



УДК 579.88

Частота виявлення мікоплазм урогенітального тракту жінок у м. Дніпропетровськ

К.В. Бубало^{1,2}, Л.П. Голодок¹, А.І. Вінніков¹

¹Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпропетровськ, Україна

²Діагностичний центр Дніпропетровської медичної академії, Дніпропетровськ, Україна

Досліджено частоту виявлення урогенітальних мікоплазм у жінок різного віку культуральним методом тест-система DUO з метою встановлення їх етіологічного значення у розвитку запальних процесів урогенітального тракту жінок. Ідентифіковано досліджувані культури *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* у діагностичному титрі $>10^4$ КУО/мл і у титрі $<10^3$ КУО/мл. Із 120 досліджуваних ізолятів урогенітального тракту жінок виявлено 113 штамів генітальних мікоплазм, із них 63% – *Ureaplasma urealyticum*, 32% – *Mycoplasma hominis*, 3% – мікробна асоціація *Ureaplasma urealyticum* – *Mycoplasma hominis*. Домінантним збудником запальних процесів урогенітального тракту жінок вікової категорії 24–29 років є *Ureaplasma urealyticum*. За відсутності ознак запального процесу *U. urealyticum* зустрічається у низькій концентрації удвічі частіше, ніж у діагностично значимій концентрації. Збільшення кількості колонієтворних одиниць міко- та уреаплазм слугує маркером розвитку запального процесу урогенітального тракту жінок. Культуральний метод тест-система DUO дозволяє дати чутливішу кількісну характеристику мікоплазм, а ПЛІР – виявити збудник у дуже низькій концентрації. Для ефективної лабораторної діагностики необхідно застосовувати комплексні методи для підвищення вірогідності виявлення збудника та верифікації діагнозу урогенітальної інфекції.

Ключові слова: тест-система DUO; ПЛІР; *Ureaplasma urealyticum*; *Mycoplasma hominis*; урогенітальний тракт

Frequency of urogenital mycoplasma detection in women of Dnipropetrovsk

K.V. Bubalo^{1,2}, L.P. Golodok¹, A.I. Vinnikov¹

¹Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Dnipropetrovsk, Ukraine

²Diagnostic Center of Dnipropetrovsk Medical Academy, Dnipropetrovsk, Ukraine

The frequency of urogenital mycoplasmas detection in women of different ages was studied in culture with the help of DUO test-system in order to determine their etiological significance in the development of inflammatory processes of women urogenital tract. We identified the researched cultures *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* in the diagnostic titer $>10^4$ TEM/ml indicating severe contamination by microorganisms, and in the titer $<10^3$ TEM/ml, the carrier state of the identified microorganisms. Of 120 studied isolates of women urogenital tract there have been identified 113 strains of genital mycoplasmas, among which 63% – *U. urealyticum*, 32% – *M. hominis*, 3% – microbial association of *U. urealyticum* – *M. hominis*. According to the study of frequency of detection of urogenital mycoplasma using DUO test-system culture method, it was found that the most frequently observed ones were *U. urealyticum* in 75 women (63%) of all individuals, *M. hominis* in 38 women (32%) in different diagnostic titers ($>10^4$ TEM/ml, $<10^3$ TEM/ml) in 4 women (3%) *U. urealyticum* – *M. hominis* was observed in microbial associations and mycoplasma were not found in 3 women (2%) of all surveyed patients. *U. urealyticum* and *M. hominis* in the diagnostic titer of $>10^4$ TEM/ml was observed in 55 women (46%) and 20 women (17%), respectively, and the titer of $<10^3$ CFU/ml *U. urealyticum* was observed in 20 women (17%), and *M. hominis* in 18 women (15%). Analysis of genital mycoplasmas distribution among women of different ages has shown that there was the certain correlation between the patient age and frequency of genital mycoplasmas detection: the highest detection rate was observed in women age of 24–29. The dominant pathogen of urogenital tract inflammatory processes in women in 24–29 age group is *U. urealyticum*. The comparison of DUO test-system and PCR data has shown that DUO test-system in culture allowed more sensitive quantitative characterization of mycoplasmas, however, for the more effective laboratory diagnostics it was necessary to use complex methods to increase the probability of pathogen detection. Incidence of mycoplasmas in women with the presence of inflammation was higher than in women having the inflammation in the genital tract. In this case, potential symptom-

free carriers exist for the development of inflammation of urogenital tract of women. Scientists have proved that mycoplasma could cause vulvovaginitis, urethritis, paraurethritis, bartholinitis, adnexitis, salpingitis, endometritis, and ovaritis.

Keywords: DUO test-system; PCR; *Ureaplasma urealyticum*; *Mycoplasma hominis*; urogenital tract

Вступ

Мікоплазмові уrogenітальні інфекції посідають одне з провідних місць серед інших інфекцій людини, що передаються статевим шляхом (Rivera, 2001; Taylor-Robinson, 2012; LeRoy, 2012). При цьому показники відповідної захворюваності у різних регіонах світу досить варіабельні, коливаються в межах 10–80% усієї інфекційної уrogenітальної патології. Поширеність мікоплазмової уrogenітальної інфекції складає 3,9–31,0% у Мексиці, (Rivera, 2004), 44,8% – у Китаї (Zuo, 2006), 54,9% – у Туреччині (Karabay, 2006). В Україні нині немає статистично достовірних даних про поширеність уrogenітального мікоплазмозу у різних груп населення. Аналіз показників поширеності генітальних мікоплазм в Україні має ряд труднощів через відсутність достатньо надійних і достовірних епідеміологічних досліджень. Отримані в останні десятиліття дані вітчизняних і зарубіжних дослідників класифікують захворювання уrogenітального тракту, асоційовані з мікоплазмовою інфекцією, як один із проявів дисбалансу біоти в цілому.

Результати досліджень різних учених досить суперечливі. Деякі дослідники вважають мікоплазми умовно-патогенними мікроорганізмами, обґрунтовуючи це можливістю виділення їх від клінічно здорових, а також осіб із безсимптомним клінічним перебігом мікоплазмозу (Лурова, 2004; Petrikos, 2007; Pereyre, 2009). Разом із цим, на думку інших авторів, мікоплазми є патогенними агентами, а виділення їх від клінічно здорових осіб слід розглядати як загрозове носійство, з огляду на подовжену дію персистувального збудника, а також можливість підвищення вірулентності штамів мікоплазм (Bashmakova, 2006). Незважаючи на неоднозначність думок відносно патогенної ролі *Mycoplasma hominis* і *Ureaplasma urealyticum*, ВООЗ розглядає їх як можливих етіологічних агентів при гонококовому уретриті, запальних захворюваннях органів малого таза та бактеріальному вагінозі. При цьому як моноінфекція мікоплазмоз спостерігається лише в 12–18% випадків, а в асоціації з іншими патогенними мікроорганізмами (мікст-інфекція) – у 87–90%, із хламідіями – в 25–30% випадків (Boesen, 2004; Ross, 2005).

За сучасними уявленнями *M. hominis*, *U. urealyticum*, *U. parvum* є умовно-патогенними мікроорганізмами, які можуть виявитися в уrogenітальному тракті практично здорових жінок. Але носійство мікоплазм не заперечує їх етіологічну роль, оскільки подібне носійство спостерігається в умовах багатьох інфекцій. Як і у випадку інших безсимптомних інфекцій, при мікоплазмозах мікроорганізми можуть активізуватися під дією різних екзогенних і ендогенних факторів (Zdrodowska-Stefanow et al., 2006). Зростання інтересу до цієї групи інфекцій сприяло детальнішому вивченню клінічно-патогенетичних особливостей дії мікоплазм, зокрема їх впливу на репродуктивну, менструальну, ста-

теву функції жіночого організму, що визначає високу соціальну значимість даної проблеми.

На основі багатьох проведених досліджень розроблено різні методи діагностики жінок із мікоплазмовою інфекцією: бактеріологічний, молекулярний (ПЛР), біохімічний (тест-система DUO) і серологічний. За останні роки у лабораторній діагностиці відбулися помітні позитивні зміни, які дозволяють значною мірою оптимізувати клінічно-лабораторні обстеження пацієнтів, контролювати ефективність терапії. Разом із цим проблема повноцінного обстеження та лікування хворих залишається цілком актуальною, свідченням цього є невдачі терапії, хронізація процесу (Deguchi, 2004). Враховуючи все наведене вище, вивчення мікоплазмової інфекції дуже актуальне у наш час, оскільки нині спостерігається значне поширення цієї інфекції в популяції (10–50% – *M. hominis*, 11–80% – *U. urealyticum*), при цьому її оцінка як епідеміологами, так і клініцистами (Jensen, 2012) недостатня.

Мета роботи – визначити частоту виявлення мікоплазм і уреаплазм серед жінок різного віку, провести оцінку біоценозу уrogenітального тракту жінок із безсимптомним носійством уреа- та мікоплазмової інфекції за допомогою різноманітних методів.

Матеріал і методи досліджень

Посів біологічного матеріалу на живильні середовища, дослідження та інтерпретацію отриманих результатів проводили загальноприйнятими методами (Medinform, 2003). Ідентифікували виділені мікроорганізми бактеріоскопічними, бактеріологічними, біохімічними методами.

На першому етапі дослідження здійснили взяття та висів біологічного матеріалу. У пацієнтів для бактеріологічного аналізу відбирали такі його зразки: відокремлюване уретри та цервікального каналу. Матеріал за допомогою спеціального стерильного зонда вносили у рідке транспортне живильне середовище, яке містить усі необхідні речовини для зберігання уреаплазм і мікоплазм, інгібуючи ріст сторонньої мікрофлори за рахунок наявності у середовищі антибіотиків і антимікотиків. Потім із транспортного живильного середовища здійснювали пересів матеріалу на сухі комерційні диференційно-діагностичні середовища, які, крім основних поживних речовин для росту мікоплазм (холестерину та нуклеїнових кислот), містять 0,1% аргініну для виділення *M. hominis*, 0,1% сечовини – для *U. urealyticum*, а також індикатор фенолового червоного у концентрації 0,002%, зміна кольору якого свідчить про розклад аргініну або сечовини з утворення аміаку. Посіви інкубували в термостаті 24–48 годин для уреаплазм і 48–72 години для мікоплазм за температури +37 °С. Жовто-червоний колір середовища переходить у ліловий у результаті ферментативної активності за рахунок росту мікоплазм. Цей метод дозволяє візуально визначити наявність мікоплазм у досліджуваному матеріалі.

На другому етапі дослідження проводили кількісну оцінку чисельності *U. urealyticum* і *M. hominis* культуральним методом за допомогою тест-системи DUO (Sanofi – Франція), яка дозволяє визначити титр обох мікроорганізмів у досліджуваному матеріалі. Мікропіпеткою переносили клінічний матеріал на кожну лунку плашки. Плашки з клінічним матеріалом культивували протягом 24 годин за температури +37 °С. Після інкубації проводили оцінку результатів. Позитивні результати дослідження враховували при діагностично значимому титрі >10⁴ КУО/мл. Також проводили виявлення генетичного матеріалу у досліджуваних зразках за допомогою методу ПЛР. Генотипування культур, накопичених у рідкому живильному середовищі, проводили за допомогою тест-системи Літех (Москва). Синтез ДНК здійснювали на ампліфікаторі Терцик (ДНК-технологія, Росія). Кількість ДНК мікроорганізмів у зразку прийнято виражати в геном-еквівалентах (ГЕ).

У мікробіологічному відділі Діагностичного центру Дніпропетровської медичної академії досліджено зразки біологічного матеріалу 120 жінок різного віку.

Результати та їх обговорення

На першому етапі вивчали загальну картину біоценозу уrogenітального тракту жінок. Виділено 113 штамів генітальних мікоплазм, із них 75 – *U. urealyticum*, 38 – *M. hominis*. Згідно з дослідженням частоти виявлення уrogenітальних мікоплазм культуральним методом за допомогою тест-системи DUO виявили, що найчастіше спостерігалась *U. urealyticum*, найменше – *M. hominis* у різних діагностичних титрах (>10⁴, <10³ КУО/мл), у незначній кількості виявлялися *U. urealyticum* – *M. hominis* у мікробній асоціації – чотири досліджених зразка, зовсім не виявлялися мікоплазми у трьох зразках з усіх досліджених ізолятів уrogenітального тракту обстежених пацієнток (табл. 1).

Таблиця 1

Кількість досліджених зразків пацієнток із діагностичним титром *M. hominis* і *U. urealyticum*

Діагностичний титр мікроорганізмів	<i>M. hominis</i> , % (n = 38)	<i>U. urealyticum</i> , % (n = 75)
>10 ⁴ КУО/мл	17	46
<10 ³ КУО/мл	15	17
Усього	32	63

Дослідження частоти виявлення мікоплазм методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) показало наявність генетичного матеріалу *U. urealyticum* у 65 зразках (54%) досліджуваного матеріалу, при цьому 38 зразків (32%) відповідали значенню *U. urealyticum* у титрі >10⁴ КУО/мл і 27 зразків (22%) відповідали кількості *U. urealyticum* у матеріалі <10³ під час визначення культуральним методом за допомогою тест-системи DUO, у 10 зразках генетичного матеріалу не виявлено. Генетичний матеріал *M. hominis* виявлено у 38 зразках (32%), при цьому 20 зразків (17%) відповідали значенню *M. hominis* у титрі >10⁴ КУО/мл і 18 (15%) відповідали кількості штамів *M. hominis* у титрі <10³ КУО/мл.

Серед усіх зразків, які мали позитивні результати, отримані методом ПЛР, тільки 38 зразків (32%) містили *U. urealyticum* у титрі >10⁴ КУО/мл і 20 зразків (17%) – *M. hominis* у концентрації >10⁴ КУО/мл, які мають клінічне значення. Менші концентрації цих мікроорганізмів не мають клінічного значення, хоча і виявляються ПЛР як позитивні. Імовірність отримання помилково позитивних результатів за використання ПЛР суттєво вища, ніж за тестування в наборі «Мікоплазма DUO». Це пов'язано з можливим неспецифічним зв'язуванням ДНК уреа- та мікоплазми як мішені, а також із можливою контамінацією зразків продуктами реакції.

На другому етапі дослідження з метою вивчення розповсюдження мікоплазмової інфекції у жінок різних вікових категорій пацієнток поділили на вікові групи. До I групи увійшли 78 пацієнток: виявлення мікоплазмової та уреаплазмової уrogenітальної інфекції, клінічні прояви запальних процесів у сечостатевої системи, відсутність вагітності. До II групи увійшли 39 пацієнток, у яких не виявлялося ознак запального процесу генітального тракту (безсимптомне носійство).

Частота виявлення генітальних мікоплазм у групі жінок із проявами запального процесу уrogenітального тракту: у дівчат 12–17 років – 3%, у віковій групі 18–23 – 15%, у жінок віком 24–29 – 32%, у віковій групі 30–35 років – 14%, у жінок понад 36 років – 3%. У жінок без прояву запального процесу частота виявлення мікоплазм менша, ніж у I групі обстежених пацієнток: у дівчат 12–17 років – 1%, у віковій групі 18–23 – 3%, у жінок віком 24–29 – 15%, у віковій групі 30–35 – 11%, у жінок понад 36 років – 3% (табл. 2).

Таблиця 2

Частота поширення (%) генітальних мікоплазм у жінок різних вікових груп

Вік, років	I група (n = 78)			II група (n = 39)		
	<i>U. urealyticum</i>	<i>M. hominis</i>	<i>M. hominis</i> – <i>U. urealyticum</i>	<i>U. urealyticum</i>	<i>M. hominis</i>	<i>M. hominis</i> – <i>U. urealyticum</i>
12–17	2	1	0	0	1	0
18–23	9	5	1	2	1	0
24–29	21	8	3	9	6	0
30–35	10	4	0	6	5	0
Старші 36	0	2	1	1	2	0
Усього	42	20	5	17	10	0

Порівняльна оцінка даних, отриманих у результаті лабораторного дослідження, показала, що найчастіше генітальні мікоплазми зустрічаються у жінок віком 24–

29 років. При цьому значно частіше виявляються *U. urealyticum*, ніж *M. hominis*, яка являє собою мікроорганізм із вищим патогенним потенціалом, ніж

M. hominis. За відсутності ознак запального процесу *U. urealyticum* зустрічається у низькій концентрації удвічі частіше, ніж у діагностично значимій концентрації. Збільшення кількості колонієтворних одиниць міко- та уреаплазм може слугувати маркером розвитку запального процесу уrogenітального тракту жінок. Найчастіше поширення генітальних мікоплазм у жінок віком 24–29 років пов'язане з підвищеною сексуальною та репродуктивною активністю, інколи воно може бути пов'язане з наявністю герпесвірусної інфекції та кандидомікозу.

Найменша частота виявлення спостерігається у дітей і поодинокі випадки – у жінок віком понад 36 років. Отримані дані свідчать про зв'язок *U. urealyticum* із клінічними проявами запальних процесів уrogenітального тракту і збігаються з результатами інших авторів. Ряд авторів (Robertson, 2002; Aujard, 2005; Jensen, 2013) довели, що мікоплазми можуть бути причиною вульвовагініту, уретриту, парауретриту, бартолініту, андекситу, сальпінгіту, ендометриту, запалення яєчників. Безсимптомне носійство уrogenітальних мікоплазм слід розглядати як стан ризику розвитку інфекційного процесу внаслідок дії факторів різної природи: змішані інфекції, зміна гормонального та імунного статусу організму тощо. Персистенція уrogenітальних мікоплазм в організмі жінки може супроводжуватися прихованими паталогічними змінами, пов'язаними з дисбіозом піхви. У вигляді моноінфекції мікоплазмозова інфекція була присутня лише у 20 пацієнтів (17%), в усіх інших випадках (83%) мікоплазмозова інфекція виявлялася у поєднанні з іншими етіологічно значимими мікроорганізмами у вигляді мікст-інфекції.

Висновки

Із виділень уrogenітального тракту жінок ідентифіковано генітальні мікоплазми *U. urealyticum* у 63% (75 зразків) і *M. hominis* – у 32% випадків (38 зразків). Аналіз розповсюдження мікроорганізмів у жінок різного віку показав, що домінуючим збудником уреаплазмозової інфекції у жінок є *U. urealyticum*. Найпоширеніша уреаплазмозова інфекція у жінок віком 24–29 років, що пов'язано з високою статевою активністю. У вигляді моноінфекції мікоплазмозова інфекція присутня лише у 20 пацієнток (17%), в інших випадках (83%) мікоплазмозова інфекція виявлялася у поєднанні з іншими етіологічно значимими мікроорганізмами у вигляді мікст-інфекції.

Порівнюючи різні методи дослідження (молекулярні методи ПЛР і культуральний метод тест-систему DUO), встановили, що для ефективнішої лабораторної діагностики мікоплазмозової інфекції необхідно застосовувати комплексну діагностику для підвищення вірогідності виявлення збудника у досліджуваних зразках.

Бібліографічні посилання

Aujard, Y., Maury, L., Doit, C., 2005. *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* infections in newborns: Personal data and review of the literature. Arch. Pediatr. 12(1), 12–18.

- Bashmakova, M.A., 2006. Laboratory diagnosis of genital infections. Reproduct. Problem. 5(1), 25–28 (in Russian).
- Boesen, T., Emmersen, J., Baczynska, A., 2004. The *vaa* locus of *Mycoplasma hominis* contains a divergent genetic islet encoding a putative membrane protein. BMC Microbiol. 4(1), 37–38.
- Deguchi, T., Yoshida, T., Miyazawa, T., 2004. Association of *Ureaplasma urealyticum* (biovar 2) with nongonococcal urethritis. Sex. Transm. Dis. 31(3), 192–195.
- Jensen, A., Kleveland, C., Moghaddam, A., 2013. *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium* and *Ureaplasma urealyticum* among students in northern Norway. J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. 27(1), 146–147.
- Karabay, O., Topcuoglu, A., Kocoglu, E., 2006. Prevalence and antibiotic susceptibility of genital *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in a university hospital in Turkey. Clin. Exp. Obstet. Gynecol. 33(1), 36–38.
- LeRoy, C., LeHen, I., Clerc M., Arfel, K., 2012. The first performance report for the Bio-Rad Dx CT/NG/MG assay for simultaneous detection of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* and *Mycoplasma genitalium* in urogenital samples. J. Microbiol. Methods. 89(3), 193–197.
- Lypova, E.V., Batakaev, E.V., 2009. Urogenital systems of associated infection with Mycoplasmas. Clin. Dermatol. Venereol. 26, 455–460.
- Pereyre, S., Sirand-Pugnet, P., Beven, L., 2009. Life on arginine for *Mycoplasma hominis*: Clues from its minimal genome and comparison with other human urogenital mycoplasmas. Plos. Genet. 10(5), 367–368.
- Petrakkos, G.L., Hadjisoteriou, M., Daikos, G.L., 2007. PCR versus culture in the detection of vaginal *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis*. Int. J. Gynaecol. Obstet. 97(3), 202–203.
- Rivera, J.A., Centeno, M., Santellan, O.M., Rodriguez, N.M., 2004. Prevalencia de *Ureaplasma urealyticum* en mujeres. Rev. Mex. Patol. Clin. 51(1), 33–36 (in Spanish).
- Rivera, J.A., Cedillo, M.L., Vega, M., 2001. Micoplasmasy su importancia médica. Rev. Biomed. 12(4), 262–271 (in Spanish).
- Robertson, J.A., Stemke, G.W., Davis, J.W., 2002. Proposal of *Ureaplasma parvum* sp. nov. and emended description of *Ureaplasma urealyticum*. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 52(2), 587–597.
- Ross, J.D., 2005. Is *Mycoplasma genitalium* a cause of pelvic inflammatory disease? Infect. Dis. Clin. North. Am. 19(2), 407–408.
- Taylor-Robinson, D., 2007. The role of mycoplasma in pregnancy outcome. Best. Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. 21(3), 425–438.
- Taylor-Robinson, D., Jensen, J.S., Svenstrup, H., Stacey, C.M., 2012. Difficulties experienced in defining the microbial cause of pelvic inflammatory disease. Int. J. STD AIDS 23(1), 18–24.
- Zdrodowska-Stefanow, B., Kosowska, W.M., Ostaszewska-Puchalska, I., 2006. *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* infection in women with urogenital diseases. Adv. Med. Sci. 51(1), 250–253.
- Zuo, C.X., Huang, J.H., Chen, J., Lu, J.Y., Xiang, Y.P., 2006. [Female urogenital mycoplasma infection and drug sensitivity status in Changsha]. Nan. Fang. Yi. Ke. Da. Xue. Xue. Bao. 26(6), 831–836 (in Chinese).

Надійшла до редколегії 11.04.2014