

І.С. Миронюк, к.м.н., Ужгородський національний університет

Урогенітальний мікоплазмоз, викликаний *Mycoplasma genitalium*: питання діагностики в практиці лікаря

У клітинах людини паразитує 11 видів мікоплазм, але причиною власне урогенітального мікоплазмозу може бути тільки *Mycoplasma genitalium* – облігатний для людини патоген [1].



І.С. Миронюк

Уперше цей новий вид мікоплазм було виділено в одній з клінік Лондона в 1981 році від чоловіків з негонококовим уретритом. Дослідили, що *Mycoplasma genitalium* має здатність здійснювати активні рухи, що дозволяє їй проникати в шари слизу, які покривають епітеліальні клітини, прикріплюватися й проникати в них. При прикріпленні до епітеліальних клітин *Mycoplasma genitalium* справляє виражений цитопатогенний вплив і викликає формування клітинної запальної відповіді [2].

У діагностиці урогенітального мікоплазмозу в практиці лікаря виникає ціла низка труднощів, зумовлених як особливостями власне *Mycoplasma genitalium*, так і перебігом викликаного нею патологічного процесу. Проблеми можуть з'являтися вже на етапі клінічної діагностики. Це зумовлено тим, що клініка урогенітального мікоплазмозу є неспецифічною й досить неоднозначною, оскільки його перебіг може бути безсимптомним, латентним, або, навпаки, з виразними клінічними проявами й ускладненнями [2, 3, 4].

Так, вважається, що принаймні у 40% випадків урогенітальний мікоплазмоз у чоловіків перебігає приховано, тільки за деяких умов (стрес, ослаблення захисних сил організму) мікоплазми стають активними і спричиняють появу низки клінічних проявів і серйозних ускладнень. Водночас окремі автори зазначають, що уретрит, викликаний *Mycoplasma genitalium*, перебігає в маніфестній формі частіше, ніж хламідійний уретрит. Взагалі в структурі причин негонококових уретритів чоловіків *Mycoplasma genitalium* посідає третє місце після *Chlamydia trachomatis* і *Ureaplasma urealyticum*. Частка негонококових уретритів у чоловіків, викликаних *Mycoplasma genitalium*, становить, за даними різних авторів, 12-25% [5]. Отже, визначити чіткі клінічні показання щодо обстеження чоловіків на наявність *Mycoplasma genitalium* досить проблематично, адже відсутність клінічних ознак уретриту не означає відсутності колонізації *Mycoplasma genitalium* урогенітального тракту в цієї особи; і навпаки, наявність клінічних ознак уретриту не дає підстав запідозрити інфікування саме *Mycoplasma genitalium*, адже специфічних проявів для цього інфекційного агента немає. Утім, дослідники звертають увагу на те, що *Mycoplasma genitalium* є причиною розвитку уретриту в чоловіків, які практикують гомосексуальні контакти, частіше, ніж у гетеросексуальних [5].

У жінок *Mycoplasma genitalium* може викликати слизово-гнійний цервіцит. Так, у низці незалежних досліджень було показано, що *Mycoplasma genitalium* викликає слизово-гнійний цервіцит у жінок за відсутності *Chlamydia trachomatis* та *Neisseria gonorrhoeae*, які є визнаними збудниками цього захворювання [6].

При цьому клінічні прояви цервіциту, викликаного *Mycoplasma genitalium*, практично не відрізняються від цервіциту хламідійної етіології.

Роль *Mycoplasma genitalium* у розвитку запальних захворювань органів малого таза (ЗЗОМТ) у жінок достовірно не доведена [7, 8]. Водночас низка досліджень свідчить про прямий зв'язок між інфікуванням *Mycoplasma genitalium* і розвитком ендометриту [9] та клінічної картини ЗЗОМТ [10]. Вважається, що чоловіки, хворі на негонококовий уретрит, можуть бути джерелом інфікування жінки з імовірним подальшим розвитком у неї ЗЗОМТ, обструкції фаллопійових труб, безпліддя, позаматкової вагітності, а також синдрому хронічних тазових болей [5]. Аналогічно як у чоловіків, клінічні прояви інфікування урогенітального тракту в жінок *Mycoplasma genitalium* не є специфічними саме для цього збудника.

Дані як анамнезу захворювання, так і сексуального анамнезу є мало інформативними з точки зору підозри інфікування пацієнта саме *Mycoplasma genitalium*. Інкубаційний період для урогенітального мікоплазмозу оцінюють від 3 діб до 3-5 тижнів, що вписується у тривалість інкубаційного періоду при більшості інфекцій, які передаються статевим шляхом (ІПСШ) з переважним ураженням урогенітального тракту. Сексуальний анамнез не надає якоїсь значущої інформації для підозри щодо інфікування саме *Mycoplasma genitalium*. Так, на сьогодні доведено, що органом первинної колонізації *Mycoplasma genitalium* є урогенітальний тракт. Що ж до питання, чи є слизова оболонка носоглотки можливою зоною колонізації цим збудником, чітких достовірних даних немає (на відміну від *Ureaplasma urealyticum*) [5]. Але саме *Mycoplasma genitalium* є найбільш частим етіологічним агентом уретриту в гомосексуальних чоловіків, які практикують оральний секс. Немає також прямої залежності між частотою виявлення *Mycoplasma genitalium* та кількістю статевих партнерів [2].

Зважаючи на особливості *Mycoplasma genitalium* (дуже малі розміри збудника – найменший з усіх відомих представників сімейства *Mycoplasmataceae*; відсутність клітинної стінки, що перешкоджає виробленню достатньої кількості антитіл та інших факторів імунного захисту; збудник тісно прилягає до клітин макроорганізму, утворює інвазію в стінках клітин-мішеней, що обумовлює маскування збудника в макроорганізмі тощо), лабораторне виявлення цього виду мікоплазм теж викликає певні труднощі.

Основні методи лабораторної діагностики ІПСШ, які сьогодні широко застосовуються: мікроскопічні, культуральні (посіви), молекулярно-біологічні (полімеразно-ланцюгова реакція –

ПЛР тощо), серологічні (імуноферментний аналіз – ІФА, виявлення антигену збудника методом прямої імуофлюоресценції – ПІФ) та деякі інші. У разі виявлення *Mycoplasma genitalium* є значні обмеження застосування цього арсеналу лабораторних методів ідентифікації збудника.

Так, метод прямої мікроскопії мазків, забарвлених за Романовським-Гімзою, для виявлення морфологічних структур мікоплазм зараз не використовується, оскільки світлова мікроскопія не дає змоги виявити мікоплазми через їх дрібні розміри.

Вважається, що для виявлення генітальних мікоплазм потрібно використовувати культуральний метод або метод ПЛР у реальному часі, що дозволяє визначити кількість мікоплазм у досліджуваному матеріалі (для *Ureaplasma spp.* та *Mycoplasma hominis*). Саме культуральні методи діагностики є досить поширеними в діагностиці *U. urealyticum* та *M. hominis*, адже концентрація цих видів мікоплазм понад 104 мікробних клітин в 1 мл або 1 г виділень може мати діагностичне значення, особливо за наявності конкретного захворювання, такого як вульвовагініт або цервіцит у жінок чи уретрит у чоловіків. Водночас більш низькі концентрації не слід враховувати, оскільки в таких кількостях ці мікоплазми можуть виявлятися у здорових людей [5]. До того ж застосування культуральних методів діагностики *Mycoplasma genitalium* обмежене. Це зумовлено складністю виділення та культивування збудника і відсутністю доступних селективних живильних середовищ [11, 12].

Серологічна діагностика *Mycoplasma genitalium* теж має істотні недоліки:

- можливість позитивного результату серологічних реакцій у практично здорових людей [13, 14];

- висока антигенна різномірність мікоплазм [15, 16] не дає змоги проводити чітку інтерпретацію отриманих результатів;

- особливість морфології мікоплазм (відсутність клітинної оболонки послаблює виразність антигенних детермінант і знижує стимуляцію антитілотворення) [17, 18] утруднює аналіз результатів дослідження.

Однак окремі науковці вказують на можливу сферу застосування серологічної діагностики *Mycoplasma genitalium* для визначення наявності зв'язку між виникненням трубного безпліддя в жінок і попереднім контактом з *Mycoplasma genitalium* [7]. Але результати серологічних реакцій у жодному разі не можна застосовувати як метод контролю виживаності при мікоплазмозах взагалі та *Mycoplasma genitalium* зокрема.

Метод ПІФ для діагностики *Mycoplasma genitalium* згадується в роботах

окремих російських учених, в яких використано діагностичними російського виробництва [19]. Між тим переважна більшість науковців вважає, що застосування методів ПІФ для виявлення генітальних мікоплазм неприпустиме [5].

В останнє десятиріччя дедалі більшого поширення в діагностиці мікоплазмозу набуває застосування методу ПЛР [20], який в 1983 році винайшов американський вчений Кері Мюлліс (Gary Mullis). Принцип методу полягає в ампліфікації фрагмента ДНК, обмеженого праймерами, за допомогою ферменту ДНК-полімерази. Застосування цього методу на практиці дозволило істотно скоротити час і підвищити надійність кінцевих результатів діагностики захворювань мікоплазмозової етіології [21, 22].

Обираючи цей метод діагностики як основний, спеціалісти покладаються на такі його переваги:

- універсальність – як матеріал для досліджень може бути використаний практично будь-який біологічний субстрат [23];

- малий об'єм субстрату – для проведення дослідження потрібна невелика кількість матеріалу [24], що надзвичайно важливо за відсутності клінічних проявів захворювання;

- висока специфічність і чутливість, адже, згідно з даними низки авторів, ці показники методу ПЛР становлять 99-100% [25, 26]. Так, висока специфічність методу забезпечується завдяки тому, що виявлення збудника проводиться на підставі унікального тільки для нього фрагмента ДНК або РНК, а висока чутливість – завдяки тому, що метод ПЛР дозволяє верифікувати інфекцію, навіть якщо в досліджуваній матеріал потрапив лише один збудник (саме внаслідок багаторазового копіювання унікальної ділянки генетичного матеріалу) [23].

Важливою перевагою методу ПЛР у діагностиці урогенітальних інфекцій є те, що виконання діагностики є автоматизованим, що практично виключає виникнення діагностичних помилок на аналітичному етапі, зокрема за рахунок виключення людського фактору. Це значна перевага цього методу порівняно, наприклад, з методом ПІФ. Крім власне ідентифікації збудника (якісний метод), метод ПЛР дозволяє визначити і його кількісні показники (кількісний метод) [25, 26]. Це широко застосовується при визначенні етіологічної ролі *Ureaplasma spp.* та *Mycoplasma hominis* при запальних захворюваннях урогенітальної сфери та для моніторингу ефективності лікування мікоплазмозів, зокрема викликаних *Mycoplasma genitalium* [27].

Звичайно, будь-який метод має свої недоліки, й метод ПЛР не є винятком. Його застосування утруднює появу таких проблем, як:

- 1) ампліфікація ДНК відбувається не тільки в живому, а й вже померлому

мікроорганізмі, що потребує дотримання правил проведення контролю виліковуваності саме цим методом лабораторної діагностики (для *Mycoplasma genitalium* контроль виліковування здійснюється не раніше ніж через 4 тижні після завершення терапії);

2) можливість отримання хибно-негативного результату при порушенні правил забору матеріалу й інших компонентів преданалітичного етапу діагностики (правил зберігання, транспортування матеріалу та ін. [23].

Проте наразі ці проблеми вдалося успішно подолати, зокрема завдяки використанню методу NASBA (Nucleic acid sequence based amplification). Він був винайдений J. Compton у 1991 році, науковець визначив його як «праймер-залежну технологію, яка може бути використана для безперервної ампліфікації нуклеїнових кислот в одній суміші при одній температурі». Але цей метод має суттєвий недолік – він не дуже поширений через його високу вартість і складність технологічного процесу дослідження. Тому його застосовують при вирішенні спірних моментів: при розбіжності результатів порівняно з результатами інших методів досліджень.

Найбільш широко на сьогодні для діагностики *Mycoplasma genitalium* у практичній охороні здоров'я застосовується метод ПЛР у реальному часі (Real Time PCR). Цей метод дозволяє знизити трудовитрати й збільшити достовірність результатів. Також він має низку інших важливих переваг, таких як можливість кількісної оцінки інфекційного агенту в біологічному матеріалі [27], паралельну детекцію до 4 інфекцій в одному зразку [28]. Завдяки саме цим своїм характеристикам метод ПЛР у реальному часі

став найпопулярнішим у діагностиці мікоплазменних уражень уrogenітального тракту як у чоловіків, так і в жінок.

Отже, у практичній діяльності лікаря методом вибору діагностики уrogenітальних інфекцій, викликаних *Mycoplasma genitalium*, на сьогодні є методи ампліфікації нуклеїнових кислот (МАНК), зокрема ПЛР у реальному часі. Усі інші методи діагностики (клінічні, дані анамнезу, інші лабораторні методи) можуть виконувати лише допоміжні функції.

При цьому слід звернути увагу на обов'язкове дотримання правил забору матеріалу для лабораторного дослідження, його зберігання й транспортування в лабораторію. Вважається, що 80% діагностичних помилок при проведенні діагностики ІПСШ методами МАНК пов'язані саме з порушеннями правил на преаналітичному етапі (від моменту забору біологічного матеріалу від пацієнта до його транспортування до дверей лабораторії).

Література

1. Глобальная стратегия профилактики инфекций, передаваемых половым путем, и борьбы с ними, 2006-2015 гг./ ВОЗ, Женева. – 2006.
2. Taylor-Robinson D. The history and role of *Mycoplasma genitalium* in sexually transmitted diseases. *Genitourin Med* 1995; 71: 1-8.
3. Балуюнц Э.С. Этиологическое значение ассоциированных инфекций в патологии мочеполовых органов у мужчин, клинико-иммунологические особенности, диагностика и лечение // Автореф. дис. ... докт. мед. наук. – М., 1991. – 23 с.
4. Chang M.W. Studies fo genitourinary tract mycoplasmas // *Med. J. Hiroshims Univ.* – 1994. – Vol. 34, № 4. – P. 433-442.
5. Прилепская В.Н., Кисина В.И. и др. К вопросу о роли микоплазм в уrogenітальной патологии // *Гинекология.* – 2007. – № 9 (1). – С. 31-38.

6. Falk, Fredlund H., Jensen J.S. Tetracycline treatment does not eradicate *Mycoplasma genitalium*. *Sex Transm Infect* 2004; 79: 38-39.
7. McGowin C.L., Anderson-Smits C. *Mycoplasma genitalium*: новый возбудитель инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), у женщин / *Русский медицинский журнал.*
8. Гомберг М.А. Ведение больных с микоплазменной инфекцией/ *Гинекология.* – 2009. – № 4. – С. 14-17.
9. Cohen C.R., Manhart L.E., Bukusi E.A., Astete S., Brunham R.C. et al. (2002) Association between *Mycoplasma genitalium* and acute endometritis. *Lancet* 359: 765-766.
10. Haggerty C.L., Totten P.A., Astete S.G., Lee S., Hoferka S.L. et al. (2008) Failure of cefoxitin and doxycycline to eradicate endometrial *Mycoplasma genitalium* and the consequence for clinical cure of pelvic inflammatory disease. *Sex Transm Infect* 84: 338-342.
11. Скуратович А.А., Хачикян Х.М. Диагностика, патогенез, терапия инфекционных уrogenітальных заболеваний // *Тез. докл. VI Всерос. съезда дерматол. и венерол.* – М., 1989. – С. 3.
12. Бенькович А.С. Инфекции, вызываемые *Mycoplasma genitalium*: клинические проявления, особенности диагностики и терапии / *Клиническая дерматология и венерология.* – 2008. – № 3. – С. 61-62.
13. Гончарова С. А. Лабораторная диагностика микоплазмозов человека // *Вестн. АМН СССР.* – 1991. – № 4-5. – С. 44-46.
14. Yoder B.L. Microtest procedure for isolation of *Ureaplasma urealyticum* // *J. Clin. Microbiol.* – 1987. – Vol. 13, № 6. – P. 1036-1039.
15. Ильин И.И. Негонококковые уретриты у мужчин. – М.: Медицина, 1991. – 288 с.
16. Островский А.Д., Авраимов С.А., Бекетов К.А., Мошнин М.В. Новый метод определения микоплазмы // *Тез. докл. VI Всерос. съезда микробиол., эпидемиол., паразитол.* – М., 1991. – 229 с.
17. Горина Л.Г. Микоплазмы и L-формы стрептококков. Иммунологическая характеристика и лабораторная диагностика // *Автореф. дис. докт. мед. наук.* – М., 1991. – 29 с.
18. Nalini K., Sethi V.K. et al. Aetiologic factors in male infertility: clinical, microbiological and hormonal evaluation // *J. Assoc. Physicians. India.* – 1992. – Vol. 40, № 3. – P. 147-149.

19. Ришук С.В., Мирский В.Е. Диагностические подходы при уrogenітальной микоплазменной инфекции / *Всероссийский междисциплинарный медицинский журнал.* – 2013. – № 1. – С. 4-12.
20. Godfrey T., Norwood D., Shaad N. Real-time PCR: Emerging Application., 2002.
21. Бочкарев Е.Г. Применение ПЦР в диагностике уrogenітальных инфекций // *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физкультуры.* – 1997. – № 3. – С. 28-30.
22. Cadieux N., Lebel P., Brousseau R. Use of a triplex polymerase chain reaction for the detection and differentiation of *Mycoplasma pneumoniae* and *Mycoplasma genitalium* in the presence of human Dna // *J. Gen. Microbiol.* – 1993. – Vol. 139. – P. 2431-2437.
23. Кисилев В.И., Дмитриев Г.А., Латыпова М.Ф. Полимеразная цепная реакция в диагностике уrogenітальных инфекций / *Пособие для врачей.* – М., 2000.
24. Higuchi R. Kinetic PCR Analysis: Real-time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology*, 1993,11: 1026-1030.
25. Hopert A., Uphoff C.C. et al. Specificity and sensitivity of polymerase chain reaction (PCR) in comparison with other methods for the detection of mycoplasma contamination in cell.
26. Palmer H.M., Gilroy C.B. et al. Detection of *Mycoplasma genitalium* in the genitourinary tract of women by the polymerase chain reaction // *Int. J. STD AIDS.* – 1991. – Vol. 2, № 4. – P. 261-263.
27. Saha B.K., Tian B., Bucy R.P. Quantitation of HIV-1 by real-time PCR with a unique fluorogenic probe, *Journal of Virological Methods*. 2001, 93: 33-42.
28. Vet J.A.M., Majithia A.R., Marras S.A.E., Tyagi S., Dube S., Poiesz B.J., Kramer F.R. Multiplex detection of four pathogenic retroviruses using molecular beacons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, 96: 6394-6399.
29. Гушин А.Е., Бурцев О.А. и др. Мониторинг лечения пациентов с инфекцией, вызванной *Mycoplasma genitalium*, с помощью методов ПЦР и НАСБА в реальном времени // *Клиническая дерматология и венерология.* – 2009. – № 4. – С. 58-63.

3

ДАЙДЖЕСТ

Идентификация макролидрезистентной *Mycoplasma genitalium* при помощи методики полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени

Несмотря на то что *Mycoplasma genitalium* (*M. genitalium*) является частой причиной негонококкового уретрита в Западной Европе, рутинное обследование пациентов на наличие этой инфекции в клиниках не проводится. При этом распространенность макролидрезистентной *M. genitalium* в этом регионе достаточно высокая. В то же время простой в применении тест, позволяющий составить прогноз в отношении вероятности неудачи терапии макролидными антибиотиками, является потенциально очень ценным. Проведенное исследование способствовало разработке быстрого и надежного анализа с применением методики ПЦР в режиме реального времени, дающего возможность идентифицировать все локусы в гене 23S рибосомальной РНК (рРНК) *M. genitalium*, связанные с формированием антибиотикорезистентности этого микроорганизма.

Исследователи из Норвегии провели анализ образцов, поступивших в лабораторию в период с декабря 2012 г. по май 2013 г. для диагностического обследования на предмет инфицирования *M. genitalium*, и отобрали те из них, которые были *M. genitalium*-позитивными. В процессе ПЦР в режиме реального времени для амплификации использовались прямые праймеры, комплементарные наиболее часто идентифицируемым генным мутациям 23S рРНК, обратные праймеры, а также линейные разрушаемые флуоресцентные олигонуклеотидные зонды TaqMan. TaqMan-анализ использовался для обнаружения особенностей генотипа 23S рРНК в позициях 2058 и 2059 (нумерация аминокислотных остатков по *Escherichia coli*), ассоциированных с резистентностью к макролидным антибиотикам.

В результате проведенного исследования были выявлены генотипы (A2058G, A2059G и A2058C), связанные с развитием устойчивости *M. genitalium* к макролидам. Авторы продемонстрировали взаимосвязь между резистентностью *M. genitalium* и неэффективностью лечения, обосновав необходимость проведения обследования на наличие указанных мутаций с целью предотвращения роста антибиотикорезистентности и создания условий, требуемых для осуществления рационального выбора антимикробного препарата для лечения уrogenітального микоплазмоза.

Wold C., Sorthe J., Hartgill U., Olsen A.O., Moghaddam A., Reinton N. Identification of macrolide-resistant *Mycoplasma genitalium* using real-time PCR. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2015 Jan 26.

Подготовил **Антон Проїдак**

АНОНС

Національна академія медичних наук України
Міністерство охорони здоров'я України
Асоціація акушерів-гінекологів України та Український державний інститут репродуктології

Науково-практична конференція з міжнародною участю «Діагностика та терапія ендокринних порушень у жінок від менархе до менопаузи»

24 квітня 2015 року, м. Київ

Місце проведення:

Гольф-центр, м. Київ, вул. Оболонська набережна, 20.

Від метро «Петрівка» до Гольф-центру будуть організовані трансфери з табличкою.

Із м. Києва буде організовано інтернет-конференцію з двостороннім зв'язком (можна ставити запитання та відповідати на них у прямому ефірі) у міста Запоріжжя, Одеса, Вінниця, Львів, Харків, Дніпропетровськ.

У рамках конференції будуть проведені 2 секційні засідання:

1 – АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВ'Я (24.04.2015 р., 9:30-12:30);

2 – ІННОВАЦІЙНІ ПІДХОДИ ДО ДІАГНОСТИКИ, ПРОФІЛАКТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ КЛІМАКТЕРИЧНИХ ПОРУШЕНЬ (24.04.2015 р., 13:40-17:00),

на яких будуть представлені доповіді провідних вітчизняних та зарубіжних фахівців у галузі акушерства та гінекології.

Реєстрація учасників проводитиметься з 08.04.2015 р. централізовано: анкети треба завантажити на офіційному сайті Асоціації акушерів-гінекологів та надіслати на електронні адреси, що вказані на офіційному сайті

<http://www.aagu.com.ua>