



КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ УРОГЕНИТАЛЬНОЙ ПЕРСИСТЕНЦИИ МИКОПЛАЗМ У ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ

Т.Н. Захаренкова

Гомельский государственный медицинский университет, Республика Беларусь

Резюме

Представлены результаты обследования 70 девочек-подростков в возрасте 12-18 лет, не живущих половой жизнью. У 32,9% в урогенитальном тракте выявлены условно-патогенные виды микоплазм, что ассоциировалось с нарушением корреляционной связи между про- и противовоспалительными цитокинами ($rs=0,56$; $p=0,0004$) и сопровождалось патологическими изменениями при микроскопическом исследовании и анаэробным дисбиозом с высокими концентрациями *G. vaginalis/P. bivia/Porph.spp.* Девочки с наличием урогенитальных микоплазм на 1-й минуте жизни имели более низкий балл по шкале Апгар, у них значимо чаще наблюдались малые аномалии развития (OR=3,7; CI 95% 1,2; 11,7, $p=0,028$), в 2 раза чаще – хронический пиелонефрит.

Ключевые слова

Девочки-подростки, урогенитальный дисбиоз, микоплазмы, цитокины.

Несмотря на достигнутые в последние годы успехи в выявлении и лечении урогенитальных инфекций, частота их среди детей и подростков остается достаточно высокой и достигает 24,5-82,7% [1,2,3]. При выявлении у девочек абсолютных патогенов, таких как *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* не возникает вопрос о необходимости проведения терапии, то аспекты микоплазменной инфекции у девочек до конца не уточнены.

Научные исследования, направленные на выявление урогенитальных микоплазм у детей не многочисленны. Частота выявления уреамикоплазм у девочек составляет от 5 до 33% и зависит от многих факторов [4,5]. На фоне недостаточности эстрогенов, характерной для периода детства, самоочищение влагалища не про-

исходит и создаются благоприятные условия для размножения патогенной и условно-патогенной микрофлоры. С менархе до 15 лет во влагалище девочек происходит увеличение общего микробного числа до 105-107 КОЕ/мл, появляется легкая лейкоцитарная реакция (0-10 лейкоцитов в поле зрения), у 60-92% выявляются лактобактерии (ЛБ) [6]. В состав нормального биоценоза влагалища могут входить единичные энтерококки, стрептококки (зеленящие и группы В), бактероиды, непатогенные грамотрицательные кокки рода *Neisseria*, трепонемы, клебсиеллы, клостридии, микоплазмы, грибы рода кандиды, эпидермальный стафилококк, пептострептококки и дифтероиды [7]. Для поддержания нормоценоза важным является концентрация отдельных микроорганизмов и соотношение их относительно уровня лактобактерий в общей бактериаль-

© Т.Н. Захаренкова

ной массе (ОБМ). Известно, что колонизация урогенитального тракта микоплазмами, возрастает при бактериальном вагинозе, вульвовагинальном кандидозе [8]. Анаэробная инфекция в 51,3% случаев протекает на фоне уреоплазмоза, реже ассоциируется с микоплазмозом, кандидозом и трихомонозом. Кроме того, ассоциации микроорганизмов приводят к атипическому течению инфекционного процесса, протекающего с явлениями иммуносупрессии, трудно поддающегося лечению и приводящего к нарушению репродуктивного здоровья [2,9].

В современной литературе мало данных о колонизации урогенитального тракта девочек-подростков различными видами микоплазм, о значении различных видов микоплазм для развития заболевания. Для обследования девочек-подростков на наличие микоплазменной урогенитальной инфекции рациональным является исследование биоценоза уретры, влагалища с выявлением количественных соотношений различных участников методом ПЦР-РВ, а также исследование продукции провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.

Цель исследования — оценка частоты инфицирования урогенитального тракта девочек-подростков 12-18 лет, не живущих половой жизнью, с установившимся не менее 1 года менструальным циклом различными видами микоплазм, особенности цитокинового статуса и клиническое значение урогенитальной персистенции микоплазм.

Материалы и методы исследования

Обследовано 70 девочек-подростков в возрасте 12-18 лет до начала половой жизни, находившихся на плановом стационарном обследовании в соматических отделениях УЗ «Гомельская областная клиническая детская больница». Для диагностики инфицирования урогенитального тракта микоплазмами использовали: культуральный метод для идентификации и полуколичественной оценки титра различных видов микоплазм в соскобах из уретры с помощью набора Mycoplasma IST 2 (bioMerieux SA, Франция) и мультиплексную ПЦР-РВ с количественным форматом гибридационно-флюоресцентной детекции использовалась для одновременного выявления и количественного определения ДНК *U. parvum*, *U. urealyticum*, *M. hominis* («АмплиСенс ФлороЦеноз/Микоплазмы-FL», ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, РФ). Выявление *C. trachomatis*, *M. genitalium* в уретральном соскобе методом ПЦР-РВ («АмплиСенс *M. genitalium*-скрин-титр-FL» и «АмплиСенс

Chlamydia trachomatis-скрин-титр-FL», ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, РФ). Для количественного определения биоценоза уретральный соскоб исследовали методом ПЦР-РВ («Фемофлор-4», ООО «НПО ДНК-Технология», Москва). Данный метод позволяет диагностировать наличие дисбаланса микробиоты различных биотопов человека и степень его выраженности путем выявления и количественного определения ДНК ЛБ, грибов рода *Candida spp.*, *G. vaginalis*, *P. bivia*, *Porph. spp.*, а так же ОБМ. Методом ИФА определяли сывороточные уровни ИЛ-4 и ФНО α у девочек-подростков («Альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-4-ИФА-БЕСТ», ЗАО Вектор-БЕСТ, Россия). С целью выявления факторов риска и клинических проявлений мико-и уреоплазмоза у обследуемых девочек были изучены социально-биологические аспекты, особенности роста и развития, соматический и гинекологический анамнезы, проведен анализ течения беременности у их матерей.

Для статистической обработки количественных данных применялись методы вариационной статистики Фишера-Стьюдента с определением доли (р, %) изучаемого признака и стандартной ошибки доли (sp, %). Для установления значимости различий частот наблюдений при межгрупповом сравнении по долям рассчитаны критерии χ^2 и Фишера (односторонний вариант). Для оценки центральной тенденции рассчитана медиана (Me) и интерквартильный размах (25-75 процентиля). При отсутствии нормального распределения признаков различия в группах вычисляли с помощью критерия Манна-Уитни (Z), для множественных межгрупповых сравнений использован метод Крускала-Уоллиса (H). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Статистическая обработка данных производилась при помощи программы «Статистика 6,0».

Основную группу составили 23 девочки, у которых в урогенитальном тракте выявлены микоплазмы. В группу сравнения вошли 47 девочек с отрицательными результатами исследований на микоплазмы.

Результаты и их обсуждение

Средний возраст пациенток в основной группе и группе сравнения был сопоставим и составил $14,4 \pm 1,0$ года и $14,9 \pm 1,1$ года ($p = 0,167$).

В урогенитальном тракте девочек-подростков до начала половой жизни отсутствовали такие абсолютные патогены, как *C. trachomatis* и *M. genitalium*.



Частота інфікування условно-патогенними микоплазмами (*U.parvum*, *U.urealyticum*, *M.hominis*) половых путей девочек-подростков до начала половой жизни составила $32,9 \pm 5,6\%$ (23 из 70 обследованных девочек). Проведенный по результатам мультиплексной ПЦР-РВ анализ видовой принадлежности выделенных микоплазм показал статистически значимое преобладание *U.parvum* – у 19 из 70 ($27,1 \pm 5,3\%$) пациенток, над *U.urealyticum* (выделена у двух пациенток – $2,9 \pm 2,0\%$; $\chi^2 = 14,3$, $p=0,0002$) и *M.hominis* (выделена у 8 девочек – $11,4 \pm 2,8\%$, $\chi^2 = 4,6$, $p=0,032$). В большинстве случаев (у $20,0 \pm 4,8\%$ девочек) была выделена *U.parvum* как единственный вид. Значимо реже – в $8,6 \pm 3,4\%$ наблюдается ассоциация *U.parvum* и *M.hominis* ($\chi^2 = 4,2$, $p=0,04$) и еще реже – ассоциация *U.urealyticum* и *M.hominis* ($1,4 \pm 1,4\%$; $\chi^2 = 10,7$, $p=0,001$). Два вида уреаплазм у одной пациентки обнаружены не были. Отмечено по одному случаю ($1,4 \pm 1,4\%$), когда *M.hominis* и *U.urealyticum* наблюдались как единственный вид.

При количественном определении ДНК различных видов микоплазм значимых различий между видами выявлено не было (табл. 1).

Так как концентрация ДНК микоплазм в моче девочек-подростков была значимо выше, чем в уретральном соскобе, именно осадок мочи может использоваться как биологический материал для диагностики урогенитального микоплазмоза.

Выявленные у девочек-подростков штаммы микоплазм обладали низкой чувствительностью к антибиотикам группы фторхинолонов *in vitro*. В $77,8\%$ случаев микоплазмы были устойчивы к ципрофлоксацину, а при использовании офлоксацина для остановки роста в $83,3\%$ случаев понадобились максимальные концентрации антибиотика (4 мг/л против 1 мг/л, отвечающего параметру чувствительности). Невысокая эффективность отмечена и для эритромицина и азитромицина, чувствительность к которым

микоплазм составила по $55,6\%$, что может быть связано с частым, нередко неадекватным, использованием именно этих антибиотиков у детей. Чувствительность микоплазм к кларитромицину составила $88,9\%$ и не была выявлена устойчивость к джозамицину и доксициклину.

При бактериоскопическом исследовании отделяемого из заднего свода влагалища у 67 девочек-подростков у значимого большинства пациенток обеих групп микроценоз влагалища был представлен только палочковой флорой, соответственно у $77,8\%$ и $91,8\%$ девочек основной и группы сравнения. С учетом относительной численности палочковой флоры микроценоз влагалища, характеризующийся умеренным и большим количеством палочковой флоры в основной группе наблюдался статистически значимо реже, чем в группе сравнения ($50,0 \pm 12,1\%$ против $79,6 \pm 5,8\%$, $\chi^2 = 4,3$; $p=0,038$), в то время как $27,8 \pm 10,9\%$ и $12,2 \pm 4,7\%$ девочек в группах имели скудную палочковую флору и у $16,7 \pm 9,0\%$ и у $4,1 \pm 2,8\%$ девочек в группах соответственно наблюдалась смешанная влагалищная флора с преобладанием кокков. Методом микроскопии ни в одном случае не были выявлены дрожжеподобные грибы рода *Candida* и «ключевые» клетки, как маркер бактериального вагиноза.

Для более детального исследования состава микрофлоры урогенитального тракта у 43 девочек-подростков соскобы из уретры были исследованы методом ПЦР-РВ с использованием тест-системы «Фемофлор-4».

У девочек-подростков, не живущих половой жизнью, уретральный биотоп лишь в 10 из 43 ($23,3 \pm 6,4\%$) случаях представлен как нормоценоз, что значимо реже, чем варианты дисбиоза выявленные у 33 из 43 ($76,7 \pm 6,4\%$) девочек ($\chi^2 = 22,5$, $p < 0,0001$). Абсолютный нормоценоз диагностирован только у одной девочки 15 лет ($2,3 \pm 2,3\%$), что значимо отличалось от частоты выявления других вариантов биоценоза ($p_1 = 0,019$, $p_2 = 0,0006$, $p_3 < 0,0001$).

Показатели биоценоза у данной пациентки были следующие: ОБМ составила 106 ГЭ/мл, ЛБ – 106 ГЭ/мл ($85-100\%$), и не были выявлены анаэробы и грибы. При микроскопии влагалищного отделяемого выявлено большое количество палочек, лейкоциты 10-15 в поле зрения.

Относительный нормоценоз диагностирован у 4 девочек основной группы ($22,2\%$) и у 5 (20%) – в группе сравнения. Данный тип биоценоза наблюдался у 3 пациенток основной

Таблица 1.

Нормированная концентрация ДНК различных видов микоплазм, выявленных в урогенитальном тракте девочек-подростков, Ме ($25,75\%$), Ig ГЭ/105 клеток

Биологический материал	<i>U.parvum</i>	<i>U.urealyticum</i>	<i>M.hominis</i>	3 вида мико-плазм
Уретральный соскоб	n=16 4,1 (3,8; 4,5)	n=1 4,4	n=3 3,0 (2,0; 4,5)	n=20 4,1 (3,5; 4,5)
Моча	n=15 4,8 (4,4; 5,5)* Z=2,63; p=0,009	n=2 5,2 (5,1; 5,3)	n=3 5,5 (4,3; 6,6)	n=20 5,0 (4,5; 5,5)* Z=3,18; p=0,002

Примечание. * Статистически значимое различие, больше концентрация, чем в уретральном соскобе ($p < 0,05$).

группы с персистенцией *U.parvum* с концентрации ДНК в соскобе 4,3 (3,6; 4,5) lg ГЭ/105 клеток и у 1 — при ассоциации *U.urealyticum* и *M.hominis*.

Умеренный дисбиоз, выявленный у 7 (38,9%) пациенток основной группы и 7 (28,0%) — группы сравнения, наблюдался за счет незначительного повышения содержания анаэробов от 1,4 до 14% (в 13 случаях) или значительного — до 33% (в 1 случае) при уровне ЛБ от 51 до 80%. Концентрация ДНК *G.vaginalis/P.bivia/Porph.spp.*, составила 4,0 (3,5; 4,3) lg ГЭ/мл. Видовая принадлежность микоплазм у пациенток основной группы была представлена в 5 случаях *U.parvum* и в 2 случаях — ассоциацией *U.parvum* и *M.hominis*, при этом медиана нормированной концентрации ДНК *U.parvum* в уретральном соскобе составила 4,0 (3,9; 4,4) lg ГЭ/105 клеток, в моче — 5,3 (4,9; 5,5) lg ГЭ/105 клеток.

У 19 из 43 (44,2±7,6%) девочек выявлен выраженный дисбиоз, при котором наблюдалось значительное снижение уровня ЛБ от 40% до 0 и/или повышение уровня анаэробов значительное от 15 до 100% (12 случаев), незначительное до 10% (5 случаев). В трех случаях выраженное снижение ЛБ не сопровождалось увеличением количества анаэробов группы *G.vaginalis/P.bivia/Porph.spp.*, причем в одном из этих случаев при бактериологическом исследовании отделяемого влагалища выявлен массивный рост факультативного аэроба *Streptococcus spp.* Данные случаи, на долю которых приходилось 15,8±8,6% всех случаев выраженного дисбиоза, были трактованы как выраженный аэробный дисбиоз. У 7 из 19 пациенток (36,8±11,4%) с выраженным дисбиозом уретрального биотопа были выделены урогенитальные микоплазмы. В целом, выраженный дисбиоз наблюдался статистически значимо чаще, чем относительный нормоценоз (44,2±7,6% против 20,9±6,2%, $\chi^2=4,3$, $p=0,038$).

Candida spp. была выявлена у 48,8±7,6% девочек подростков не зависимо от наличия урогенитальных микоплазм, но значимо чаще при дисбиозе, чем при нормоценозе ($p=0,0001$). Медиана концентрации ДНК *Candida spp.* составила 3,1 (2,7;3,2) lg ГЭ/мл.

И хотя статистически значимых различий в частоте выявления дисбиотических состояний при урогенитальном микоплазмозе выявлено не было, при количественном определении общей бактериальной массы и ДНК микроорганизмов выявлены более высокие уровни концентрации ДНК облигатных анаэробов у девочек с персистенцией микоплазм (табл. 2).

По показателям развития вторичных половых признаков, антропометрическим данным все обследованные девочки соответствовали возрастной норме. Средний возраст появления менструаций в основной группе был 12,3±1,1 года и статистически не различался с группой сравнения — 12,0±0,9 года ($p=0,558$). У 2 (8,7±6,0%) девочек с наличием микоплазм в половых путях возраст менархе составил 15 лет. Патологические изменения менструальной функции наблюдались у 4 (17,4±8,1%) девочек в основной группе и у 12 (25,5±6,4%) из группы сравнения, что не являлось статистически значимым различием ($p=0,646$). Нарушение ритма менструаций по типу опсоменореи наблюдалось у 1 (4,4±4,4%) девочки основной группы и 6 (12,8±4,9%) пациенток группы сравнения. Болезненные менструации отмечали примерно с одинаковой частотой девочки обеих групп (13,0±7,2% и 8,5±4,1%, соответственно). У одной 17-летней пациентки группы сравнения наблюдалась вторичная аменорея в течение 2-х лет после 2-х лет нормальной менструальной функции. Кроме того в группе сравнения у 1 девочки диагностирована мастодиния, у 1 при УЗИ обнаружена функциональная киста правого яичника, и у 1 девочки обнаружены папилломы наружных половых органов.

У девочек основной группы в 2 раза чаще наблюдались хронические заболевания почек и статистически значимо чаще были диагностированы врожденные пороки и малые аномалии развития, в частности сердца в 39,1±10,4% случаев против 12,8±4,9% в группе сравнения (OR=3,7; CI 95% 1,2; 11,7, $p=0,028$). Так как матери девочек не были при беременности обследованы на микоплазмы, установить связь развития малых аномалий с персистенцией в половых путях урогенитальных микоплазм не представляется возможным, что требует проведения дальнейших исследований.

Анализ течения беременности, проведенный у 34 матерей обследуемых девочек-подростков,

Таблица 2.

Количественные показатели биоценоза уретры у девочек-подростков в зависимости от наличия микоплазм в урогенитальном тракте, Ме (25, 75%), lg ГЭ/мл

Группы пациенток	ОБМ	ЛБ	<i>Candida spp.</i>	<i>G.vaginalis/P.bivia/Porph.spp.</i>
Основная группа	n=19 5,6 (5,1;5,8)	n=17 5,3 (4,9; 5,6)	n=9 3,0 (2,8;3,5)	n=16 4,8 (3,8; 5,1)* Z=2,0; p=0,045
Группа сравнения	n=24 5,3 (4,7;5,7)	n=19 5,1 (4,6; 5,6)	n=12 3,1 (2,6; 3,2)	n=20 3,8 (3,3;4,3)

Примечание. * Статистически значимое различие с группой сравнения



выявил более частые инфекции мочевыводящих путей в основной группе $28,6 \pm 12,5\%$ против $5,0 \pm 5,0\%$ в группе сравнения и статистически значимое число вагинитов при беременности у матери в основной группе $42,7 \pm 13,7\%$ против $5,0 \pm 5,0\%$ ($p=0,024$). Следует отметить, что у девочек основной группы был более низкий показатель по шкале Апгар на 1 минуте, который составил 7 (7; 7) против 8 (7; 8) в группе сравнения ($p=0,04$).

С целью выявления патогенетических основ колонизации урогенитального тракта девочек-подростков до начала половой жизни микоплазмами проведено исследование сывороточных уровней провоспалительного цитокина ФНО α и противовоспалительного — ИЛ-4 методом ИФА у 21 пациентки основной группы и у 41 — группы сравнения (табл. 3).

Статистически значимых различий по продукции ФНО α и ИЛ-4 на системном уровне среди девочек-подростков выявлено не было. Анализ взаимосвязи продукции двух цитокинов показал, что в группе сравнения существует корреляционная связь средней силы между уровнями про-противовоспалительных цитокинов ($rs=0,56$; $p=0,0004$). В основной группе девочек происходит сдвиг в системе цитокинов, когда при прежних уровнях продукции утрачивается корреляционная связь и наблюдается дисбаланс про-противовоспалительных цитокинов.

Выводы

В урогенитальном тракте девочек-подростков 12-18 лет до начала половой жизни отсутствовали такие абсолютные патогены, как *M.genitalium*, *C.trachomatis*. У 32,9% девочек-подростков выделялись условно-патогенные урогенитальные микоплазмы в значимом титре, в основном *U.parvum* ($pM.hom.=0,032$, $pU.ig.=0,0002$) с более высокой концентрацией ДНК в моче ($p=0,002$), что позволяет реко-

Таблица 3.

Сывороточные уровни ФНО α и ИЛ-4 у обследуемых девочек-подростков, Ме (25, 75%) пг/мл

	Основная группа (n=21)	Группа сравнения (n=41)
Концентрация ФНО α	0,046 (0,030; 1,807)	0,047 (0,032; 1,107)
Концентрация ИЛ-4	0,048 (0,023; 0,081)	0,047 (0,028; 0,059)

мендовать мочу в качестве биологического материала для ПЦР-диагностики микоплазм.

У девочек с наличием урогенитальных микоплазм значимо чаще, чем у девочек с отрицательными результатами исследования на микоплазмы наблюдались малые аномалии развития ($OR=3,7$; $CI\ 95\% 1,2; 11,7$, $p=0,028$), в 2 раза чаще — хронический пиелонефрит. При рождении на 1-й минуте они имели более низкий балл по шкале Апгар 7 (7; 7) против — 8 (7; 8) в группе сравнения ($p=0,04$), а их матери в 5,7 раза чаще болели во время беременности инфекцией мочевыводящих путей и значимо чаще вагинитом ($p=0,024$).

Инфицирование урогенитального тракта девочек-подростков 12-18 лет до начала половой жизни *U.spp* и *M.hominis* не имело специфических клинических проявлений, но в 44,5% случаев сопровождалось изменением микрофлоры при бактериоскопии ($p=0,038$), ассоциировалось с высокой частотой дисбиоза уретрального биотопа (77,8%) на фоне превалирования анаэробов группы *G.vaginalis/P.bivia/Porph.spp.* с высокой концентрацией ДНК ($p=0,045$), протекало на фоне нарушения корреляционной связи между про- и противовоспалительными цитокинами ($p=0,0004$), что свидетельствует о необходимости адекватного обследования и своевременной коррекции микробиоценоза урогенитального тракта в подростковом возрасте с целью профилактики патологии репродуктивной системы в последующем.

Надійшла до редакції 17.04.2015.

Список использованной литературы

1. Богданова Е.А. Воспалительные заболевания вульвы и влагалища у девочек / Е.А. Богданова // Гинекология. — 1999. — Т. 1. — № 1. — С. 86-89.
2. Малова И.О. Бактериальный вагиноз в детском возрасте: особенности течения и основные принципы лечения / И.О. Малова // Вестник дерматологии и венерологии. — 1999. — № 1. — С. 38-42.
3. Творогова Т.М. Воспалительные заболевания гениталий у девочек / Т.М. Творогова // РМ.Ж. — 2004. — том 12. — № 1. — С. 26-29.
4. Немченко, О.И. Урогенитальный микоплазмоз у девочек / О.И. Немченко, Е.В. Уварова // Репродуктивное здоровье детей и подростков. — 2005. — № 2. — С. 76-79.
5. Prevalence of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* (T-strains) in urine in adolescents / H. Foy [et al.] / J Clin Microbiol. — 1975. — Vol. 2, № 3 — P. 226-230.
6. Уварова Е.В. Состояние вагинального микроценоза в норме и при различных вариантах патологии у детей / Е.В. Уварова, М.Р. Рахматулина // Венеролог. 2006. — № 10. — С. 20-35.
7. Покровский В.И. Руководство по эпидемиологии инфекционных заболеваний / В.И. Покровский. — М., 1993. — Том 2. — С. 120-127.
8. Данилов Е.Ю. Урогенитальная микоплазменная инфекция у женщин / Е.Ю. Данилов // Медлайн экспресс. — 2004. — № 11-12 — С. 15-19.
9. Микоплазмы. Молекулярная и клеточная биология, взаимодействие с иммунной системой млекопитающих, патогенность, диагностика / С.Н. Борхсениус [и др.]. — СПб.: Наука, 2002. — 256 с.