

**На правах рукописи**

**СТУКОЛКИНА Наталья Евгеньевна**

**ЧАСТОТА ОБНАРУЖЕНИЯ MYCOPLASMA HOMINIS И  
UREAPLASMA UREALYTICUM И ИХ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К  
АНТИБИОТИКАМ У БОЛЬНЫХ С УРОГЕНИТАЛЬНОЙ  
ПАТОЛОГИЕЙ**

**03.02.03 – «Микробиология»**

**Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук**

**Уфа - 2011**

Работа выполнена на кафедре микробиологии, иммунологии и инфекционных болезней Института медицинского образования в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования “Новгородский государственный университет имени Ярослава Мудрого”.

**Научный руководитель** – доктор медицинских наук, профессор  
Чеботкевич Виталий Николаевич

**Официальные оппоненты:** доктор биологических наук, профессор  
Чемерис Алексей Викторович  
доктор медицинских наук, профессор  
Сбойчаков Виктор Борисович

**Ведущая организация** – Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования “Московский государственный медико-стоматологический университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию”

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2011г. в «\_\_» часов на заседании Объединенного диссертационного Совета ДМ 208.006.05 при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» по адресу: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию».

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2011г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Лукманова К.А.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность проблемы

Инфекции, передаваемые половым путем (ИППП), являются одной из важнейших проблем современной медицины. В начале XXI века в мире значительно возросла частота этих инфекций. В Российской Федерации эпидемиологическая обстановка по ИППП также остается напряженной. Во многом это обусловлено ранним началом половой жизни, наличием нескольких половых партнеров, пренебрежением к использованию барьерных методов контрацепции, бесконтрольным применением антибиотиков, самолечением и рядом других факторов [Гранская Ю.В. и др., 2005; Шипицина Е.В. и др., 2010; Рищук С.В., 2011].

Среди возбудителей урогенитальных инфекций особое место занимают микоплазмы в связи с особенностями их биологии как мембранных паразитов [Борхсениус С.Н. и др., 2002]. Для них характерна длительная персистенция и влияние на ряд систем организма, в частности - иммунную. Урогенитальные микоплазмы с трудом поддаются антибиотикотерапии ввиду частого развития резистентности к антибиотикам. Особую эпидемиологическую опасность представляют лица с выявленными *Mycoplasma hominis* (*M.hominis*) и *Ureaplasma urealyticum* (*U.urealyticum*), ассоциированными с другими инфекционными агентами урогенитального тракта. Со смешанными урогенитальными инфекциями чаще всего связывают развитие у женщин цервицита, вагиноза, вторичного бесплодия и привычного невынашивания [Билалов Ф.С. и др., 2011; Андросова Л.Д., 2011]. В виду того, что урогенитальные микоплазмы и другие возбудители ИППП могут вызывать воспалительную реакцию в зоне маточно-плацентарного барьера, они могут являться причиной осложнений беременности - эктопической беременности, спонтанных абортов и преждевременных родов, могут приводить к антенатальному и перинатальному инфицированию, задержке развития плода и гибели новорожденных [Nigro G. et al., 2011; Taylor-Robinson D., Lamont R. F., 2011].

У мужчин урогенитальные микоплазмы и, в частности уреоплазмы, играют значительную роль при негонококковых уретритах и простатитах [Егоров А.А., 2008]. Имеются данные о значении урогенитальных микоплазм в развитии мужского бесплодия. Установлено снижение подвижности сперматозоидов и ухудшение качественных характеристик спермы у мужчин с уреоплазменной и микоплазменной инфекцией мочевого тракта [Wang Y et al., 2006; Liu DF et al., 2007; Gdoura R. et al., 2008]. Дополнительные трудности в понимании этиологической роли *M.hominis* и *U.urealyticum* связаны с их частым обнаружением у здоровых лиц и отсутствием единого мнения о критериях постановки диагноза урогенитального микоплазмоза. Спорным является вопрос о значении некоторых современных лабораторных тестов, в частности полимеразной цепной реакции (ПЦР), в диагностике ИППП и их роли в установлении критериев излеченности [Савичева А.М. и др., 2002; Раковская И.В. и др., 2008]. Актуальность проблемы связана также с возможными серьезными социально-демографическими последствиями широкого распространения урогенитальных микоплазмозов, хламидиоза и других ИППП в отдельных группах населения. Этот рост поддерживается высоким уровнем рискованного сексуального поведения, в частности среди студенческой молодежи [Архипова Е.И. и др., 2007]. Однако в литературе практически отсутствуют данные, охватывающие последние годы, по частоте обнаружения микоплазм у разных групп населения, единичными являются работы по длительному наблюдению в динамике изменений чувствительности урогенитальных микоплазм к антибиотикам. В связи с изложенным необходимы научно-прикладные клинико-микробиологические исследования разных групп населения с целью получения достоверной информации о частоте обнаружения микоплазм, разработка методов количественной оценки содержания микоплазм в биоматериале, их чувствительности к наиболее широко используемым антибиотикам, которые должны явиться основой широких эпидемических исследований, установления адекватного диагноза и, при необходимости, соответствующей терапии.

### **Цель исследования**

Определить частоту обнаружения *U. urealyticum* и *M. hominis* у больных с урогенитальной патологией, оценить чувствительность выделенных штаммов к антибиотикам, усовершенствовать методики их определения для выбора оптимальных методов диагностики и лечения урогенитальных микоплазмозов.

### **Задачи исследования**

1. Изучить частоту выявления *U. urealyticum* и *M. hominis* и их ассоциаций с другими инфекционными агентами у лиц, обследуемых на инфекции, передаваемые половым путем.

2. Охарактеризовать особенности клинических проявлений микоплазменной инфекции у женщин и мужчин.

3. Определить динамику изменений чувствительности штаммов *M. hominis* и *U. urealyticum*, выделенных у больных, к основным антибиотикам, применяемым при лечении урогенитальных микоплазмозов.

4. Разработать полуколичественный метод определения *U. urealyticum* и *M. hominis* в исследуемом биоматериале на жидких питательных средах с визуальной оценкой изменения цвета индикатора – фенолового красного.

5. Усовершенствовать методику культивирования штаммов *U. urealyticum*, полученных у больных, в жидкой питательной среде с использованием буферных растворов.

### **Научная новизна исследования**

Впервые проведено изучение частоты обнаружения *U. urealyticum* и *M. hominis* на большом контингенте обследованных лиц за последние 7 лет. Установлена частота их выявления у студенческой молодежи, некоторые факторы риска, способствующие распространению среди студентов инфекций, передаваемых половым путём.

Новыми являются данные по динамике изменений чувствительности *M. hominis* и *U. urealyticum*, выделенных у лиц, обследованных на ИППП, к основным антибиотикам, применяемым для их лечения.

Усовершенствована методика полуколичественного определения *M.hominis* и *U.urealyticum* в исследуемом биоматериале, полученном у больных, а также методика культивирования штаммов *U.urealyticum* в жидкой питательной среде с использованием буферного раствора HEPES, что позволяет повысить жизнеспособность микроорганизмов и увеличить их титры в инкубационной среде.

### **Практическая значимость работы**

Разработана модификация микробиологического метода выявления и полуколичественного определения *M.hominis* и *U.urealyticum*, необходимая для скрининга и диагностики урогенитального микоплазмоза в условиях практического здравоохранения. Модифицирован бактериологический метод определения *U.urealyticum* в биоматериале больных с добавлением в культуральную среду буфера HEPES. Проведена оценка чувствительности выделенных штаммов *M.hominis* и *U.urealyticum* к наиболее широко используемым лекарственным препаратам. Показана их высокая чувствительность к доксициклину и джозамицину и резистентность к ломефлоксацину, офлоксацину и азитромицину. Разработаны практические рекомендации по выбору антибиотиков для лечения микоплазмозов, исходя из данных о чувствительности к ним *U.urealyticum* и *M.hominis*.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1 Среди лиц, впервые обратившихся в лечебно-профилактические учреждения для обследования на заболевания, передаваемые половым путём, отмечается высокая частота обнаружения в биоматериале урогенитального тракта *M.hominis* и *U.urealyticum* в высоких титрах. У обследованных на заболевания, передаваемые половым путём, урогенитальные микоплазмозы и уреаплазмозы чаще протекают в ассоциации с другими возбудителями инфекций, передаваемых половым путем.

2 При наличии высоких титров *U.urealyticum* в биоматериале из урогенитального тракта у женщин выявляется высокая частота уретритов, кольпитов, у

мужчин – уретритов и простатитов. Высокие титры *M.hominis* в биоматериале у мужчин ассоциируются с уретритами, у женщин - с бактериальными вагинозами.

3 Штаммы *U.urealyticum* и *M.hominis*, выделенные у лиц с жалобами, характерными для заболеваний урогенитальной сферы, наиболее чувствительны к доксициклину и джозамицину, наименее – к азитромицину, офлоксацину и ломефлоксацину.

4 Методика определения *U.urealyticum* и *M.hominis* в жидкой питательной среде с визуальной регистрацией изменения цвета индикатора фенолового красного в динамике позволяет проводить полуколичественную оценку их содержания в биоматериале.

5 Методика культивирования штаммов *U.urealyticum*, полученных от больных, в жидкой питательной среде с использованием буферного раствора НЕРЕС позволяет повысить жизнеспособность микроорганизмов и увеличить их титры.

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Материалы исследования внедрены в практическую деятельность лабораторий Новгородского областного кожно-венерологического диспансера, Городской женской консультации № 1, Лечебно-диагностического центра (Городская женская консультация №3) г. Великий Новгород. Основные положения диссертационной работы используются в учебном процессе кафедры микробиологии, иммунологии и инфекционных болезней Института медицинского образования ГОУ ВПО «Новгородский государственный университет имени Ярослава Мудрого».

### **Апробация работы**

Материалы диссертации доложены на 5-ой Всероссийской конференции «Генодиагностика инфекционных болезней» (Москва, 2004), конференции, посвященной 10-летию Новгородского государственного университета имени

Ярослава Мудрого (Великий Новгород, 2004), XIII и XIV Международной конференции «СПИД, рак и родственные проблемы» (Санкт-Петербург, 2005, 2006), XVI научно-практической конференции сотрудников и студентов ИМО (Великий Новгород, 2010), конференции молодых учёных Санкт-Петербургской медицинской академии последипломного образования (Санкт-Петербург, 2011).

Диссертация доложена и обсуждена на совместном заседании научно-плановой экспертной комиссии ИМО НовГУ и кафедры микробиологии, иммунологии и инфекционных болезней института медицинского образования ГОУ ВПО «Новгородский государственный университет имени Ярослава Мудрого» (протокол от 22 ноября 2010 года № 5).

Диссертация апробирована на заседании Объединённого диссертационного Совета ДМ 208.006.05 при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» (протокол от 14 апреля 2011 года № 5).

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 11 печатных работ, в том числе 3 в журналах, включенных в перечень рецензируемых журналов и изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации основных результатов диссертаций.

### **Объём и структура диссертации**

Диссертационная работа изложена на 112 страницах текста, содержит 19 таблиц, 7 рисунков. Она состоит из введения, обзора литературы (1 глава), собственных исследований (4 главы), заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы, включающего 53 отечественных и 95 зарубежных источников.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

В соответствии с поставленными задачами нами были обследованы на инфекции, передаваемые половым путём, пациенты обоего пола – 54 мужчины и 73 женщины в возрасте от 17 до 58 лет, обратившиеся по поводу заболеваний урогенитального тракта в лечебно-профилактические учреждения г. Великий Новгород. Для сравнения была изучена частота обнаружения *U.urealyticum* и *M.hominis* среди студенческой молодежи. Было обследовано 18 студентов и 57 студенток в возрасте от 18 до 22 лет, обучавшихся в институте медицинского образования Новгородского государственного университета имени Ярослава Мудрого г. Великий Новгород в 2007-2008 гг. Общее число обследованных лиц составило 202 человека (табл.1).

**Таблица 1 - Характеристика обследованных контингентов лиц**

Пол обследованных	Группы обследованных	Кол-во обследованных
Мужчины	Обследованные на ИППП	54
	Студенты	18
Женщины	Обследованные на ИППП	73
	Студентки	57
Итого		202

Критериями исключения из числа обследованных лиц были: возраст менее 16 и старше 60 лет, наличие социально значимых сопутствующих заболеваний: туберкулеза, сифилиса; тяжелых заболеваний сердечно-сосудистой и гепатобилиарной системы, почек, а также заболеваний крови. На проведение обследования было получено информированное согласие участников.

Для ретроспективной оценки частоты обнаружения *U.urealyticum* и *M.hominis* были проанализированы результаты обследования 4100 больных за период с 2002 по 2008 год. Чувствительность выделенных у больных штаммов *U.urealyticum* и *M.hominis* к антибиотикам была изучена за период с 2005 по 2008 год. Всего исследовано 373 штамма *M.hominis* и 617 - уреоплазм. В качестве исследуемого биоматериала при проведении лабораторных исследований

у женщин использовали содержимое уретры, цервикального канала и заднего свода влагалища, у мужчин - содержимое уретры. Забор биоматериала производили с помощью одноразовых зондов.

Частоту обнаружения *M.hominis* и *U.urealyticum* среди обследованных лиц изучали микробиологическим методом [Чеботкевич В.Н., 1981]. Материал засеивали в две пробирки с жидкой питательной средой, приготовленной с добавлением L-аргинина или мочевины, а также индикатора фенолового красного (0,002%-ного водного раствора). Рост культуры регистрировали по изменению цвета индикатора. При изменении цвета индикатора производили пересев на плотные питательные среды аналогичного состава с добавлением 1,3 % агара Difco (США) без фенолового красного. *M.hominis* образовывали типичные колонии диаметром 0,1-0,3 мм с врастающим в глубь агара темным центром и более светлой периферией. Для *U.urealyticum* были характерны мелкие колонии без периферической зоны. Дифференцировку уреоплазм проводили методом ПЦР с помощью тест-систем ООО «ИнтерЛабсервис» (Москва). Выявление *Chlamydia trachomatis* (*C.trachomatis*), *Neisseria gonorrhoeae* (*N.gonorrhoeae*), *Gardnerella vaginalis* (*G.vaginalis*), *Trichomonas vaginalis* (*T.vaginalis*), *Herpes simplex virus* (HSV) и цитомегаловирусов (CMV) проводили полимеразной цепной реакцией (ПЦР) с набором диагностикумов производства ООО «ИнтерЛабсервис» (Москва). Чувствительность *U. urealyticum* и *M. hominis* к антибиотикам оценивали с помощью жидких питательных сред в планшетах для иммунологических исследований производства «Медполимер» (Санкт-Петербург), в лунки которых вносили концентрации антибиотиков, соответствующие терапевтическим дозам препаратов. Результат выражали в цветоизменяющих единицах на 1мл (ЦИЕ/мл).

Статистическую обработку результатов исследования проводили параметрическими и непараметрическими методами с применением современных программных пакетов математико-статистического анализа. Отличия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$  [Реброва О.Ю., 2002]. Для описания нор-

мально распределенных количественных переменных использовали показатели: среднее значение признака (M), стандартную ошибку среднего (m). При сравнении количественных признаков применялся критерий Стьюдента (t). При сравнении качественных признаков использовался критерий  $\chi^2$  Пирсона. Для сравнения процентных долей применяли угловое преобразование Фишера (ф-преобразование), z-критерий. Был рассчитан относительный риск (ОР) и его 95% доверительный интервал.

### Результаты собственных исследований и их обсуждение

На первом этапе нами была изучена частота обнаружения *U.urealyticum* и *M.hominis*, а также их ассоциации с другими микроорганизмами у лиц разного пола, обратившихся по поводу обследования на инфекции, передаваемые половым путем. Исследования проведены микробиологическими методами с применением собственной модификации метода культивирования на жидких питательных средах, позволяющей определять количественные показатели содержания микроорганизмов (табл. 2).

**Таблица 2 – Частота выявления *U.urealyticum* и *M.hominis* у лиц, обследованных на инфекции, передаваемые половым путем**

Группы обследованных лиц	<i>U. urealyticum</i>		<i>M. hominis</i>	
	всего	в т.ч. в ассоциации	всего	в т.ч. в ассоциации
Мужчины, n=54	14 (25,9 %)	9 (64,3 %)	9 (16,7 %)	5 (56,0 %)
Женщины, n=73	39 (53,4 %)	32 (82,0 %)	15 (20,5 %)	15 (100 %)
p – уровень значимости	0,0044	0,0032	0,7469	0,0227*
$\chi^2$	8,555	36,667	0,1048	-
ОР	2,061	4,924	1,233	-
95 % ДИ	1,23-3,61	2,77-8,55	0,55-2,89	-

**Примечания.** \*– достоверность различий оценена по угловому преобразованию Фишера (ф-преобразование).

Обнаружение *U. urealyticum* и *M. hominis* в исследуемом материале в титре  $10^4$  ЦИЕ/мл и более свидетельствовало об их выраженных патогенных свойствах, а  $10^3$  ЦИЕ/мл и меньше – о колонизации микоплазмами тканей. Выявление других возбудителей (*T. vaginalis*, *C. trachomatis*, *G. vaginalis*, CMV, HSV, *N. gonorrhoeae*) осуществляли полимеразной цепной реакцией.

Установлено, что частота выявления уреоплазм не одинакова у мужчин и женщин. Встречаемость *U.urealyticum* была достоверно выше у женщин, чем у мужчин: 53,4% (39 случаев из 73) против 25,9 % (14 случаев из 54) соответственно, [ $\chi^2 = 8,555$ ;  $p=0,0044$ ; OR = 2,061; 95 % ДИ (1,23-3,61)]. Частота обнаружения *U.urealyticum* в ассоциации также достоверно выше была у женщин, она составила 82 % (32 из 39) против 64,3 % (9 из 14) у мужчин, [ $\chi^2 = 36,667$ ;  $p=0,0032$ ; OR = 4,924; 95 % ДИ (2,77 – 8,55)].

Не выявлено достоверных различий по полу в частоте встречаемости *M.hominis*: 20,5 % (15 из 73) у женщин против 16,7 % (9 из 54) у мужчин, [ $\chi^2 = 0,1048$ ,  $p=0,7469$ ; OR = 1,233; 95 % ДИ (0,55 – 2,89)]. Однако частота обнаружения *M.hominis* в ассоциации с другими микроорганизмами существенно различалась и достоверно выше была у женщин, она составила 100 % (15 из 15) против 56,0 % (5 из 9) у мужчин, [ $p=0,0227$ ].

*U. urealyticum* были выявлены у 53, 4 % (39 из 73) обследованных женщин. При этом только в 18,0% случаях (7из 39) *U. urealyticum* выделялись изолированно, в 82,0% случаях (32 из 39) - встречались в ассоциации с другими микроорганизмами.

*M.hominis* являлась ассоциантом в 12 (37, 5 %) случаях от общего числа смешанных инфекций, при этом только в 1-м случае она была единственным ассоциантом. Ассоциации из 2-х микроорганизмов наблюдались в 17 (53,1 %) случаях. При этом в подавляющем большинстве (15 случаев, 46,8 %) обнаруживались *G.vaginalis*. Ассоциации из 3-х инфекционных агентов наблюдались в 11 (34,4 %) случаях. В качестве ассоциантов также чаще обнаруживались *G.vaginalis* (9 случаев, 28,1 %), в 6-ти (18,7 %) - *M. hominis*, в 3-х (9,4 %) – CMV и 1 (3,1 %) – *T.vaginalis*. Смешанные инфекции из 4-х возбудителей наблюдалась в 3-х (9,4 %) случаях. При этом во всех эпизодах в качестве ассоциантов выявлялись *M.hominis*, в 2-х – *G.vaginalis* или HSV, в 1-м случае -

*C.trachomatis* или *T.vaginalis*. В 1-м (3,1 %) случае была выявлена ассоциация из 6-ти возбудителей, включавшая *M.hominis*, *C.trachomatis*, *T.vaginalis*, *G.vaginalis* и HSV.

Следовательно, при выявлении *U.urealyticum* среди женщин, обследуемых на инфекции, передаваемые половым путём, преобладают лица, преимущественно имеющие ассоциированные инфекции (82,0 %), при этом *M.hominis* является в 37,5 % случаев от общего числа смешанных инфекций.

*M.hominis* были выявлены у 20,5 % (15 из 73) обследованных женщин. При этом в 100 % (15 из 15) случаев наблюдались их ассоциации с другими микроорганизмами. В большинстве эпизодов (11 случаев, 73,3 %) в качестве ассоциантов выступали *U.urealyticum*. Ассоциации из двух микроорганизмов при наличии *M.hominis* наблюдались только в 4-х (26,5 %) эпизодах. В качестве ассоциантов при этом были выявлены *U.urealyticum*, *T.vaginalis* и в 2-х случаях – *G.vaginalis*. В 7 (46,6 %) случаях наблюдались ассоциации из 3-х инфекционных агентов. Чаще всего обнаруживали *U.urealyticum* (6 случаев, 85,7 %) и *G.vaginalis* (5 случаев, 71,4 %), по одному случаю выявлены ассоциации с *C.trachomatis*, *N.gonorrhoeae* или *T.vaginalis*.

Клинические особенности при обнаружении *U.urealyticum* в высоких титрах характеризовались наиболее частым поражением уретры. Уретрит у женщин наблюдался в 14 (35,8 %) случаях. В большинстве случаев (10 из 14-ти, 71,4 %) симптомы уретрита отмечались при смешанной уреаплазменной инфекции в сочетании с *M.hominis* или *T.vaginalis*.

Кольпит был выявлен у 10 (25,6 %) женщин, больных уреаплазмозом. Во всех случаях он наблюдался при смешанной инфекции, чаще сочетанной с *M.hominis*, *C.trachomatis* или *T.vaginalis*. Цервицит был выявлен в 2 (5,1 %) случаях, причем в обоих из них отмечалась смешанная хламидийно-уреаплазменная инфекция. Сальпингоофорит был выявлен у 6 (15,4 %) больных, во всех случаях отмечалась смешанная инфекция, ассоциированная с *M.hominis*, *G.vaginalis* и *T.vaginalis*.

При наличии у женщин *M.hominis* в высоких титрах уретрит наблюдался в 3 (20,0 %) случаях из 15-ти. Наиболее часто при этом выявлялся бактериальный вагиноз (8 случаев, 53,0 %), ассоциированный с *G.vaginalis*. При уреаплазменной инфекции этот синдром был выявлен только у 16 (36,0 %) пациенток. Во всех случаях уреаплазмоз протекал в ассоциации с *G.vaginalis*, у 12 (80,0 %) больных в качестве ассоциантов выявлялись также *M.hominis*.

Следовательно, к клиническим особенностям уреаплазмозов у женщин относится высокая частота поражения уретры (35,8 %), кольпитов (25,6 %), реже встречаются цервициты (5,1 %) и сальпингоофориты (15,4 %). В большинстве случаев при этом отмечаются ассоциации *U.urealyticum* с *M.hominis*. При обнаружении *M.hominis* в высоких титрах у женщин чаще встречаются бактериальные вагинозы (53,0 %) и уретриты (20,0 %). Чаще при этом наблюдаются ассоциации *M.hominis* и *G.vaginalis*.

*U.urealyticum* у мужчин выявлялись в 25,9 % (у 14 пациентов из 54 обследованных) случаев. Из них у 5-ти (35,7 %) они встречались в виде моноинфекции, у 9-ти (64,3 %) – в ассоциации с другими возбудителями.

Таким образом, частота обнаружения *U.urealyticum* у мужчин ниже, чем у женщин (25,9 % и 53,4 %, соответственно, [p=0,0044]). Однако при этом одинаково часто отмечаются их ассоциации с другими инфекционными агентами.

Структура смешанных инфекций у мужчин, так же как у женщин, при выявлении *U.urealyticum* характеризовалась частой ассоциацией с *M.hominis* (5 случаев, 55,5 %). В 4-х (44,4 %) случаях наблюдалась смешанная инфекция с *C.trachomatis* и в 3-х (33,3 %) с *G.vaginalis*.

Ассоциации из 2-х микроорганизмов у мужчин наблюдались в 6-ти случаях. В качестве ассоциантов в 2-х случаях выступали *M.hominis*, в 2-х – *C.trachomatis*, в 1-м случае - *Herpes simplex virus*. Смешанные инфекции из 3-х инфекционных агентов были выявлены в 3-х случаях. В качестве ассоциантов выступали *C.trachomatis* и *G.vaginalis* (по 2 случая) и *T.vaginalis* и *N.gonorrhoeae* (по 1-му случаю).

Далее нами было установлено, что *M.hominis* выявлялись у 16,7 % (9 из 54) обследованных мужчин, из которых у 55,5 % (5 из 9) наблюдалась ассоциированная инфекция. В качестве ассоциантов при этом чаще выступали *S.trachomatis* или *U.urealyticum* (по 3 случая).

Анализ клинических проявлений при урогенитальных микоплазмозах у мужчин выявил различные воспалительные поражения мочеполовых органов – уретриты, простатиты, эпидидимиты, в ряде случаев сопровождавшихся синдромом артралгии.

Наиболее частым синдромом поражения при выявлении *U.urealyticum* в высоких титрах был уретрит, который наблюдался у 11 (40,7 %) из 27 больных с диагностированной уреаплазменной инфекцией. Клинические симптомы при этом были слабо выражены и характеризовались неприятными ощущениями при мочеиспускании, учащенными позывами к мочеиспусканию и чувством покалывания или, реже, жжения в уретре. Выделения из уретры у большинства больных отсутствовали. В 2-х случаях у больных с выявленной ассоциированной уреаплазменно-хламидийной инфекцией наблюдался артралгический синдром. Клинически он проявлялся периодическими болями в крупных суставах. Признаков развития артрита – нарушений функций суставов, увеличения их объема или местной гиперемии в наблюдаемых нами случаях не выявлено.

При наличии *M.hominis* в высоких титрах симптомы уретрита наблюдались у 3-х (33,3 %) больных. Причем во всех случаях они проявлялись при смешанных инфекциях, обусловленных ассоциацией с *S.trachomatis* и/или *U.urealyticum*.

В следующей серии исследований мы изучили частоту обнаружения *U.urealyticum* и *M.hominis* у студентов. Выбор этой группы был обусловлен тем, что по данным ряда исследователей [Дятлов Р.В. и др., 2004; Соколов Н.В. и др., 2007; Шипицина Е.В., 2010], риск заражения ИППП особенно велик среди молодежи. В данном исследовании приняло участие 75 студентов в возрасте от 18 до 22 лет, выразивших согласие на проведение обследования. Процедура

включала обследование мазков из уретры и шейки матки у женщин, из уретры у мужчин. Исследования микоплазменной флоры у студентов проводились в сравнительном плане.

Для сравнения были использованы данные группы пациентов, обследованных нами на инфекции, передаваемые половым путём (табл. 3).

**Таблица 3 - Частота выявления *U.urealyticum* и *M.hominis* у студентов и пациентов, обследованных на инфекции, передаваемые половым путём**

Группы обследованных		Число лиц с выявленными урогенитальными микоплазмами	
		<i>U. urealyticum</i>	<i>M. hominis</i>
Мужчины	Обследованные на ИППП, n=54	14 (26 %)	9 (16,7 %)
	Студенты, n=18	4 (22,2 %)	2 (11,1 %)
	p-уровень значимости	0,7353	0,5444
Женщины	Обследованные на ИППП, n=73	39 (53,4 %)	15 (20,5 %)
	Студентки, n=57	18 (31,6 %)	9 (15,8 %)
	p - уровень значимости	0,0181	0,4705

Нами было установлено, что частота выявления как *U.urealyticum*, так и *M.hominis* у студентов была несколько ниже по сравнению с лицами, обследованными на ИППП, но не имела достоверных различий за исключением частоты встречаемости *U.urealyticum* у женщин, обследуемых на инфекции, передаваемые половым путем и у студенток ( $p = 0,0181$ ).

Следовательно, риск развития манифестных форм урогенитальных инфекций у студенческой молодежи представляется достаточно высоким.

Одним из этапов нашей работы явилось изучение частоты обнаружения *U.urealyticum* и *M.hominis* у лиц, обратившихся с жалобами и обследованных на инфекции, передаваемые половым путем за последние годы. Был проведён анализ частоты выявления основных возбудителей урогенитальных инфекций у пациентов, обследованных на ИППП, в период 2002-2008 гг. в ряде лечебно-профилактических учреждений г. Великий Новгород. В связи с тем, что по нашим данным наиболее часто выявляемыми как у женщин, так и у мужчин являются *U.urealyticum*, *M.hominis* и *S.trachomatis* в исследование были внесены только эти микроорганизмы.

Анализируя полученные данные, необходимо отметить высокую выявляемость у обследованных лиц *U.urealyticum* (от 26,0 до 37,0 %) и *M.hominis* (от 11,0 до 22,0 %) за последние годы.

В настоящее время данные различных исследователей о патогенности *U.urealyticum* и *U.parvum* достаточно противоречивы, поэтому представилось необходимым изучить частоту их выявления у обследованных нами контингентов лиц.

Всего было изучено 86 штаммов уреаплазм, выделенных у больных, обследованных на инфекции, передаваемые половым путем (табл.4).

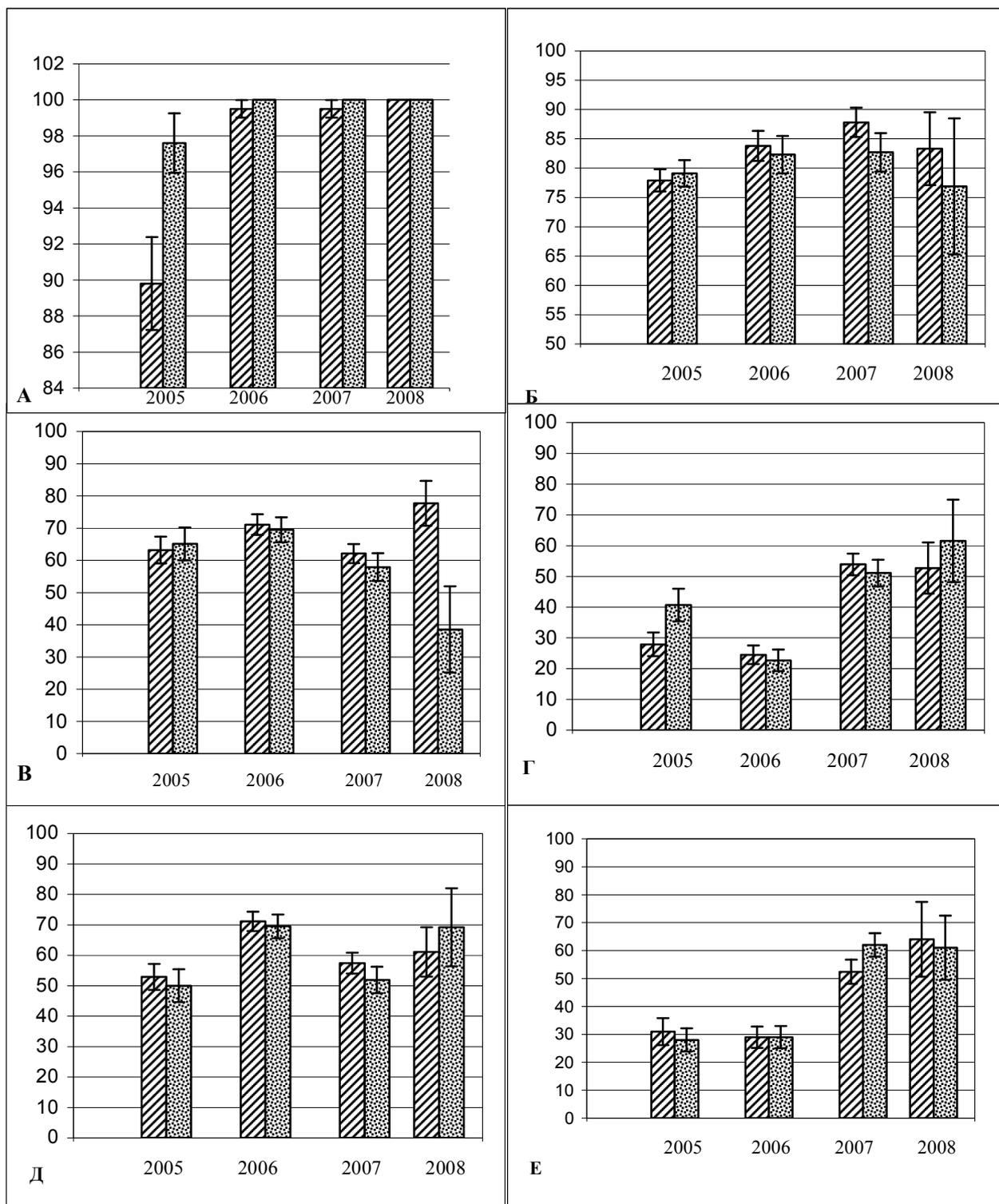
**Таблица – 4 Частота выявления *U.urealyticum* и *U.parvum* у больных**

Число выделенных штаммов	<i>U.urealyticum</i>	<i>U.parvum</i>
Мужчины n=30	17 (56,7 %)	13 (43,3 %)
Женщины n=56	12 (21,4 %)	44 (78,6 %)

Установлено, что частота выявления *U. urealyticum* и *U. parvum* имеет определенные половые различия: у мужчин чаще выявлялись *U. urealyticum* (56,7 %) , а у женщин - *U. parvum* (78,6 %), [ $\chi^2 = 9,334$ ;  $p=0,002$ ].

Смешанная уреаплазменная инфекция (*U.urealyticum* и *U.parvum*) наблюдалась одинаково часто как у мужчин, так и у женщин (10,0 и 11,0 % случаев, соответственно).

Далее нами были проведены исследования чувствительности штаммов *U.urealyticum* и *M.hominis* , выделенных от больных к антибиотикам. Полученные результаты исследования представлены на рисунке 1.



▨ - *U. urealyticum*, ▤ - *M. hominis*, I - 95 % ДИ

**Рисунок 1** - Чувствительность *M. hominis* и *U. urealyticum* к антибиотикам: А- доксицилину; Б- джозамицину; В- клиндамицину; Г- офлоксацину; Д – азитромицину; Е – ломефлоксацину.

**Примечание:** по оси абсцисс чувствительность *M. hominis* и *U. urealyticum* к антибиотикам по годам наблюдения, по оси ординат проценты (%), ДИ – границы 95 % доверительного интервала.

Наиболее высокая чувствительность исследованных штаммов как *M.hominis* так и *U.urealyticum* во все годы наблюдения была установлена к доксицилину и джозамицину. Несколько ниже была их чувствительность к клиндамицину. При этом в 2007 и 2008 гг. наблюдалась тенденция к повышению числа устойчивых к антибиотикам штаммов. Эффективность фторхинолонов (офлоксацин, ломефлоксацин) оказалась достаточно низкой, что согласуется с данными С.В. Яценко с соавт. (2000) и М.В. Шапрана (2005), установивших повышение числа устойчивых штаммов урогенитальных уреоплазм к офлоксацину и другим фторхинолонам в последние годы. Большое количество устойчивых штаммов наблюдалось, по нашим данным к азитромицину. Препаратом, показавшим почти 100 %-ную эффективность в отношении *U.urealyticum* и *M.hominis*, является доксицилин. Это доказывает обоснованность его применения при лечении урогенитальных микоплазмозов.

В процессе проведения исследований нами была разработана собственная модификация микробиологического метода выявления *U. urealyticum* и *M.hominis* с добавлением L-аргинина (до 1,0 % для *M.hominis*) или мочевины (до 0,5 % для *U.urealyticum*), а также индикатора фенолового красного (0,002 %-ного водного раствора), позволяющая определить титр микоплазм в исследуемом материале в динамике времени.

В результате изучения особенностей роста *U.urealyticum* и *M.hominis* нами было установлено, что при посеве исследуемого биоматериала на жидкие питательные среды динамика изменения цвета индикатора зависела от титра этих микоплазм в исходном материале. Так, при титре *U.urealyticum*  $\leq 10^3$  ЦИЕ/мл через 24 часа наблюдалось незначительное частичное изменение цвета индикатора в среде с мочевиной с желтого на красный, а через 48 часов отмечалось покраснение среды во всей пробирке. При титре  $\geq 10^4$  ЦИЕ/мл изменение цвета среды наблюдалось уже через 8-24 часа.

При наличии в исследуемом материале *M.hominis* в титре  $\leq 10^3$  ЦИЕ/мл покраснение среды, как правило, наблюдалось только на 3-5-е сутки. Измене-

ние цвета индикатора уже через 24-48 часов указывало на титр *M.hominis*  $\geq 10^4$  ЦИЕ/мл. Этот способ оценки результатов был использован нами в работе для установления полуколичественного содержания микроорганизмов в исследуемом материале.

Далее для повышения качества выявления *U.urealyticum*, выделенных у больных, нами была разработана собственная модификация микробиологического метода культивирования *U.urealyticum* в жидкой питательной среде с использованием буфера HEPES, способствующая повышению жизнеспособности микроорганизмов в культуральной среде. Были проведены исследования влияния добавления буфера HEPES в культуральную среду на время обнаружения *U.urealyticum* в клиническом материале и возможности применения таких сред при изучении антибиотикорезистентности микроорганизмов. Было установлено, что введение буфера HEPES (0,05M) в жидкую питательную среду задерживало изменение цвета индикатора фенолового красного (изменение окраски при pH 7,0) в накопительной культуре по сравнению с контролем. Данная методика позволила увеличить продолжительность выживания штаммов *U.urealyticum* в культуре в среднем на 4 часа и повысить их титры в 10 раз. Полученные результаты позволили проведение теста определения чувствительности к антибиотикам с жизнеспособной культурой и обеспечили возможность изучения антибиотикорезистентности свежевыделенных штаммов *U.urealyticum* у больных.

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что у больных с урогенитальной патологией наблюдается высокая частота обнаружения в биоматериале урогенитального тракта *M.hominis* и *U.urealyticum*. Среди обследованных на ИППП преобладают лица, имеющие ассоциированные инфекции, составляющие 64,3 % у мужчин и 82,0 % у женщин при *U.urealyticum* инфекции и 56,0и 100 % соответственно при *M.hominis* инфекции. Клинические особенности уреаплазменной инфекции характеризуются у женщин высокой частотой уретритов, кольпитов, у мужчин – уретритов. При *M.hominis* ин-

фекции у мужчин чаще выявляются уретриты, у женщин - бактериальные вагинозы. Наибольшая чувствительность штаммов микоплазм, выделенных у больных, отмечается к доксициклину и джозамицину, наименьшая – к офлоксацину, ломефлоксацину и азитромицину. Для этиологической диагностики урогенитальных микоплазмозов нами разработан микробиологический метод, позволяющий полуколичественно оценить содержание возбудителей в биоматериале, полученном у больных. Наряду с этим нами была усовершенствована методика культивирования штаммов *U.urealyticum*, полученных от больных, в жидкой питательной среде с использованием буферного раствора HEPES, что позволило повысить жизнеспособность микроорганизмов и увеличить титры микробных тел. Усовершенствованная методика культивирования необходима для изучения чувствительности и резистентности выделенных штаммов *U.urealyticum* к антибактериальным препаратам.

#### ВЫВОДЫ

1 Среди лиц, обследованных на инфекции, передаваемые половым путем, выявлена высокая частота обнаружения микоплазм в биоматериале урогенитального тракта: *U.urealyticum* - 25,9 % у мужчин и 53,4 % у женщин ( $p=0,0044$ ); *M.hominis* – 16,7 % и 20,5% ( $p=0,7469$ ) соответственно. В группе больных с урогенитальной патологией преобладают лица, имеющие ассоциированные *U.urealyticum* инфекции (64,3 % у мужчин, 82,0 % у женщин; [ $p=0,0032$ ]) и смешанные *M.hominis* инфекции (56,0 % у мужчин, 100 % у женщин; [ $p=0,0227$ ]).

2 Клинические особенности уреоплазменной инфекции у мужчин характеризуются высокой частотой уретритов (40,7 %), у женщин – уретритов (35,8 %) и кольпитов (25,6 %). При *M.hominis* инфекции у мужчин чаще выявляются уретриты (33,3%), у женщин - бактериальные вагинозы (53,0%).

3 Штаммы *U.urealyticum* и *M.hominis*, выделенные у больных, наиболее чувствительны к доксициклину (89,8-100 %) и джозамицину (76,9-87,8 %), наи-

менее – к офлоксацину (22,7-61,5 %), ломефлоксацину (28,0-64,0 %) и азитромицину (50,0-71,1 %).

4 Разработанный метод определения титров *U. urealyticum* и *M. hominis* в жидкой питательной среде с визуальной регистрацией изменения цвета индикатора фенолового красного в динамике времени позволяет проводить полуколичественную оценку содержания микоплазм в биоматериале, полученном от больных, что необходимо для проведения скрининговых исследований у населения, адекватной диагностики и терапии урогенитальных инфекций.

5 Усовершенствованная методика культивирования штаммов *U. urealyticum* в жидкой питательной среде с использованием буферного раствора HEPES, позволяет повысить жизнеспособность микроорганизмов, полученных от больных и увеличить титры микробных тел, что необходимо при изучении их антибиотикочувствительности и резистентности.

### **Практические рекомендации**

1 При проведении скрининговых исследований частоты обнаружения микоплазменной инфекции у населения рекомендуется использовать способ микробиологической диагностики, позволяющий полуколичественно оценить концентрацию возбудителя в исследуемом материале по изменению цвета индикатора фенолового красного (0,002 %-ный водный раствор) в динамике.

2 В исследованиях, требующих накопления больших масс *U. urealyticum*, целесообразно использовать метод микробиологической диагностики с добавлением в культуральную среду 0,05М буфера HEPES (N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonate).

3 Для проведения целенаправленного этиотропного лечения больных рекомендуется проводить мониторинг чувствительности к антибиотикам клинических штаммов *M. hominis* и *U. urealyticum*. Выделенные у больных штаммы *M. hominis* и *U. urealyticum* наиболее чувствительны к доксициклину, джозамицину, наименее – к офлоксацину, ломефлоксацину и азитромицину.

### Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Егоров А.А., Стуколкина Н.Е., Федюра И.Ф., Волков А.В., Чеботкевич В.Н. Клинико-этиологические особенности моно- и смешанных микоплазменных инфекций урогенитального тракта // Актуальные вопросы инфекционной патологии. Материалы научно – практической конференции, посвященной 10-летию кафедры МИиИБ. 23-24 сентября 2004 г. Великий Новгород, 2004.- С. 173 - 179.
2. Стуколкина Н.Е. Современные аспекты биологии микоплазм. // **Вестник НовГУ. - 2005. - № 32. - С. 58 - 63.**
3. Архипова Е.И., Стрибук В.В., Степанова И.В., Ковалевская Н.Н., Стуколкина Н.Е. Микоплазменные инфекции и их распространенность // Актуальные проблемы современной медицины. / Материалы XII научной конференции ИМО НовГУ. Вып.7. Великий Новгород. – 2005. - С. 198 - 201.
4. Васильева Т.М., Стуколкина Н.Е., Архипова Е.И., Чеботкевич В.Н. Заболевания мочеполовой системы, вызванные микоплазмами. // Актуальные проблемы современной медицины. / Материалы XII научной конференции ИМО НовГУ. Вып.7. Великий Новгород. – 2005. – С. 209 - 210.
5. Стуколкина Н.Е., Архипова Е.И. Некоторые биологические свойства патогенных видов микоплазм // Актуальные проблемы современной медицины. Материалы XII научной конференции ИМО НовГУ. Вып.7. Великий Новгород. - 2005. – С. 225 - 226.
6. Архипова Е.И., Стрибук В.В., Степанова И.В., Ковалевская Н.Н., Исаков В.А., Стуколкина Н.Е. Урогенитальные инфекции. Учебно-метод. пособие. В.Новгород: НовГУ им. Ярослава Мудрого, 2005. – 60 с.
7. Архипова Е.И., Стрибук В.В., Стуколкина Н.Е. Бактериальный вагиноз. Клиника. Диагностика. Лечение. Учебное пособие. В.Новгород: НовГУ им. Ярослава Мудрого, 2005. – 52 с.
8. Архипова Е.И., Стрибук В.В., Могилевец Т.Л., Ковалевская Н.Н., Степанова И.В., Исаков В.А., Москвин И.И., Стуколкина Н.Е. Урогенитальные инфекции. Клиника. Диагностика. Лечение. Учебно-метод. пособие. В.Новгород: НовГУ им. Ярослава Мудрого, 2006. – 55 с.
9. Архипова Е.И., Стрибук В.В., Стуколкина Н.Е. Современные представления о распространении и диагностике бактериальных вагинозов // Клиническая медицина. Том 11. Межвузовский сборник стран СНГ / Под ред. проф. Андреева Г.Н., Вебера В.Р., Брыжахина Г.Г., Корабельникова А.И., Ибадильдина А.С. Великий Новгород – Алматы. - 2006. – С. 49 - 51.
10. Егоров А.А., Стуколкина Н.Е., Чеботкевич В.Н. Клинико-этиологические особенности микоплазменных инфекций урогенитального тракта // **Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. - 2008. - № 4. – С. 162 - 165.**
11. Стуколкина Н.Е. Уровень распространённости урогенитальных микоплазмозов среди студенческой молодёжи. // **Вестник НовГУ. - 2010. - № 59. - С. 102 - 103.**