

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2023-16-3-87-92>

Воздействие бовгиалуронидазы азоксимера на бактериальные биопленки в эякуляте пациентов с хроническим простатитом

КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Е.Е. Брагина^{1,2}, Л.Г. Спивак^{3,4}, М.А. Газимиев³, М.С. Евдокимов⁴, О.А. Мхитарян^{3,4}

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»; д.1, ул. Москворечье, Москва, 115522, Россия

² НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ; д. 1, стр. 40, Ленинские горы, Москва, 119234, Россия

³ Институт урологии и репродуктивного здоровья человека Сеченовского университета; д. 2, стр. 1, Большая Пироговская ул., Москва, 119435, Россия

⁴ ООО «Семейная поликлиника №4»; 33, ул. Станционная, Королев, Московская обл., 141060, Россия

Контакт: Спивак Леонид Григорьевич, leonid.spivak@gmail.com

Аннотация:

Введение. Применение молекулярно-биологических методов при анализе бактериального разнообразия (метатаксономика) секрета предстательной железы и эякулята для оценки мужской микробиоты позволило выявить его разнообразие при хроническом простатите. При этом многие штаммы уропатогенов, выявленные при хроническом простатите, проявляют способность к образованию биопленок, при этом нет общепринятых методов лечения биопленочных инфекций.

Цель исследования. Изучить действие препарата бовгиалуронидазы азоксимер при хроническом простатите, которое может быть обусловлено ферментативным действием гиалуронидазы на матрикс бактериальных биопленок, что увеличивает биодоступность антибиотиков, приводя к переходу бактерий в планктонное состояние.

Материал и методы. Проведено электронно-микроскопическое исследование эякулята 42 пациентов хроническим простатитом, из них 32 случайно выбранных пациента получали комбинированное антибактериальное лечение (4-6 недель) совместно с бовгиалуронидазы азоксимером (12 недель) (группа I); 10 пациентов получали только антибактериальную терапию согласно клиническим рекомендациям (группа II).

На ультратонких срезах подсчитывали количество бактериальных микроколоний и нейтрофильных лейкоцитов на 100 сперматозоидов.

Результаты. В сперме 30 пациентов были выявлены бактериальные биопленки с характерной морфологией: наличие гетерогенных микроорганизмов в одной микроколонии и наличие волокнистого матрикса, в который погружены бактерии. После терапии в группе I выявляли уменьшение количества бактериальных микроколоний, исчезновение межклеточного матрикса и лежащие отдельно единичные бактерии (планктонное состояние), в ряде случаев обнаруживали повреждение клеточной стенки бактерий. В группе II также выявлены количественные изменения содержания микроколоний и нейтрофильных лейкоцитов, однако морфология микроколоний в группе II не менялась.

Выводы. Электронная микроскопия при исследовании эякулята пациентов с хроническим простатитом позволяет выявить особенности структуры бактериальных биопленок. При комбинированной антибактериальной терапии совместно с бовгиалуронидазы азоксимером изменяется матрикс биопленок и происходит переход бактерий в планктонную форму.

Ключевые слова: бактериальные биопленки; хронический простатит; Лонгидаза.

Для цитирования: Брагина Е.Е., Спивак Л.Г., Газимиев М.А., Евдокимов М.С., Мхитарян О.А. Воздействие бовгиалуронидазы азоксимера на бактериальные биопленки в эякуляте пациентов с хроническим простатитом. Экспериментальная и клиническая урология 2023;16(3):87-92; <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2023-16-3-87-92>

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2023-16-3-87-92>

Effects of azoximer bovgyaluronidase on bacterial biofilms in the ejaculate of patients with chronic prostatitis

CLINICAL STUDY

Е.Е. Bragina^{1,2}, L.G. Spivak^{3,4}, M.A. Gazimiev³, M.S. Evdokimov⁴, O.A. Mkhitarian^{3,4}

¹ N.P. Bochkov Research Centre for Medical Genetics; 1, Moskvorechye st., Moscow, 115478, Russian

² A. N. Belozersky Research Institute of Physico-Chemical Biology MSU; 1, building 40, Leninskye gory, Moscow, 119234, Russia

³ Institute of Urology and Human Reproductive Health of Sechenov University; 2/1, Bolshaya Pirogovskaya st., Moscow, 119435, Russia

⁴ «Family Polyclinic N 4»; 33, Stantsionnaya st., Korolev, Moscow region, 141060, Russia

Contacts: Leonid G. Spivak, leonid.spivak@gmail.com

Summary:

Introduction. The use of molecular biological methods in the analysis of bacterial diversity (metataxonomics) of prostate secretion and ejaculate to assess the male microbiota made it possible to identify the bacterial diversity of the microbiota in chronic prostatitis. At the same time, many strains of uropathogens identified

in chronic prostatitis show the ability to form biofilms, while there are no generally accepted methods for treating infections caused by bacterial biofilms.

Purpose of the study. To study the effect of bovhyaluronidase azoximer in chronic prostatitis, which may be due to the enzymatic action of hyaluronidase on the matrix of bacterial biofilms, which increases the bioavailability of antibiotics, leading to the transition of bacteria into a planktonic state.

Material and methods. An electron microscopic study of the ejaculate of 42 patients with chronic prostatitis was performed, of which 32 randomly selected patients received combined antibiotic treatment (4-6 weeks) together with bovhyaluronidase azoximer (12 weeks) (group I), 10 patients received only antibiotic therapy according to clinical guidelines (group II).

On ultrathin sections, the number of bacterial microcolonies and neutrophilic leukocytes per 100 spermatozoa was counted.

Results. In the semen of 30 patients, bacterial biofilms with a characteristic morphology were detected: the presence of heterogeneous microorganisms in one microcolony and the presence of a fibrous matrix in which bacteria are immersed. After therapy, in group I, a decrease in the number of bacterial microcolonies, the disappearance of the extracellular matrix, and isolated single bacteria (planktonic state) were detected, in some cases, damage to the bacterial cell wall was detected. In group II quantitative changes in the content of microcolonies and neutrophilic leukocytes were also revealed, however, the morphology of microcolonies in group II did not change.

Conclusions. electron microscopy in the study of the ejaculate of patients with chronic prostatitis allows us to reveal the features of the structure of bacterial biofilms. In combined antibiotic therapy together with bovhyaluronidase azoximer, the biofilm matrix changes and the bacteria transform into a planktonic form.

Key words: bacterial biofilms; chronic prostatitis; Longidaza.

For citation: Bragina E.E., Spivak L.G., Gazimiev M.A., Evdokimov M.S., Mkhitarian O.A. Effects of azoximer bovgialuronidase on bacterial biofilms in the ejaculate of patients with chronic prostatitis. *Experimental and Clinical Urology* 2023;16(3):87-92; <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2023-16-3-87-92>

ВВЕДЕНИЕ

Хронический простатит является частым и полиэтиологичным заболеванием. К числу причин простатита относят в том числе и инфекции, преимущественно бактериальные [1]. Хронический бактериальный простатит является причиной 5-10% всех случаев простатита, из которых не менее 30% связаны с рецидивирующими инфекциями мочевыводящих путей [2].

Применение молекулярно-биологических методов при анализе бактериального разнообразия (метатаксономика) секрета предстательной железы и эякулята для оценки мужской микробиоты позволило выявить его разнообразие при хроническом простатите [3, 4]. Изучение эякулята, а не секрета предстательной железы при хроническом простатите дает возможность оценить состояние не только предстательной железы, но и других органов репродуктивной системы (семенных пузырьков, эпидидимиса и др.). Для диагностики хронического бактериального простатита метод изучения эякулята обладает более высокой чувствительностью, чем экспрессия простатического секрета [5]. Кроме того, получение эякулята, а не секрета предстательной железы достаточно практично и дает возможность пациенту собрать материал в более комфортных условиях, не прибегая к помощи медицинского персонала.

С одной стороны, ряд исследователей считает присутствие бактерий в сперме обычным явлением, в том числе и у здоровых людей [6, 7]. Семенная плазма имеет специфическую микробиоту, и возможно постулировать, что присутствие специфической бактериальной среды может быть не вредным, но естественным для нормального функционирования сперматозоидов [8, 9]. С другой стороны, показано отличие бактериального состава спермы при хроническом простатите и у здоровых людей [10, 11]. При этом многие штаммы уро-

патогенов, выявленных при хроническом простатите, мультирезистентны и проявляют способность к образованию биопленок [12].

Бактериальные биопленки – комплексные полимикробные структуры, состоящие из бактериальных клеток, заключенных во внеклеточный полимерный матрикс, продуцируемый этими клетками [13]. Внеклеточный матрикс состоит из многих биомолекул, включает углеводы, белки и нуклеиновые кислоты. Внеклеточный матрикс биопленок выполняет скелетную функцию, поддерживая структуру биопленки и, вероятно, помогает бактериям сопротивляться антибактериальному действию. Бактерии в структуре биопленки умеют избегать эрадикации и до 1000 раз более устойчивы к антибиотикотерапии, чем их планктонные аналоги [14].

В настоящее время нет общепринятых методов лечения биопленочных инфекций [15]. Так как чувствительность к антибиотикам бактерий в составе биопленок значительно ниже, чем в планктонном состоянии, разрабатываются методы терапии, позволяющие разрушать целостность биопленок [16]. Идет интенсивная работа над синтезом и оценкой небольших молекул, разрушающих бактериальные биопленки [17–20].

Один из подходов к терапии заболеваний, связанных с биопленками – использование ферментных препаратов. Препарат бовгиалуронидаза азоксимер представляет собой пролонгированную термостабильную форму гиалуронидазы, которая обладает мукоцидным действием, разрушая гиалуроновую кислоту фиброзной ткани при воспалительных заболеваниях, сопровождающихся фиброзом [21]. Есть публикации о положительных результатах применения лонгидазы при хроническом простатите [22].

Цель исследования: изучить действие препарата бовгиалуронидаза азоксимер при хроническом проста-

тите, которое может быть обусловлено ферментативным действием гиалуронидазы на матрикс бактериальных биопленок, что увеличивает биодоступность антибиотиков, приводя к переходу бактерий в планктонное состояние.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено электронно-микроскопическое исследование эякулята 42 пациентов хроническим простатитом, из них 32 случайно выбранных пациента получали комбинированное антибактериальное лечение (4-6 недель) совместно с бовгиалуронидазы азоксимером (12 недель) (группа I), 10 пациентов получали только антибактериальную терапию согласно клиническим рекомендациям (группа II).

Электронно-микроскопическое исследование эякулята проводили до начала лечения и через 3 месяца после начала терапии.

Для проведения электронно-микроскопического исследования эякулят разводили изотоническим раствором хлористого натрия в 5-8 раз, добавляли 0,1 мл фиксатора (2,5% раствор глутарового альдегида на 0,1М какодилатном буфере, pH 7,2) и центрифугировали 15 мин при 3000 об/мин. К осадку добавляли 2 мл фиксатора и инкубировали в течение 2-24 час при 4°C. Осадок дофиксировали 1% раствором осмиевой кислоты, обезвоживали в этиловом спирте возрастающей концентрации и заливали в эпонаралдитовую смесь. Ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме «UltraCut 111», окрашивали цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе «JEM 100S» при увеличении x5000 (общий просмотр) и x16000–x18000 (исследование органоидов).

На ультратонких срезах подсчитывали количество бактериальных микроколоний и нейтрофильных лейкоцитов на 100 сперматозоидов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Бактериальные микроколонии были обнаружены в сперме 24 пациентов группы I и 6 пациентов группы II.

В процессе лечения 24 пациентов I группы, имеющих бактериальные микроколонии, у 12 (50%) их количество уменьшилось, а у 9 (37,5%) – не обнаруживались, у 3 (12,5%) – количество колоний не изменилось, из 6 больных II группы такие же изменения отмечены у 2 (33,3%), 1 (16,6%) и 3 (50%) больных соответственно. Снижение количества нейтрофилов отмечено у 22 (68,7%) больных I группы и 3 (30%) пациентов II группы (табл. 1, 2).

В процессе лечения у большинства пациентов группы I наблюдали количественные изменения содержания бактериальных колоний и нейтрофильных лейкоцитов (расчет на 100 сперматозоидов). Среднее количество бактериальных микроколоний до лечения было 11,4 в группе I и 10,3 – в группе II. После лечения среднее количество микроколоний было 4,1 в группе I и 6,2 – в группе II. Среднее количество нейтрофильных лейкоцитов до лечения было 14,8 в группе I и 16,0 в группе II. После лечения среднее количество нейтрофильных лейкоцитов было 4,7 в группе I и 14,2 в группе II.

Существенные изменения выявлены в морфологии бактериальных колоний. До лечения бактериальные микроколонии можно охарактеризовать как биопленки по характерным признакам: наличие гетерогенных микроорганизмов в одной микроколонии, ■

Таблица 1. Количество пациентов в I и II группах, имеющих бактериальные микроколонии в сперме, до и после терапии
Table 1. The number of patients in groups I and II with bacterial microcolonies in semen before and after therapy

Группа Group	Количество пациентов в группе Quantity patients in the group	Количество больных, имеющих колонии до лечения Number of patients with colonies before treatment	Количество больных, у которых количество колоний уменьшилось The number of patients in whom the number of colonies decreased	Количество больных, у которых колонии после лечения не обнаружены The number of patients in whom no colonies were found after treatment	Количество больных, у которых количество колоний не изменилось The number of patients in whom the number of colonies did not change	Количество больных, у которых колонии до и после лечения не обнаружены The number of patients in whom colonies were not found before and after treatment
Группа I Group I	32	24	12	9	3	8
Группа II Group II	10	6	2	1	3	4

Таблица 2. Количество пациентов I и II групп, у которых изменилось количество нейтрофильных лейкоцитов в сперме после терапии
Table 2. The number of patients of groups I and II in which the number of neutrophilic leukocytes in semen has changed

Группа Group	Количество пациентов в группе Quantity patients in the group	Количество больных, у которых количество нейтрофилов уменьшилось The number of patients in whom the number of neutrophils decreased	Количество больных, у которых количество нейтрофилов не изменилось The number of patients in whom the number of neutrophils did not change	Количество пациентов, у которых нейтрофилы до и после лечения не обнаружены The number of patients in whom neutrophils were not detected before and after treatment
Группа I Group I	32	22	5	5
Группа II Group II	10	3	6	1

наличие волокнистого матрикса, в который погружены бактерии.

На рис.1 представлены грамотрицательные бактерии, заключенные в волокнистый матрикс; на рис. 2 волокнистый матрикс окружает грамположительные и грамотрицательные бактерии. После терапии в группе I выявляются лежащие отдельно единичные бактерии (планктонное состояние) (рис.3), в ряде случаев обна-

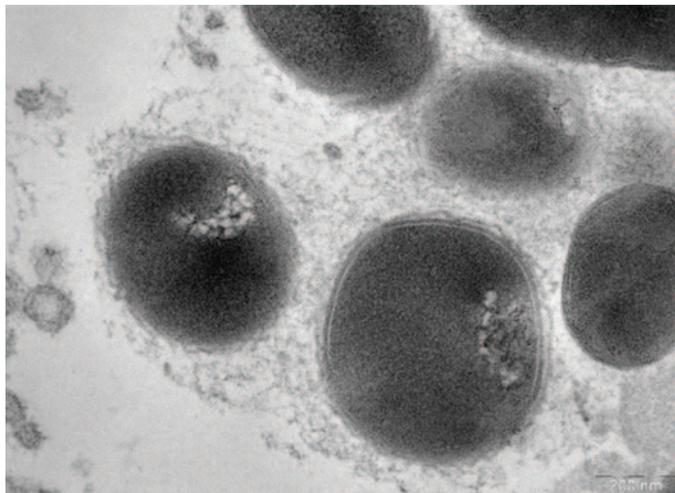


Рис.1. Грамотрицательные бактерии, заключенные в волокнистый матрикс, формируют биопленку в эякуляте (пациент группы I, до лечения)
Fig.1. Gram-negative bacteria, enclosed in a fibrous matrix, form a biofilm in the ejaculate (group I patient, before treatment)

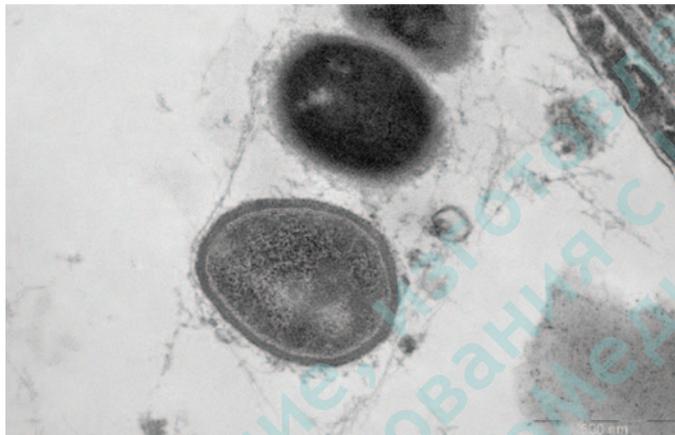


Рис.2. Грамположительные и грамотрицательные бактерии, заключенные в волокнистый матрикс, формируют биопленку в эякуляте (пациент группы I, до лечения)
Fig.2. Gram-positive and gram-negative bacteria, enclosed in a fibrous matrix, form a biofilm in the ejaculate (group I patient, before treatment)

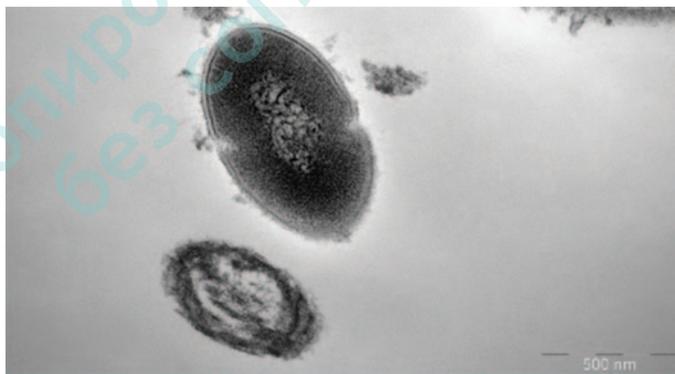


Рис.3. Грамотрицательная бактерия в планктонном состоянии. Матрикс вокруг бактерии отсутствует
Fig.3. Gram-negative bacterium in the planktonic state. There is no matrix around the bacteria. Group 1 patient after treatment



Рис.4. Грамположительные бактерии с поврежденной клеточной стенкой. Пациент группы I после лечения
Fig.4. Gram-positive bacteria with damaged cell walls. Group I patient after treatment

руживается повреждение клеточной стенки бактерий (рис. 4). В группе II также выявлены количественные изменения содержания микроколоний и нейтрофильных лейкоцитов, однако морфология микроколоний в группе II не меняется.

ОБСУЖДЕНИЕ

Для визуализации биопленок чаще всего используется сканирующая электронная микроскопия, позволяющая определять трехмерную структуру биопленки [23, 24]. Этот метод позволяет исследовать топографию и плотность биопленки на поверхности образца. Однако трансмиссионная электронная микроскопия, несмотря на сложный процесс пробоподготовки, считается золотым стандартом, позволяющим оценить внутреннюю структуру биопленки и наблюдать изменения матрикса в процессе терапии [25, 26]. Это важный момент, так как именно наличие внеклеточного полимерного матрикса в биопленках затрудняет действие противомикробных препаратов и делает бактерии устойчивыми к антибиотикам и другим лекарственным средствам [27].

Интересные результаты были получены при добавлении Лонгидазы® к стандартной антибактериальной терапии в лечении хронического простатита. Отмечалось снижение клинического индекса хронического простатита, а также уменьшение размера очагов плотности, фиброза в тканях предстательной железы, обогащение сосудистого рисунка, повышение скорости потока крови в сосудах [28, 29]. В настоящей работе мы показали изменение количества активных нейтрофилов в эякуляте, что является показателем уменьшения выраженности воспалительного процесса. В контрольной группе (антибиотики без добавления лонгидазы) содержание нейтрофильных лейкоцитов в эякуляте практически не изменилось.

Ключевым аспектом данного исследования является оценка эффективности бовгиалуридазы азосимера в отношении возможности разрушения био-

пленок, формирующих защиту микроколоний различных бактерий в эякуляте и способствующих устойчивости микроорганизмов к антимикробной терапии. Ранее подобные эффекты Лонгидазы® были изучены исключительно *in vitro* [30]. Наше исследование является первым, доказывающим этот эффект *in vivo*. Благодаря применению электронной микроскопии были обнаружены различия в эякуляте пациентов до и после лечения. Данные различия отмечались именно в группе пациентов, получавших бовгиалуронидазу азоксимер: продемонстрировано уменьшение количества колоний микробов, окруженных матриксом различной природы, чаще мукополисахаридной (биопленки), либо изменения морфологии самих микроколоний. Исчезновение межклеточного матрикса и переход бактерий в планк-

тонную форму существования является показателем разрушения бактериальных биопленок. В контрольной группе подобных изменений не происходило.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение трансмиссионной электронной микроскопии при исследовании эякулята пациентов с хроническим простатитом позволяет выявить особенности структуры бактериальных биопленок в процессе терапии. В настоящей работе показали, что при комбинированной антибактериальной терапии совместно с бовгиалуронидазы азоксимером изменяется матрикс биопленок и происходит переход бактерий в планктонную форму. ■

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Ejike CE, Ezeanyika LU. Prevalence of chronic prostatitis symptoms in a randomly surveyed adult population of urban-community-dwelling Nigerian males. *Int J Urol* 2008;15(4):340–3. <https://doi.org/10.1111/j.1442-2042.2008.02003.x>.
2. Shang Y, Liu C, Cui D, Han G, Yi S. The effect of chronic bacterial prostatitis on semen quality in adult men: a meta-analysis of case-control studies. *Sci Rep* 2014;4(1):7233. <https://doi.org/10.1038/srep07233>.
3. Коган М.И., Набока Ю.Л., Исмаилов Р.С. Микробиота секрета простаты: сравнительный анализ хронического простатита категорий II и IIIA. *Урология* 2020;(2):16–22. <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.18565/urology.2020.2.16-22>. [Kogan M.I., Naboka Y.L., Ismailov R.S. Prostatic secretion microbiota: a comparative analysis of the chronic prostatitis II and IIIA category. *Urologiya = Urologiia* 2020;(2):16–22. (In Russian)].
4. Suárez JP, Cardona Maya WD. Microbiota, prostatitis, and fertility: bacterial diversity as a possible health ally. *Adv Urol* 2021;1007366. <https://doi.org/10.1155/2021/1007366>.
5. Budía A, Luis Palmero J, Broseta E, Tejadillos S, Benedicto A, Queipo JA, et al. Value of semen culture in the diagnosis of chronic bacterial prostatitis: a simplified method. *Scand J Urol Nephrol* 2006;40(4):326–331. <https://doi.org/10.1080/00365590600748247>.
6. Cottell E, Harrison RF, McCaffrey M, Walsh T, Mallon E, C Barry-Kinsella. Are seminal fluid microorganisms of significance or merely contaminants? *Fertil Steril* 2000;74(3):465–70. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(00\)00709-3](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(00)00709-3).
7. Rodin DM, Larone D, Goldstein M. Relationship between semen cultures, leukospermia, and semen analysis in men undergoing fertility evaluation. *Fertil Steril* 2003;79(Suppl 3):1555–8. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(03\)00340-6](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(03)00340-6).
8. Weng SL, Chiu CM, Lin FM, Huang WC, Liang C, Yang T, et al. Bacterial communities in semen from men of infertile couples: metagenomic sequencing reveals relationships of seminal microbiota to semen quality. *PLoS One* 2014;9:e110152. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110152>. eCollection 2014.
9. Mändar R, Punab M, Borovkova N, Lapp E, Kiiker R, Korrovits P, et al. Complementary seminovaginal microbiome in couples. *Res Microbiol* 2015;166(5):440–7. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2015.03.009>.
10. Delcaru C, Alexandru I, Podgoreanu P, Grosu M, Stavropoulos E, Chifiriuc MC, et al. Microbial biofilms in urinary tract infections and prostatitis: etiology, pathogenicity, and combating strategies. *Pathogens* 2016;5(4):65. <https://doi.org/10.3390/pathogens5040065>.
11. Magri V, Boltri M, Cai T, Colombo R, Cuzzocrea S, De Visschere P, et al. Multidisciplinary approach to prostatitis. *Arch Ital Urol Androl* 2019;90(4):227–248. <https://doi.org/10.4081/aiua.2018.4.227>.
12. Mazzoli S. Biofilms in chronic bacterial prostatitis (NIH-II) and in prostatic calcifications. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2010;59(3):337–44. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2010.00659.x>.
13. Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol* 2010;8(9):623–33. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2415>.
14. Rather MA, Gupta K, Mandal M. Microbial biofilm: formation, architecture, antibiotic resistance, and control strategies. *Braz J Microbiol* 2021;52(4):1701–18. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00624-x>.
15. Lundin PM, Fiser BL, Blackledge MS, Pickett HL, Copeland AL. Functionalized self-assembled monolayers: versatile strategies to combat bacterial biofilm formation. *Pharmaceutics* 2022;14(8):1613. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14081613>.
16. Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* 2001;358(9276):135–138. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)05321-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)05321-1).
17. Roy R, Tiwari M, Donelli G, Tiwari V. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. *Virulence* 2018;9:522–554. <https://doi.org/10.1080/21505594.2017.1313372>.
18. Parrino B, Schillaci D, Carnevale I, Giovannetti E, Diana P, Cirrincione G, et al. Synthetic small molecules as anti-biofilm agents in the struggle against antibiotic resistance. *Eur J Med Chem* 2019;161:154–178. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.10.036>.
19. Hemmati F, Rezaee MA, Ebrahimzadeh S, Yousefi L, Nouri R, Kafil HS, et al. Novel strategies to combat bacterial biofilms. *Mol Biotechnol* 2021;63(7):569–86. <https://doi.org/10.1007/s12033-021-00325-8>.
20. Ghosh A, Jayaraman N, Chatterji D. Small-molecule inhibition of bacterial biofilm. *ACS Omega* 2020;5(7):3108–15. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03695>.
21. Бутов Ю.С., Васенова В.Ю., Возможности применения и терапевтическая эффективность Лонгидазы при патологиях соединительной ткани. *Эффективная фармакотерапия Дерматология и Дерматокосметология* 2012;(1):40–43. [Butov Yu.S., Vasenova V.Yu., Possibilities of application and therapeutic efficacy of Longidase in connective tissue pathologies. *Effektivnaya farmakoterapiya Dermatologiya i Dermatocosmetologiya = Effective pharmacotherapy Dermatology and Dermatocosmetology* 2012;(1):40–43. (In Russian)].
22. Зайцев А.В., Ходырева Л.А., Дударева А.А., Пушкарь Д.Ю. Современный взгляд на применение ферментных препаратов у больных хрониче-

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- ским простатитом. *Клиническая дерматология и венерология* 2016;(3): 53-60. <https://doi.org/10.17116/klinderma201615353-60>. [Zaitsev A.V., Khodyreva L.A., Dudareva A.A., Pushkar D.Yu. The use of enzymatic drugs in patients with chronic prostatitis: the current view. *Klinicheskaya Dermatologiya i Venerologiya = Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology* 2016;(3): 53-60. (In Russian)].
23. Bergmans L, Moisiadis P, Van Meerbeek P, Quirynen M, Lambrechts P. Microscopic observation of bacteria: review highlighting the use of environmental SEM. *Int Endod J* 2005;38(11):775-88. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2005.00999.x>.
24. Hannig C, Follo M, Hellwig E, Al-Ahmad A. Visualization of adherent microorganisms using different techniques. *J Med Microbiol* 2010;59(Pt 1):1-7. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.015420-0>.
25. Grin I, Schwarz H, Linke D. Electron microscopy techniques to study bacterial adhesion. *Adv Exp Med Biol* 2011;715:257-69. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0940-9_16.
26. Keleş, A., Keskin, C., Kalkan, M., Yakupoğulları, Y., Gül, M., Aydemir, H., et al. Visualization and characterization of Enterococcus faecalis biofilm structure in bovine dentin using 2D and 3D microscopic techniques. *Arch Microbiol* 2020; 203(1):269-277. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02031-6>.
27. Gupta P, Sarkar S, Das B, Bhattacharjee S, Tribedi P. Biofilm, pathogenesis and prevention—a journey to break the wall. *Arch Microbiol* 2016;198(1):1-15. <https://doi.org/10.1007/s00203-015-1148-6>.
28. Авдошин В.П., Андрюхин М.И., Михайликов Т.Г. Опыт применения ферментной терапии (Лонгидаза 3000 МЕ, ректальные суппозитории) в комплексном лечении хронического простатита. *Урология* 2008;(6):55-61. [Avdoshin V.P., Andryukhin M.I., Mikhailikov T.G. Magneto-laser and enzyme therapy in combined treatment of patients with chronic bacterial prostatitis. *Urologiya = Urologiia* 2008;(6):55-61. (In Russian)].
29. Кульчавеня Е.В., Швецова О.П., Бреусов А.А. Обоснование назначения и эффективность препарата Лонгидаза у больных хроническим простатитом. *Урология* 2018;(4):64-71 <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.18565/urology.2018.4:64-71> [Kulchavenya E.V., Shvetsova O.P., Breusov A.A. Rationale of use and effectiveness of longidaza in patients with chronic prostatitis. *Urologiya = Urologiia* 2018;(4):64-71. (In Russian)].
30. Gatina A, Trizna E, Kolesnikova A, Baidamshina D, Gorshkova A, Drucker V, et al. The Bovhyaluronidase Azoximer (Longidaza®) Disrupts Candida albicans and Candida albicans-Bacterial Mixed Biofilms and Increases the Efficacy of Antifungals. *Medicina (Kaunas)* 2022;58(12):1710. <https://doi.org/10.3390/medicina58121710>.

Сведения об авторах:

Брагина Е.Е. – д.б.н., старший научный сотрудник НИИ физико-химической биологии им.А.Н. Белозерского МГУ, ведущий научный сотрудник ФГБНУ Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова; Москва, Россия; РИНЦ AuthorID 179511, <https://orcid.org/0000-0002-8422-4962>

Спивак Л.Г. – д.м.н., профессор Института урологии и репродуктивного здоровья человека Сеченовского университета, председатель Совета Ассоциации специалистов консервативной терапии в урологии АСПЕКТ; Москва, Россия; РИНЦ AuthorID 659929, <https://orcid.org/0000-0003-1575-6268>

Газимиев М.А. – д.м.н., профессор, зам. директора Института урологии и репродуктивного здоровья человека Сеченовского университета, директор Национального медицинского исследовательского центра по профилю «урология»; Москва, Россия; РИНЦ AuthorID 662364, <https://orcid.org/0000-0002-8398-1865>

Евдокимов М.С. – к.м.н., главный врач ООО «Семейная поликлиника №4»; Москва, Россия; <https://orcid.org/0009-0009-5694-4848>

Мхитарян О.А. – врач-уролог, аспирант Института урологии и репродуктивного здоровья человека Сеченовского университета; Москва, Россия

Вклад авторов:

Брагина Е.Е. – проведение электронно-микроскопического исследования, написание текста статьи, 25%
Спивак Л.Г. – концепция и дизайн исследования, написание текста статьи, 25%
Газимиев М.А. – концепция и дизайн исследования, написание текста статьи, 10%
Евдокимов М.С. – сбор и обработка материала, 10%
Мхитарян О.А. – сбор и обработка материала, 10%

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: Статья подготовлена при поддержке ООО «НПО ПЕТРОВАКС ФАРМ». Мнение автора может не совпадать с мнением компании.

Статья поступила: 12.06.23

Результаты рецензирования: 27.07.23

Исправления получены: 29.07.23

Принята к публикации: 14.08.23

Information about authors:

Bragina E.E. – Dr. Sci., Senior Researcher at A.N. Belozersky Research Institute of Physical and Chemical Biology, Moscow State University, Leading Researcher at N.P. Bochkov Medical Genetic Research Center; Moscow, Russia; RSCI AuthorID 179511, <https://orcid.org/0000-0002-8422-4962>

Spivak L.G. – Dr. Sci., Professor of the Institute of Urology and Human Reproductive Health of Sechenov University, Chairman of the Council of the Association of Specialists in Conservative Therapy in Urology ASPECT; Moscow, Russia; RSCI AuthorID 659929, <https://orcid.org/0000-0003-1575-6268>

Gazimiev MA – Dr. Sci., Professor, Deputy Director of the Institute of Urology and Human Reproductive Health of Sechenov University, Director of the National Medical Research Center for Urology; Moscow, Russia; RSCI AuthorID 662364, <https://orcid.org/0000-0002-8398-1865>

Evdokimov MS – Candidate of Medical Sciences, Chief Physician of LLC «Family Polyclinic N 4»; Moscow, Russia; <https://orcid.org/0009-0009-5694-4848>

Mkhitarayan O.A. – Urologist, postgraduate student at the Institute of Urology and Human Reproductive Health of Sechenov University; Moscow, Russia

Authors' contributions:

Bragina E.E. – conducting electron microscopic studies, writing the text of the article, 25%
Spivak L.G. – the concept and design of the study, writing the text of the article, 25%
Gazimiev M.A. – the concept and design of the study, writing the text of the article, 10%
Evdokimov M.S. – collection and processing of material, 10%
Mkhitarayan O.A. – collection and processing of material, 10%

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

Financing. The article was prepared with the support NPO PETROVAKS PHARM LLC. The opinion of the author may not coincide with the opinion of the company.

Received: 12.06.23

Peer review: 27.07.23

Corrections received: 29.07.23

Accepted for publication: 14.08.23