.

**Особенности формирования микробных кластеров при НС и АС.** Все 8 кластеров с различной частотой выявляли как при НС, так и при АС. Однако при анализе структуры каждого из кластеров в образцах исследуемых групп были выявлены различия (рис. 1). Сравнение структуры кластеров проводили для медианных значений (МЗ) признаков: абсолютных количеств ДНК (геном-эквивалент/мл) и долей микроорганизмов (%), попавших в кластеры. При НС кластер 1 был сформирован *Lactobacillus spp.* (МЗ доли в кластере 90 %). Кластеры 2 и 3 были образованы грамположительными факультативными анаэробами (МЗ доли 100 %), при этом в кластере 2 доминирующими были *Corynebacterium spp.*, а в кластере 3 – *Streptococcus spp.* Кластер 4 в группе НС был сформирован группой *Enterobacteriaceae / Enterococcus spp.* (МЗ доли в кластере 100 %) [10]. Кластер 5 был сформирован облигатными анаэробами с внутрикластерным доминированием *Bacteroides spp. / Porphyromonas spp. / Prevotella spp.* (МЗ доли 72 %). Кластеры 6 и 7 были также образованы облигатными анаэробами, МЗ доли составила 74 и 87 %, соответственно. В структуре кластера 6 преобладали *Peptostreptococcus spp. / Parvimonas spp.* (МЗ доли 26 %), в то время как кластер 7 был представлен смесью разных групп облигатных анаэробов, и наиболее представленными при НС были *Eubacterium spp.* и *Megasphaera spp. / Veillonella spp. / Dialister spp.* Кластер 8 характеризовался преобладанием микоплазм и внутрикластерным доминированием *U. parvum* (МЗ доли в кластере 100 %) [10].

В образцах с АС структура кластеров 1, 2, 3, 6 и 8 достоверно не отличалась от таковой при НС. Для кластера 4 было характерно более низкое количество *Enterobacteriaceae / Enterococcus spp.* (МЗ 54 % в кластере против 100 % при НС). В формировании кластера 4 при АС участвовали *Lactobacillus spp.*, доля и абсолютное количество которых были достоверно выше, чем при НС и составили 15 % и  $10^{1,6}$  ГЭ/мл ( $p = 0,007$ ). Кластер 5 при АС отличался более высоким количеством и долей *Anaerococcus spp.* в сравнении с НС ( $p = 0,025$ ) [10]. Особенностью кластера 7 стали достоверно более высокие доля ( $p = 0,019$ ) и количество ( $p = 0,044$ ) *Bacteroides spp. / Porphyromonas spp. / Prevotella spp.* по сравнению с НС (рис.).

Присутствие в сперме *Lactobacillus spp.* ряд авторов связывал с хорошими показателями спермограммы [10, 12, 14]. Более того, было показано, что пероральное применение *Lactobacillus rhamnosus* в сочетании с *Bifidobacterium longum* улучшило подвижность сперматозоидов у пациентов с АС в 6 раз [15]. Однако другие авторы связывали присутствие в эякуляте лактобактерий с наличием гормональных нарушений у пациента [10, 15]. Таким образом, в литературе нет единого мнения относительно влияния лактобацилл на сперматогенез. В проведенном нами исследовании *Lactobacillus spp.* выявляли почти в 2 раза чаще в образцах эякулята с АС по сравнению с НС. Полученные в ходе настоящей работы данные указывают на возможную взаимосвязь между *Lactobacillus spp.* со снижением подвижности сперматозоидов, механизмы негативного воздействия лактобацилл на сперматогенез требуют дальнейшего изучения [10].

Некоторые авторы связывали снижение параметров спермограммы с присутствием облигатно анаэробных бактерий в эякуляте [16]. В настоящем исследовании показана более высокая частота



**Authors' contribution.** The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

**Источник финансирования.** Авторы декларируют отсутствие внешнего финансирования для проведения исследования и публикации статьи.

**Funding source.** The authors declare that there is no external funding for the exploration and analysis work.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Faddy M. J., Gosden M. D., Gosden R. G. A demographic projection of the contribution of assisted reproductive technologies to world population growth // *Reproductive Biomedicine Online*. 2018. Vol. 36, no. 4. P. 455–458.
2. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen / World Health Organization. 5<sup>th</sup> ed. URL: [https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/44261/9789241547789\\_eng.pdf?sequence=1](https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/44261/9789241547789_eng.pdf?sequence=1).
3. Ruggeri M., Cannas S., Cubeddu M., Molicotti P., Piras G., Dessole S., Zanetti S. Bacterial agents as a cause of infertility in humans // *New Microbiologica*. 2016. Vol. 39, no. 3. P. 206–209.
4. EAU Guidelines / European Association of Urology. 2021.
5. Pagliuca C., Cariati F., Bagnulo F., Scaglione E., Carotenuto C., Farina F., D'Argenio V., Carraturo F., D'Aprile P., Vitiello M., Strina I., Alviggi C., Colicchio R., Tomaiuolo R., Salvatore P. Microbiological evaluation and sperm DNA fragmentation in semen samples of patients undergoing fertility investigation // *Genes*. 2021. Vol. 12 (5). P. 654.
6. Vander H., Prabha V. Alterations in human sperm parameters as a corollary of incubation with various uropathogenic microorganisms // *Gynecology and Reproductive Endocrinology*. 2019. Vol. 3, no. 1. P. 6–12.
7. Ibadin O. K., Ibeh I. N. Bacteriospermia and sperm quality in infertile male patient at University of Benin Teaching Hospital, Benin City, Nigeria // *Malaysian Journal of Microbiology*. 2008. Vol. 4, no. 2. P. 65–67.
8. Ворошилина Е. С., Зорников Д. Л., Иванов А. В., Почерников Д. Г., Паначева Е. А. Микробиота эякулята у пациентов с нормозооспермией по результатам исследования методом ПЦР в реальном времени // *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2021. № 5. С. 57–65.
9. Почерников Д. Г., Постовойтенко Н. Т., Стрельников А. И. Сравнительный анализ культурального и молекулярно-генетического методов исследования микробиоты эякулята при мужской инфертильности // *Андрология и генитальная хирургия*. 2019. Т. 20, № 2. С. 40–47.
10. Паначева Е. А. Прогнозирование эффективности эмбриологического этапа вспомогательных репродуктивных технологий на основании оценки микробиоты эякулята: дис. ... канд. мед. наук. Челябинск, 2023. 140 с.
11. Kaufman L., Rousseeuw P. J. Clustering by means of medoids // *Statistical Data Analysis based on the L1 Norm* / ed. Y. Dodge. North Holland: Amsterdam, 1987. P. 405–416.
12. Rousseeuw P. J. Silhouettes: A graphical aid to the interpretation and validation of cluster analysis // *Journal of Computational and Applied Mathematics*. 1987. Vol. 20. P. 53–65.
13. Ivanov I. B., Kuzmin M. D., Gritsenko V. A. Microflora of the seminal fluid of healthy men and men suffering from chronic prostatitis syndrome // *International Journal of Andrology*. 2009. Vol. 32, no. 5. P. 462–467.
14. Weng S.-L., Chiu C.-M., Lin F.-M., Huang W.-C., Liang C., Yang T., Liu C.-Y., Wu W.-Y., Chang Y.-A., Chang T.-H., Huang H.-D. Bacterial communities in semen from men of infertile couples: metagenomic sequencing reveals relationships of seminal microbiota to semen quality // *PLoS one*. 2014. Vol. 9, no. 10. P. e110152.
15. Valcarce D. G., Genovés S., Riesco M. F., Martorell P., Herráez M. P., Ramón D., Robles V. Probiotic administration improves sperm quality in asthenozoospermic human donors // *Beneficial Microbes*. 2017. Vol. 8, no. 2. P. 193–206.
16. Почерников Д. Г., Постовойтенко Н. Т., Гетьман В. В., Галкина И. С. Диагностическая значимость выявления *Lactobacillus* spp. в эякуляте // *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2020. № 3. С. 42–48.
17. Yang H., Zhang J., Xue Z., Zhao C., Lei L., Wen Y., Dong Y., Yang J., Zhang L. Potential pathogenic bacteria in seminal microbiota of patients with different types of dyspermatisms // *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10, no. 1. P. 1–11.

#### References

1. Faddy M. J., Gosden M. D., Gosden R. G. A demographic projection of the contribution of assisted reproductive technologies to world population growth. *Reproductive Biomedicine Online*. 2018; 36 (4): 455–458.
2. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 5<sup>th</sup> ed. URL: [https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/44261/9789241547789\\_eng.pdf?sequence=1](https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/44261/9789241547789_eng.pdf?sequence=1).
3. Ruggeri M., Cannas S., Cubeddu M., Molicotti P., Piras G., Dessole S., Zanetti S. Bacterial agents as a cause of infertility in humans. *New Microbiologica*. 2016; 39 (3): 206–209.
4. EAU Guidelines / European Association of Urology. 2021.
5. Pagliuca C., Cariati F., Bagnulo F., Scaglione E., Carotenuto C., Farina F., D'Argenio V., Carraturo F., D'Aprile P., Vitiello M., Strina I., Alviggi C., Colicchio R., Tomaiuolo R., Salvatore P. Microbiological evaluation and sperm DNA fragmentation in semen samples of patients undergoing fertility investigation. *Genes*. 2021; 12 (5): 654.

6. Vander H., Prabha V. Alterations in human sperm parameters as a corollary of incubation with various uropathogenic microorganisms. *Gynecology and Reproductive Endocrinology*. 2019; 3 (1): 6–12.
7. Ibadin O. K., Ibeh I. N. Bacteriospermia and sperm quality in infertile male patient at University of Benin Teaching Hospital, Benin City, Nigeria. *Malaysian Journal of Microbiology*. 2008; 4 (2): 65–67.
8. Voroshilina E. S., Zornikov D. L., Ivanov A. V., Pochernikov D. G., Panacheva E. A. Microbiota of semen samples with normozoospermia: analysis of real-time pcr data. *Vestnik Rossiyskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Bulletin of the Russian State Medical University*. 2021; 5: 57–65 (In Russ.).
9. Pochernikov D. G., Postovoytenko N. T., Strel'nikov A. I. Comparative analysis of cultural and molecular genetic methods for studying ejaculate microbiota in male infertility. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery*. 2019; 20 (2): 40–47.
10. Panacheva E.A. Prognozirovanie effektivnosti embriologicheskogo etapa vspomogatel'nykh reproduktivnykh tekhnologiy na osnovanii otsenki mikrobioty eyakulyata = Predicting the effectiveness of the embryological stage of assisted reproductive technologies based on the assessment of the ejaculate microbiota. Dissertation of Doctor of Medical Sciences. Chelyabinsk; 2023: 140 p. (In Russ.).
11. Kaufman L., Rousseeuw P. J. Clustering by means of medoids. *Statistical Data Analysis based on the L1 Norm*. Ed. by Y. Dodge. North Holland: Amsterdam; 1987; 405–416.
12. Rousseeuw P. J. Silhouettes: A graphical aid to the interpretation and validation of cluster analysis. // *Journal of Computational and Applied Mathematics*. 1987; 20: 53–65.
13. Ivanov I. B., Kuzmin M. D., Gritsenko V. A. Microflora of the seminal fluid of healthy men and men suffering from chronic prostatitis syndrome. *International Journal of Andrology*. 2009; 32 (5): 462–467.
14. Weng S.-L., Chiu C.-M., Lin F.-M., Huang W.-C., Liang C., Yang T., Liu C.-Y., Wu W.-Y., Chang Y.-A., Chang T.-H., Huang H.-D. Bacterial communities in semen from men of infertile couples: metagenomic sequencing reveals relationships of seminal microbiota to semen quality. *PLoS one*. 2014; 9 (10): e110152.
15. Valcarce D. G., Genovés S., Riesco M. F., Martorell P, Herráez M. P., Ramón D, Robles V. Probiotic administration improves sperm quality in asthenozoospermic human donors. *Beneficial microbes*. 2017; 8 (2), 193–206.
16. Pochernikov D. G., Postovoytenko N. T., Getman V. V., Galkina I. S. Diagnostic significance of *Lactobacillus* spp. identification in ejaculate. *Vestnik Rossiyskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Bulletin of the Russian State Medical University*. 2020; 3: 38–44 (In Russ.).
17. Yang H., Zhang J., Xue Z., Zhao C., Lei L., Wen Y., Dong Y., Yang J., Zhang L. Potential pathogenic bacteria in seminal microbiota of patients with different types of dysspermatism. *Scientific Reports*. 2020; 10 (1): 1–11.

#### **Информация об авторах**

**Е. С. Ворошилина**, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия; врач клинической лабораторной диагностики, заведующая лабораторией, медицинский центр «Гармония», Екатеринбург, Россия, e-mail: voroshilina@gmail.com;

**Д. Л. Зорников**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия, e-mail: zornikov.rus@gmail.com;

**А. В. Иванов**, математик, Институт математики и механики имени Н. Н. Красовского Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия, e-mail: av.ivanov.2014@yandex.ru;

**Е. А. Паначева**, аспирант кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия; врач клинической лабораторной диагностики, медицинский центр «Гармония», Екатеринбург, Россия, e-mail: evgenia.snigireva@yandex.ru;

**В. М. Петров**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия, e-mail: petruha\_w@mail.ru.

#### **Information about the authors**

**E. S. Voroshilina**, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Professor of the Department, Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia; Clinical Laboratory Diagnostician, Head of the Laboratory, “Garmonia” Medical Center, e-mail: voroshilina@gmail.com;

**D. L. Zornikov**, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor of the Department, Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia, e-mail: zornikov.rus@gmail.com;

**A. V. Ivanov**, Mathematician, Institute of Mathematics and Mechanics, Yekaterinburg, Russia, e-mail: av.ivanov.2014@yandex.ru;

**E. A. Panacheva**, graduate student of the department microbiology, virology and immunology, Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia, Clinical Laboratory Diagnostician, “Garmonia” Medical Center, e-mail: evgenia.snigireva@yandex.ru;

Статья поступила в редакцию 20.07.2023; одобрена после рецензирования 17.06.2024; принята к публикации 02.07.2024.

The article was submitted 20.07.2023; approved after reviewing 17.06.2024; accepted for publication 02.07.2024.

**V. M. Petrov**, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor of the Department, Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia, e-mail: petruha\_w@mail.ru.