

© Бубало К. В., Голодок Л. П., *Хлопова О. В., Вінніков А. І.

УДК [616.6+616.8]:579.61

Бубало К. В., Голодок Л. П., *Хлопова О. В., Вінніков А. І.

ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОБНИХ АСОЦІАЦІЙ МІКОПЛАЗМ З ІНШИМИ МІКРООРГАНІЗМАМИ УРОГЕНІТАЛЬНОГО ТРАКТУ ЖІНОК

Дніпропетровський національний університет

ім. О. Гончара (м. Дніпропетровськ)

***Діагностичний центр медичної академії (м. Дніпропетровськ)**

bubalo.kristina@yandex.ua

Роботу було виконано у межах держбюджетної теми № 1-294-15, що виконується на кафедрі мікробіології, вірусології та біотехнології Дніпропетровського національного університету ім. Олеса Гончара, № державної реєстрації 0115U002385.

Вступ. Широке поширення урогенітальних мікоплазм та їх часте виявлення в практично здорових людей ускладнює вирішення питання про роль цих мікроорганізмів в патогенезі захворювань урогенітального тракту. Деякі дослідники вважають мікоплазми умовно-патогенними мікроорганізмами, обґрунтовуючи це можливістю виділення їх від клінічно здорових осіб, а також безсимптомним клінічним перебігом мікоплазмозу [6]. Разом з тим на думку інших авторів [11], мікоплазми є патогенними агентами, а виділення їх від клінічно здорових осіб слід розглядати як загрозове носійство, з огляду на подовжену дію персистуючого збудника, а також можливість підвищення вірулентності штамів мікоплазм [9,8,10]. Крім того, згідно з сучасними даними збільшилась частота поширення мікоплазмених мікст-інфекцій, які викликають патологічний процес, що характеризується складним комплексом міжмікробних відносин і взаємного впливу різних популяцій мікроорганізмів з єдиним патогенезом, на розвиток якого впливає кожен, що входить до складу асоціантів мікст-інфекції. Мікробні асоціації з різним ступенем етіологічної значущості кожного мікроорганізму можуть формувати нетиповий розвиток і перебіг запальних захворювань сечостатевого тракту, що необхідно враховувати при оцінці клінічної картини, лабораторних даних і призначення відповідної терапії. Збільшення частоти виявлення змішаних інфекцій в структурі запальних захворювань урогенітального тракту встановлює необхідність пошуку етіотропних препаратів, ефективних проти комплексу збудників урогенітальних інфекцій.

Метою роботи було дослідження мікробних асоціацій мікоплазм з іншими мікроорганізмами урогенітального тракту жінок, встановлення частоти виявлення мікоплазм у жінок різного віку.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом дослідження були мікробні асоціації мікоплазм з іншими мікроорганізмами урогенітального тракту, одержані від пацієнтів Діагностичного центру медичної академії у червні-липні 2015 року. У ході виконаної роботи було досліджено 110 зразків біологічного матеріалу культуральним методом і 104 методом ПЛР. Клінічний матеріал представлений виділенням із уретрального і цервікального каналу урогенітального тракту жінок віком від 18 до 36 років і старше. Дослідження проводили бактеріологічним – тест-системи *Mycoplasma IST (Biomerieux)* та молекулярним методами – ПЛР в реальному часі. Виділення та ідентифікацію мікроорганізмів проводили згідно з наказом МЗ СРСР № 535 від 22.04.1985 р.

Результати досліджень та їх обговорення. На першому етапі культуральним методом було досліджено 110 зразків біологічного матеріалу урогенітального тракту жінок. Згідно з дослідженням частоти виявлення урогенітальних мікоплазм культуральним методом за допомогою тест-системи *Mycoplasma IST (Biomerieux)* виявили в більшості зразків 62% (68) генітальні мікоплазми виду *Ureaplasma spp.*; *Mycoplasma hominis* виділена тільки у 8% (8) пацієнток, в 20% (22) випадках виявлені міко-уреаплазменні асоціації, в 10% (11) – мікоплазм та уреаплазм не виявлено.

При цьому *M. hominis* і *Ureaplasma spp.* виявлялися у різних діагностичних титрах $> 10^4$ КУО/у зразку, $< 10^4$ КУО/у зразку (**табл. 1**).

Ureaplasma spp. і *Mycoplasma hominis* у діагностичному титрі $> 10^4$ КУО/у зразку спостерігалась у 52 жінок (53,1%) і 5 жінок (5,1%) відповідно і у титрі $< 10^4$ КУО/у зразку *Ureaplasma spp.* спостерігалась

Таблиця 1.

Кількість досліджуваних зразків пацієнтів з діагностичним титром *Mycoplasma hominis* і *Ureaplasma spp.* > 10⁴ КУО/у зразку, < 10⁴ КУО/у зразку

| Діагностичний титр мікроорганізмів | <i>Mycoplasma hominis</i> (n = 8) % | <i>Ureaplasma spp.</i> (n = 68) % | <i>Mycoplasma hominis</i> + <i>Ureaplasma spp.</i> (n=22) % |
|------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|--|
| >10 ⁴ КУО/мл | 5,1 | 53,1 | 22,4 |
| <10 ⁴ КУО/мл | 3,06 | 16,33 | 0 |
| Усього | 8,16 | 69,44 | 22,4 |

Таблиця 2.

Частота поширення мікоплазменної інфекції у жінок різних вікових груп

| Вік, років | Частота поширення (n = 98) | |
|-------------|----------------------------|-------|
| | абс. | % |
| 18-23 | 17 | 17,35 |
| 24-29 | 47 | 47,95 |
| 30-35 | 26 | 26,54 |
| 36 і старше | 8 | 8,16 |
| Усього | 98 | 100 |

у 16 жінок (16,33%), а *Mycoplasma hominis* у 3 жінок (3,06%) (табл. 1). Наявність мікроорганізмів у діагностичному титрі *Ureaplasma spp.* > 10⁴ КУО/у зразку свідчить про виражену контамінацію організму, у титрі < 10⁴ КУО/у зразку – про носійство даних мікроорганізмів. При порівнянні показників зустрічаємості мікоплазменної інфекції у жінок визначили, що випадки виявлення *Ureaplasma spp.* реєструється частіше, що підтверджується літературними даними [4,5], в яких уреоплазми представляють собою мікроорганізми з більш високим патогенним потенціалом в порівнянні з мікоплазмами. Результати різних авторів доводять, що мікоплазми можуть бути причиною вульвовагініту, уретриту, парауретриту, бартолініту, андекситу, сальпінгіту, ендометриту, запалення яєчників [1,2,3]. При дослідженні частоти поширення мікоплазменної та уреоплазменної інфекції у жінок різного віку встановлено, що існує кореляційна залежність між віком жінок та частотою поширення мікоплазменної інфекції: найменша частота виявлення генітальних мікоплазм спостерігалася у пацієнтів віком 18-23 років, найбільша – у жінок віком 24-29 років і поодинокі випадки виявлялися у жінок віком понад 36 років (табл. 2). Виявляються різні штами мікоплазм, в залежності від віку пацієнтів (рис. 1).

У пацієнтів віком 18-23 роки найчастіше виявлялася *Ureaplasma spp.* – 16%, а *M. hominis* – 1,4%, асоціації не виявлялися. В групі жінок віком 24-29 *Ureaplasma spp.* виявилася у 36%, а *M. hominis* – 4%, в асоціації *M. hominis* – *Ureaplasma spp.* – 8%. У жінок віком 30-35 років частіше виявлялася *Ureaplasma spp.* – 24% і рідше *M. hominis* – 2,5%. У жінок віком 36 і старше *Mycoplasma hominis* не виявлялася, а *Ureaplasma spp.* виявилася у 2%, *M. hominis-Ureaplasma spp.* – 7% (рис. 1).

Таким, чином проаналізувавши частоту виявлення урогеніталь-

них мікоплазм у виділеннях урогенітального тракту жінок встановлено, що у жінок репродуктивного віку спостерігається кореляційна залежність між віком та частотою поширення: найбільша частота поширення у віковій групі від 24-29 років. Це може бути пов'язано з підвищеною сексуальною активністю, соціальною неадаптованістю, зниженням імунітетом. У пацієнтів віком 18-23 і жінок віком 36 років і старше частота поширення мікоплазм найменша.

На другому етапі проводили дослідження мікробних асоціацій мікоплазм з іншими мікроорганізмами проводилося методом ПЛР в реальному часі. При аналізі результатів дослідження виявлено, що урогенітальні мікоплазми в якості єдиного збудника на фоні нормоценозу вагінальної флори висівалися в 46 зразках, що складає 23%. В інших випадках 52% (104 зразка) відмічалися ті чи інші порушення вагінального мікробіоценозу, викликані багатоконпонентними мікробними асоціаціями збудників. Всі інші зразки 50 (25%) відповідали нормоценозу, оскільки титри досліджуваних мікроорганізмів не перевищували норму (рис. 2)

Найбільш часто висівалися мікоплазми на фоні бактеріального вагінозу 78, 3% із 104 зразків пацієнтів з дисбіотичними порушеннями. Також урогенітальні мікоплазми виявлялися в асоціації з кандидами – 19,23% і зі збудниками групи факультативно-анаеробних умовно-патогенних мікроорганізмів зустрічалися рідко 1,92% (рис. 3).

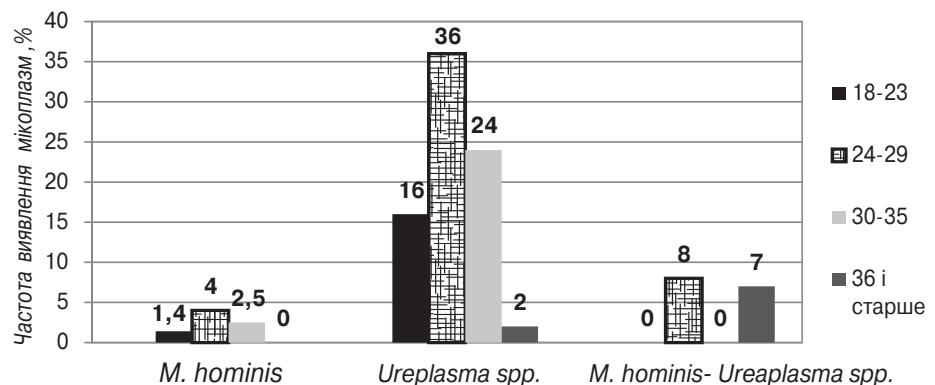


Рис. 1. Частота виявлення *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma spp.*, *Mycoplasma hominis* – *Ureaplasma spp.* у жінок різних вікових категорій

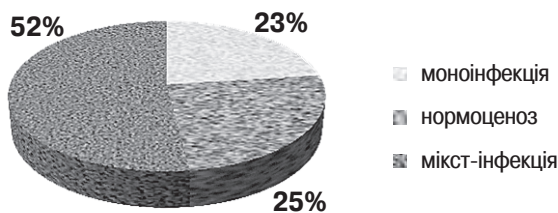


Рис. 2. Частота виявлення мікоплазм з іншими мікроорганізмами уrogenітального тракту

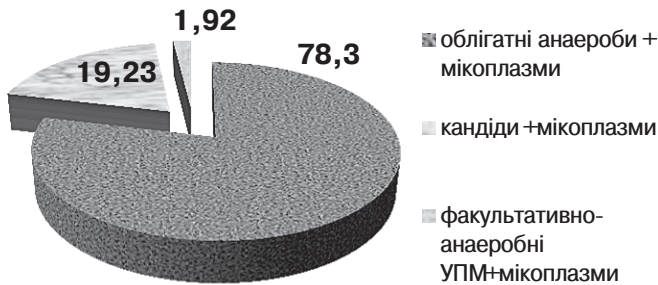


Рис. 3. Стан вагінального мікробіоценозу при мікоплазменій мікст-інфекції

При цьому відмічалось зниження лактофлори. Як і при інших формах вагінальних дисбіозів відмічена залежність облігатної мікрофлори від складу асоціації збудників. В усіх випадках моноінфекції титр лактобактерій більш високий, чим при приєднанні дріжджоподібних грибів роду *Candida*, що призводило до зниження показника. Значно нижче був титр лактобактерій при асоціації мікоуреаплазм з факультативними анаеробами і на фоні бактеріального вагінозу (рис. 4). При мікст-інфекції асоційованій з мікоплазмами та уреаплазмами найбільш часто зустрічалися асоціації мікоуреаплазм з облігатними анаеробами видів: *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia*, *Porphyromonas spp*; найменше з факультативними анаеробами видів: *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus spp*. (табл. 3).

Часте спільне виявлення генітальних мікоплазм з анаеробною мікрофлорою обумовлене здатністю *Gardnerella vaginalis* виділяти бурштинову кислоту, яка використовується іншими мікроорганізмами. У свою чергу уреаплазми і мікоплазми, активно використовують у своїй життєдіяльності кисень, сприяють посиленню розмноженню анаеробних бактерій. Уреаплазми в асоціаціях з іншими мікроорганізмами здатні утворювати біоплівки. Формування біоплівок у вогнищі запалення забезпечує здатність мікроорганізмів персистувати в організмі людини, призводить до хронізації інфекційного процесу і супроводжу-

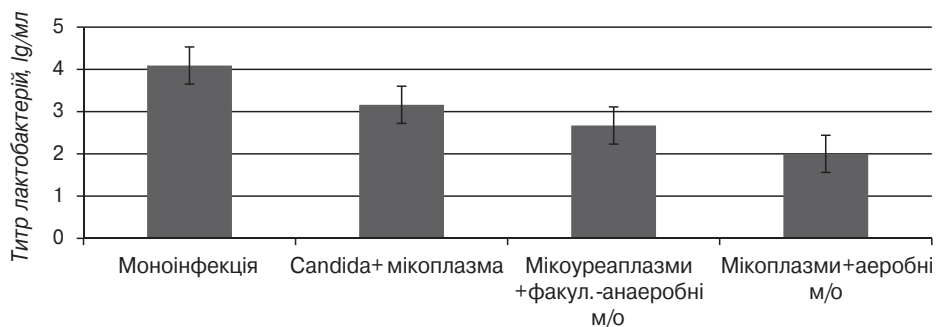


Рис. 4. Титр лактобактерій при мікоплазменій мікст-інфекції

ється незадовільними результатами антибіотикотерапії.

Отримані дані співпадають з результатами інших дослідників. Автори літературних джерел зазначають, що мікробні асоціації з різним ступенем етіологічної значущості кожного мікроорганізму можуть формувати нетиповий розвиток і перебіг запальних захворювань сечостатевого тракту, що необхідно враховувати при оцінці клінічної картини, лабораторних даних і призначення відповідної терапії [5,6,11]. Збільшення частоти виявлення змішаних інфекцій в структурі запальних захворювань уrogenітального тракту встановлює необхідність пошуку етіотропних препаратів, ефективних проти комплексу збудників уrogenітальних інфекцій [7,8].

Висновки

1. При дослідженні ізолятів з уrogenітального тракту жінок культуральним методом встановлено, що із 110 досліджуваних жінок у 98 були наявні генітальні мікоплазми наступних видів *Ureaplasma spp.* 68 (62%) і *Mycoplasma hominis* 8 (8%) у різних діагностичних титрах ($>10^4$, $<10^4$ КУО/мл). Діагностичні титри *Ureaplasma spp.* і *M. hominis* $>10^4$ КУО у зразку свідчили про виражену контамінацію мікроорганізмами, у титрі $<10^4$ КУО у зразку – про носійство даних мікроорганізмів.

2. Визначено існування залежності частоти виявлення мікоплазм від віку обстежуваних жінок. Найбільша частота поширення генітальних мікоплазм у жінок репродуктивного віку (24-29 років): *Ureaplasma spp.* – 35 (36%), *M.hominis* – 4 (4%), найменша частота виявлення у 36 років і старше.

3. Проведено оцінку біоценозу при мікоплазменій інфекції і встановлена перевага мікробних асоціацій уреаплазм з кандідами та облігатними анаеробами – *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia*, *Porphyromonas spp.* – 53,8%, уреаплазм з кандідами – 19,23%, найменше зустрічалися асоціації з факультативними анаеробами – *Enterobacteriaceae* + *Streptococcus spp.* + *Eubacterium* – 1,92%.

Перспективи подальших досліджень. Отримані результати свідчать про поширення мікоплазменій мікст-інфекції, що вказує на необхідність проведення моніторингу антибіотикорезистентності мікоплазм в асоціаціях з іншими мікроорганізмами.

Мікробні асоціації при мікоуреаплазменій мікст-інфекції

| № п/п | Мікробні асоціації | Частота зустрічаємості в досліджуваних зразках, % (n=104) |
|-------|--|---|
| 1 | <i>Candida spp.</i> + <i>Gardnarella vaginalis</i> + <i>Prevotella bivia</i> + <i>Porphyromonas spp.</i> + <i>Ureaplasma urealyticum</i> | 53,8 |
| 2 | <i>Candida spp.</i> + <i>Ureaplasma urealyticum</i> | 19,23 |
| 3 | <i>Gardnarella vaginalis</i> + <i>Prevotella bivia</i> + <i>Porphyromonas spp.</i> + <i>Ureaplasma urealyticum</i> | 14 |
| 4 | <i>Mycoplasma hominis</i> + <i>Gardnarella vaginalis</i> | 3,8 |
| 5 | <i>Mycoplasma hominis</i> + <i>Ureaplasma (urealyticum + parvum)</i> + <i>Gardnarella vaginalis</i> | 6,7 |
| 6 | <i>Enterobacteriaceae</i> + <i>Streptococcus spp.</i> + <i>Eubacterium spp.</i> + <i>Megasphaera spp.</i> + <i>Veilonella spp.</i> + <i>Dialister spp.</i> + <i>Ureaplasma</i> | 1,92 |

Література

1. Винарова Н. А. Значение микоплазм в заболеваниях мочеполовой системы / Н. А. Винарова, Д. Н. Фиев, А. З. Винаров // Фарматека – 2008. – № 16. – С. 23-29.
2. Герасимова Н. М. Урогенитальные инфекции как междисциплинарная проблема. Современные подходы к диагностике и лечению / Н. М. Герасимова, Н. П. Евстигнеева, Ю. Н. Кузнецова // Вестник последипломного медицинского образования. – 2009. – № 1. – С. 16-19.
3. Кисина В. И. Существует ли связь урогенитальных микоплазм с патологией органов мочеполовой системы / В. И. Кисина, Е. В. Ширшова // Consilium medicum Журнал доказательной медицины для практикующих врачей. – 2005. – Т. 7.- № 4. – С. 12-16
4. Кубанова А. А. Урогенитальные инфекционные заболевания, вызванные генитальными микоплазмами. Клинические рекомендации / А. А. Кубанова, М. Р. Рахматуллина // Вестник дерматологии и венерологии. – 2009. – № 3. – С. 78-82.
5. Кузнеценкова Т. В. Ассоциация урогенитальных микоплазм с воспалительными процессами мочеполовых органов у женщин / Т. В. Кузнеценкова, О. В. Лысенко, В. А. Игликов // III Всероссийский конгресс дерматовенерологов: тезисы научных работ. – Казань, 2009. – С. 84.
6. Молочков В. А. Урогенитальные заболевания, ассоциированные с генитальными микоплазмами / В. А. Молочков, О. Л. Иванов, В. В. Чеботарев // Инфекции, передаваемые половым путем. Клиника, диагностика, лечение. – М., 2006. – С. 435-451
7. Назарова Е. К. Дисбактериозы влагалища (этиология, патогенез, клиника, лабораторная диагностика) / Е. К. Назарова, Л. Г. Созаева, Е. И. Гиммельфарб. – М., 2002. – С. 10.
8. Немченко О. И. Урогенитальный микоплазмоз (обзор литературы) / О. И. Немченко, Е. В. Уварова // Consilium medicum Журнал доказательной медицины для практикующих врачей. - 2007- Т. 9. – № 1. – С. 12-15.
9. Bead-based multiplex sexually transmitted infection profiling / M. Schmitt, C. Depuydt, M. Stalpaert [et al.] // J. Infect. – 2014. – P. 23-24.
10. Choi Y. Cervical cytopathological findings in Korean women with Chlamydia trachomatis, Mycoplasma hominis, and Ureaplasma urealyticum infection / Y. Choi, J. Roh // Scientific World Journal. – 2014. – Vol. 8 – P. 49-50.
11. Jensen A. 2012. Chlamydia trachomatis, Mycoplasma genitalium and Ureaplasma urealyticum among students in northern Norway / A. Jensen, C. Kleveland // J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. – 2012. – P. 146-147.
12. Jernberg E. J. Mycoplasma genitalium aetiological agent of sexually transmitted infection / E. J. Jernberg, H. Moi // Tidsskr Nor Laegeforen. – 2007. – Vol. 127, № 17. – P. 2233-2235.

УДК [616.6+616.8]:579.61

ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОБНИХ АСОЦІАЦІЙ МІКОПЛАЗМ З ІНШИМИ МІКРООРГАНІЗМАМИ УРОГЕНІТАЛЬНОГО ТРАКТУ ЖІНОК

Бубало К. В., Голодок Л. П., Хлопова О. В., Вінников А. І.

Резюме. Проведено оцінку біоценозу при мікоплазменій інфекції і встановлена перевага мікробних асоціацій уреаплазм з кандидами та облигатними анаеробами – *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia*, *Porphyromonas spp.* – 53,8%, уреаплазм з кандидами – 19,23%, найменше зустрічалися асоціації з факультативними анаеробами – *Enterobacteriaceae* + *Streptococcus spp.* + *Eubacterium* – 1,92%.

Ключові слова: мікробні асоціації, мікоплазми, мікоплазмена мікст-інфекція.

УДК [616.6+616.8]:579.61

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБНЫХ АССОЦИАЦИЙ МИКОПЛАЗМ С ДРУГИМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА ЖЕНЩИН

Бубало К. В., Голодок Л. П., Хлопова Е. В. Винников А. И.

Резюме. Проведена оценка биоценоза при микоплазменной инфекции и установлено преимущество микробных ассоциаций уреаплазм с кандидами и облигатными анаэробами – *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia*, *Porphyromonas spp.* – 53,8%, уреаплазм с кандидидами – 19,23%, меньше встречались ассоциации с факультативными анаеробами – *Enterobacteriaceae* + *Streptococcus spp.* + *Eubacterium* – 1,92%.

Ключевые слова: микробные ассоциации, микоплазмы, микоплазменная микст-инфекция.

UDC [616.6+616.8]:579.61

THE STUDY OF MICROBIAL ASSOCIATIONS OF MYCOPLASMA WITH OTHER MICROORGANISMS IN THE UROGENITAL TRACT OF WOMEN

Bubalo K. V., Golodok L. P., Khlopova A. V., Vinnikov A. I.

Abstract. Wide dissemination of urogenital mycoplasmas and their frequent identification in healthy subjects complicate the definition of the role of these microorganisms in the pathogenesis of diseases of the urogenital tract. Some researchers believe Mycoplasma opportunistic microorganisms, pointing to the possibility of separating them from clinically healthy individuals and asymptomatic clinical course of mycoplasmosis [6]. However according to other authors [11], Mycoplasma are pathogenic agents and the allocation of them from clinically healthy individuals should be seen as a threatening carriage, given the long persistent action of the pathogen, as well as the possibility of increasing the virulence of strains of Mycoplasma. In addition, according to the latest data there increased the frequency of the spread of mycoplasma mixed infections, which cause a pathological process, characterized by a complex set of intermicrobial relations and mutual influence of various populations of microorganisms with a common pathogenesis, the development of which is affected by every microorganism that is a part of mixed infections. Microbial associations with varying degrees of etiological significance of each microorganism can form atypical development and course of inflammatory diseases of the urinary tract and that is necessary to be considered in evaluating clinical and laboratory data as well as administration of appropriate therapy. An increase in the frequency of mixed infections in the structure of inflammatory diseases of the urogenital tract establishes the necessity of finding etiotropic drugs, effective against complex pathogens of urogenital infections. The object of the research was the microbial Association of Mycoplasma with other microorganisms of the urogenital tract, obtained from patients the Diagnostic Center of Medical Academy in June-July 2015. In the course of the work done 110 samples of the biological material were studied by the cultural method and 104 samples were examined using PCR. The clinical material is presented by the discharge from the urethral and cervical canal of the urogenital tract of women aged 18 to 36 and older. The research was conducted by the bacteriological test system Mycoplasma IST (Biomerieux) and by molecular methods – PCR in real time. In the study of isolates from the urogenital tract of women using the cultural technique it was found that 98 out of 110 studied women had genital mycoplasmas of the following types: Ureaplasma spp. 68 (62%) and Mycoplasma hominis 8 (8%) in diagnostic titers ($>10^4$, $<10^4$ CFU/ml). Diagnostic titres of Ureaplasma spp. and M. hominis at $>10^4$ CFU in the sample pointed to a pronounced contamination by microorganisms and in titre $<10^4$ CFU in the sample indicated the carriage of these microorganisms. There was determined the existence of the dependence of the frequency of Mycoplasma detection on the age of the women examined. The highest frequency distribution of genital mycoplasmas was detected in women of reproductive age (24-29 years): Ureaplasma spp. – 35 (36%), M. hominis – 4 (4%), the lowest detection rate – in women aged 36 and older. The biocenosis in micoplasma infection was assessed and there was found the prevalence of microbial associations of Ureaplasma with Candida and obligate anaerobes – Gardnerella vaginalis, Prevotella bivia, Porphyromonas spp. – 53,8%, and Ureaplasma with Candida – 19,23%; the associations with facultative anaerobes were the least frequently met – Enterobacteriaceae + Streptococcus spp. + Eubacterium – 1,92%.

Keywords: microbial associations, Mycoplasma, Mycoplasma mixed infection.

Рецензент – проф. Лихолат Ю. В.

Стаття надійшла 22.12.2015 року