

УДК

## Значение *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma genitalium* как возбудителей воспалительных заболеваний урогенитального тракта

А.Э. Карамова<sup>1</sup>, А.В. Поляков<sup>2</sup>, И.В. Хамаганова<sup>1</sup><sup>1</sup>Российский государственный медицинский университет, Москва, Россия<sup>2</sup>Медико-генетический научный центр (МГНЦ) РАМН, Москва, Россия

Изучена роль патогенных урогенитальных микоплазм (*Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma genitalium*) в этиологии воспалительных заболеваний урогенитального тракта. В группе больных (n=92) с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта при исключении гонококковой, хламидийной, вирусной инфекции и бактериального вагиноза и в группе клинически здоровых лиц (n=42), служившей контролем, сопоставлена частота выявления *M. hominis*, *U. urealyticum* и *M. genitalium*, для идентификации которых применяли метод мультиплексной полимеразной цепной реакции.

У больных чаще всего обнаруживали *U. urealyticum* (p<0,001 по сравнению с контрольной группой). У мужчин с негонококковыми уретритами (n=13) чаще всего выявляли *U. urealyticum*, реже – *M. genitalium*. У женщин с цервицитами (n=75) наиболее часто обнаруживали *U. urealyticum*, этиологическое значение *M. hominis* требует дальнейшего изучения.

**Ключевые слова:** *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma genitalium*, цервицит, уретрит.

## The Role of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma genitalium* in Etiology of Urogenital Infections

Karamova A.E.<sup>1</sup>, Polyakov A.V.<sup>2</sup>, Hamaganova I.V.<sup>1</sup><sup>1</sup> Russian State Medical University, Moscow, Russia<sup>2</sup> Medical Genetic Scientific Center of Russian Academy of Medical Science, Moscow, Russia

The role of *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma genitalium* in the etiology of urogenital infections has been studied. In the study group (n=92) patients with gonococcal and chlamydial infections as well as with bacterial vaginosis and HSV were excluded. All patients were HIV negative. The above infections were also exclusion criteria for the control group (n=42). Multiplex PCR was used for the detection

of *M. hominis*, *U. urealyticum* and *M. genitalium*. In the study group *U. urealyticum* was the most frequently detected compared to the control group (p<0.001). *M. hominis*, and *M. genitalium* were less frequently found in study group with no statistically significant difference compare to control group.

**Key words:** *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma genitalium*, cervicitis, urethritis.

Контактный адрес:

Арфеня Эдуардовна Карамова  
115142, Москва, Коломенская наб., д. 10, кв. 273.  
Тел.: (095) 115-31-27  
Эл. почта: arfenya@online.ru

## Введение

В последние годы наблюдается рост заболеваемости инфекциями, передаваемыми половым путем (ИППП) [1]. При этом в их этиологической структуре увеличилась доля урогенитальных микоплазм [2]. Так, в Великобритании число случаев негонококковых урогенитальных инфекций, прежде всего микоплазменных, выросло за последние 7 лет почти в 2 раза [3].

*Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma genitalium* имеют определенное значение в развитии острого и хронического негонококкового уретрита у мужчин [4, 5]. Обсуждается также значение *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* как компонента микробной ассоциации при бактериальном вагинозе [6, 7]. Именно с этими возбудителями, по мнению ряда авторов, связаны нарушения репродуктивной функции (спонтанные аборты, преждевременные роды), наблюдаемые у женщин с бактериальным вагинозом [2, 8].

Тем не менее, роль отдельных видов урогенитальных микоплазм в развитии тех или иных клинических форм окончательно не ясна. Это касается, в частности, вопросов этиологической значимости *M. hominis* при цервицитах у женщин и негонококковых уретритах у мужчин, *M. genitalium* – при заболеваниях мочеполового тракта у женщин.

Цель нашего исследования – изучение роли патогенных урогенитальных микоплазм (*Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma genitalium*) как возбудителей воспалительных заболеваний урогенитального тракта с применением метода полимеразной цепной реакции (ПЦР).

## Материал и методы исследования

**Пациенты.** На этапе скрининга в амбулаторных условиях обследованы 197 пациентов в возрасте старше 18 лет с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта (мужчин – с уретритами и простатитами, женщин – с цервицитами, вагинитами и воспалительными заболеваниями органов малого таза). Скрининговое обследование включало в себя: сбор жалоб и анамнеза; общий осмотр и осмотр половых органов; взятие отделяемого урогенитального тракта для бактериоскопического исследования; взятие крови для проведения реакции Вассермана и определения антител к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ).

По результатам скринингового обследования исключили больных с ВИЧ-инфекцией, сифилисом, гонореей, трихомониазом, бактериальным вагинозом, клиническими проявлениями генитально-

го герпеса, а также женщин в период беременности или лактации.

На следующем этапе пациентов приглашали на повторный амбулаторный осмотр, во время которого уточняли половой анамнез, проводили повторный осмотр и взятие соскобов из уретры и/или цервикального канала для идентификации микроорганизмов с помощью полимеразной цепной реакции. По результатам ПЦР исключили пациентов с хламидийной и вирусной инфекцией. Таким образом, исследуемую группу составили 92 пациента. В контрольную группу (n=42) были включены клинически здоровые лица, пришедшие на амбулаторный прием с целью профилактического обследования. Лицам контрольной группы проводилось клиническое и лабораторное обследование в том же объеме, что и в основной группе.

В соответствии с дизайном исследования «случай-контроль» была сопоставлена частота выявления урогенитальных возбудителей у больных с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта и у клинически здоровых лиц.

У всех пациентов было получено информированное согласие. Исследование соответствовало требованиям Хельсинкской декларации.

**Методы.** Бактериоскопию мазка отделяемого проводили по стандартной методике.

Для ПЦР соскобы из уретры и/или цервикального канала выполняли во время осмотра; с этой целью использовали одноразовые стерильные урогенитальные зонды (DNC-med). Полученный материал помещали в пластиковую пробирку с изотоническим раствором хлорида натрия и в течение 1 рабочего дня доставляли в лабораторию. Выделение ДНК из биологического материала проводили, используя набор реагентов и протокол для выделения ДНК из различного биологического материала (DIAtom™ DNA Prep 200, Россия). ПЦР проводили на программируемом термоциклере МС2 («ДНК-технология», Россия) с использованием ДНК-полимеразы *Termus aquaticus* (Институт прикладной энзимологии «Ферментас», Литва). Применяли мультиплексную модификацию ПЦР, позволяющую идентифицировать одновременно по 3, 4 или 5 возбудителей в одной реакции (3 вируса: герпеса, Эпштейна – Барр, цитомегаловирус; 4 бактерии: *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans*, *Streptococcus agalactiae*; 5 бактерий – *Chlamydia trachomatis*, *M. hominis*, *U. urealyticum*, *M. genitalium*, *Gardnerella vaginalis*).

ПЦР проводили по следующей схеме: 0,1–1 мкг геномной ДНК, 0,25 мкмоль каждого олигопрайма и 250 мкмоль каждого дезоксинуклеозидтрифосфата помещали в 25 мкл однократного буфера для

Таблица 1. Праймеры, использованные для амплификации фрагментов ДНК возбудителей

Возбудитель	Последовательности праймеров
<i>U. urealyticum</i> (Uu)	F ACTGCTATTCGTTTTGAACCAGGAA R TTTCTTGAAATTTTAAACATAATGTTCCCG
<i>M. genitalium</i> (Mg)	F TTGATGAAACCTTAACCCCTTGGAG R CCGTTGAGGGGTTTTCCATTTTTGG
<i>M. hominis</i> (Mh)	F TCTAGCAGAAGCTAGAGACTACGG R TACGTCCATTTCTACTAGTCCAACG
<i>C. trachomatis</i> (Ct)	F GGGAGAAATGGGAGAGTATTTGTTTG R CACACACTTTGTCTCGATGAAAGAG
<i>G. vaginalis</i> (Gv)	F ACTTTTATCAATTTCAACCCGGCTCG R TCAACCCCGTCACAGGCTGAAG
Вирусы герпеса типа 1 и 2	F GGTCAAGCTTTCGGTACGAAGACG R AGGTCGTGCAGCTGGTTGCGGG
Цитомегаловирус (CMV)	F TGAAGCGCCGCATTGAGGAGATG R ATAGGGTGGGTGCTCTTGCCTCG

ПЦР следующего состава: 67 мМ трис-НСl, рН 8,8; 16,6 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0,01% твин-20, добавляли 1,5 ед. термофильной ДНК-полимеразы, 20–30 мкл минерального масла. Концентрация MgCl<sub>2</sub> в реакционной смеси для вирусов была 4 мМ, для бактерий – 5 мМ.

Для идентификации бактерий проводили 30 циклов ПЦР в следующем режиме: первоначальная денатурация при 95 °С – 5 мин, 30 циклов при 94 °С – 45 с, при 62 °С – 45 с, при 72 °С – 1 мин; финальная достройка при 72 °С – 7 мин.

Для идентификации вирусов проводили 32 цикла ПЦР в следующем режиме: первоначальная денатурация при 95 °С – 5 мин, 32 цикла при 94 °С – 45 с, при 65 °С – 45 с, при 72 °С – 30 с; финальная достройка при 72 °С – 7 мин.

Праймеры были выбраны в лаборатории ДНК-

диагностики МГНЦ РАМН и синтезированы в НПФ «Литех». Последовательности праймеров, использованные для идентификации возбудителей ИППП, представлены в табл. 1.

Продукты ПЦР разделяли с помощью электрофореза в 8% неденатурирующем полиакриламидном геле (ПААГ) (соотношение АА:бисАА = 29:1,3), длиной 20 см. Гель готовили на однократном буфере ТВЕ (0,089 М трис-борат, 0,089 М борная кислота, 2,0 мМ ЭДТА). Проводили префорез в течение 20 мин. В качестве маркера молекулярной массы использовали ДНК фага лямбда, расщепленную эндонуклеазой рестрикции PstI. После разделения ДНК-фрагментов гель окрашивали в растворе этилбромидом (0,1 мкг/мл в ТВЕ) в течение 10 мин., промывали водой и фотографировали в проходящем УФ-свете при длине волны 312 нм. На

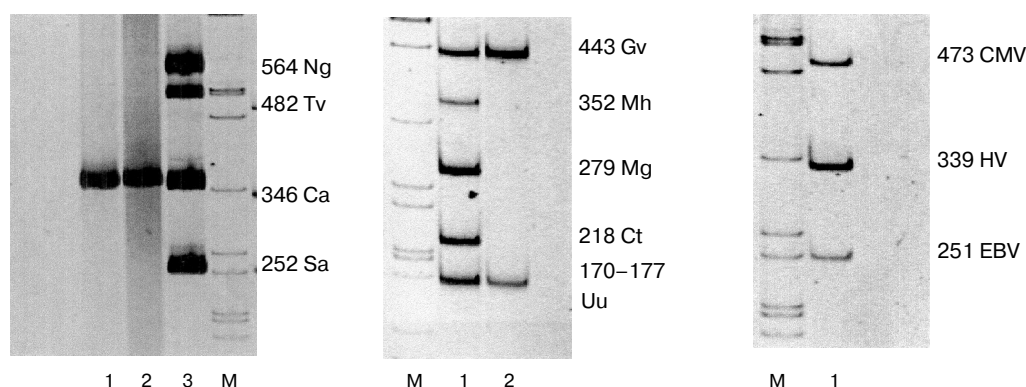


Рис. 1. Результат мультиплексной ПЦР (разделенные фрагменты ДНК в полиакриламидном геле, окрашенном этилбромидом)

М – маркер молекулярной массы, 1-3 – номера пациентов; Ng – *Neisseria gonorrhoeae*; Tv – *Trichomonas vaginalis*; Ca – *Candida albicans*; Sa – *Streptococcus agalactiae*; HV – вирус герпеса; EBV – вирус Эпштейна – Барра.

Таблица 2. Исходная характеристика больных

Показатель	Основная группа (n=92)	Контрольная группа (n=42)	p*
Возраст, лет (M±SD)	27±4	28±5	0,233
Число мужчин, n (%)	13 (14)	27 (64)	<0,001
Состоящие в браке, n (%)	62 (67)	21 (50)	0,051
Число сексуальных партнеров за последние 3 мес, n (%):			
0/1	79 (86)	37 (88)	0,845
2	10 (12)	3 (7)	0,648
3 и более	3 (4)	2 (5)	0,901
ИППП в анамнезе, n (%)	51 (55)	16 (38)	0,039

Примечание. \* непарный *t*-тест или критерий  $\chi^2$ .

рис. 1 представлены образцы результатов мультиплексной ПЦР.

**Статистические методы.** Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc., США) Для сопоставления количественных признаков использовали критерий Стьюдента (непарный *t*-тест). Для сравнения качественных признаков применяли тест  $\chi^2$  и точный критерий Фишера. Уровень статистической значимости различий был принят равным 0,05.

### Результаты исследования

Характеристика пациентов в основной и контрольной группах представлена в табл. 2. Группы были сопоставимы по возрасту и сексуальному анамнезу, в то же время в основной группе преобладали женщины и чаще отмечались ИППП в анамнезе.

Частота обнаружения *M. hominis*, *U. urealyticum* и *M. genitalium* у больных с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта (основная группа) и у клинически здоровых лиц (контрольная группа) представлена на рис. 2.

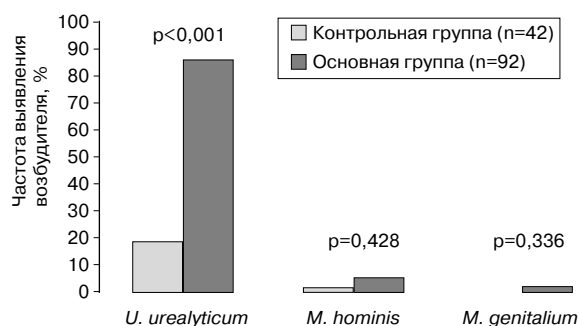


Рис 2. Частота выявления урогенитальных микоплазм у больных с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта и у клинически здоровых лиц. Межгрупповые различия - критерий  $\chi^2$  или точный критерий Фишера.

Как показано на рис. 2, частота выявления *U. urealyticum* статистически значимо выше у пациентов с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта, чем у лиц без клинических симптомов. Частота обнаружения *M. hominis* и *M. genitalium* в основной и контрольной группах статистически значимо не отличалась.

С целью уточнения значения урогенитальных микоплазм как возбудителей определенных нозологических форм были проанализированы данные обследования пациентов в основной и контрольной группах отдельно у мужчин и женщин. Единичные случаи простатита (n=1) и воспалительных заболеваний органов малого таза (n=3) в анализ не включались.

Результаты анализа частоты обнаружения урогенитальных микоплазм у мужчин с *негонококковыми уретритами* (НГУ) и у лиц контрольной группы представлены в табл. 3. Несмотря на малую выборку, у пациентов с уретритами *U. urealyticum* и *M. genitalium* выявлялись статистически значимо чаще, чем у пациентов, не имеющих клинических проявлений.

В группе женщин с цервицитами наибольшее значение также имеет *U. urealyticum*, а частота выявления *M. hominis* в этой группе статистически значимо не отличалась от контрольной группы женщин без клинических проявлений (табл. 4). *M. genitalium* не обнаружена как в основной, так и в контрольной группе.

### Обсуждение результатов исследования

По данным проведенного нами исследования, частота выявления *U. urealyticum* в группе мужчин и женщин с клиническими проявлениями (n=92) статистически значимо (p < 0,001) отличалась от частоты выявления у лиц без клинической симптоматики (n=42). Полученные нами данные свидетельствуют о четкой связи *U. urealyticum* с клинически-

Таблица 3. Частота обнаружения урогенитальных микоплазм у мужчин с уретритами и в контрольной группе

Возбудитель	Мужчины с НГУ (n=13)	Контрольная группа (n=27)	p*
<i>M. hominis</i>	1	0	0,325
<i>U. urealyticum</i>	9	3	<0,001
<i>M. genitalium</i>	2	0	0,037

Примечание. \* Точный критерий Фишера.

Таблица 4. Частота обнаружения урогенитальных микоплазм у женщин с цервицитами и в контрольной группе

Возбудитель	Пациентки с цервицитами (n=75)	Контрольная группа (n=15)	p*
<i>M. hominis</i>	4	1	0,576
<i>U. urealyticum</i>	68	5	<0,001

Примечание. \* Точный критерий Фишера.

ми проявлениями воспалительных заболеваний урогенитального тракта и согласуются с результатами других авторов [9].

Частота обнаружения *M. hominis* статистически значимо не различалась в основной и контрольной группах. Полученные результаты свидетельствуют в пользу мнения о меньшем этиологическом значении *M. hominis* [10].

Частота выявления *M. genitalium* в основной и контрольной группах также существенно не различалась. Это может быть связано как с относительно малой выборкой, так и с тем, что на первом этапе мужчины и женщины были объединены в одну группу для увеличения статистической мощности. При дальнейшем анализе группы мужчин и женщин оценивались отдельно.

По нашим данным, *U. urealyticum* у мужчин с НГУ выявлялась чаще, чем в контрольной группе ( $p < 0,001$ ). Полученные результаты согласуются с данными ряда других исследователей, продемонстрировавших значение этого микроорганизма как возможного возбудителя НГУ [2, 10].

Моноинфекция *M. hominis* обнаружена только у одного пациента с НГУ и не обнаружена у пациентов без клинической симптоматики, различия статистически не значимы. Полученные результаты не противоречат имеющимся данным литературы [11]. В то же время, по нашему мнению, данный вопрос требует дальнейшего изучения, так как обследованная нами выборка мала, а количество работ, проведенных другими авторами, недостаточно.

*M. genitalium* обнаружена у 2 из 13 пациентов с НГУ и ни в одном случае в контрольной группе. Различия были статистически значимы, что свидетельствует в пользу возможной роли этого возбудителя в этиологии НГУ и подтверждается несколькими современными работами зарубежных авторов [2, 11].

Значение *M. hominis* и *U. urealyticum* в развитии цервицитов практически не изучено. В одном исследовании, проведенном в Финляндии [12], не обнаружено связи между обнаружением *M. hominis* культуральным и серологическими методами с клиникой цервицитов у 150 женщин. Те же исследователи [13] продемонстрировали возможность ассоциации цервицитов с высеиванием *U. urealyticum*. Более поздние работы с применением ПЦР показали большую частоту выявления *U. urealyticum*, чем *M. hominis*, у больных с цервицитами [14, 15]. К сожалению, указанные работы являются эпидемиологическими, а данные носят описательный характер.

По результатам проведенного нами исследования, у пациентов с цервицитами с наибольшей частотой выявлялась *U. urealyticum* (в 68 случаях из 75). В контрольной группе *U. urealyticum* обнаружена в 5 случаях из 16. Различия между группами статистически значимы ( $p < 0,001$ ). Данные о четкой связи инфекции *U. urealyticum* с наличием цервицита получены нами впервые.

В то же время *M. hominis* практически с одинаковой частотой выявлялась у больных с цервицитами и у пациенток без клинических симптомов. Полученные результаты в сопоставлении с данными литературы позволяют предполагать отсутствие взаимосвязи между выявлением *M. hominis* и клиническими проявлениями цервицита.

Несмотря на наличие в литературе работ, продемонстрировавших значение *M. genitalium* в развитии цервицитов и аднекситов [16], у обследованных нами женщин этот возбудитель не обнаружен. Возможно, отрицательный результат связан с преобладанием в исследованной нами группе *U. urealyticum*, имеющей самостоятельное этиологическое значение.

Таким образом, результаты нашего исследования позволяют сделать вывод, что в развитии уретритов у мужчин наибольшее значение может иметь *U. urealyticum*, в меньшей степени – *M. genitalium*. У женщин с цервицитами определенное этиологическое значение имеет *U. urealyticum*, роль *M. genitalium* требует дальнейшего изучения.

## Литература

1. Catchpole M. Sexually transmitted infections: control strategies. *BMJ* 2001; 322:1135-6.
2. Uuskula A., Kohl P.K. Genital mycoplasmas, including *Mycoplasma genitalium*, as sexually transmitted agents. *Int J STD AIDS* 2002; 13:79-85.
3. Low N. Phase specific strategies for the prevention, control, and elimination of sexually transmitted infections: case study in Lambeth, Southwark, and Lewisham, London, UK. *Sex Transm Infect* 2002; 78(Suppl 1):i133-i138.
4. Gambini D., Decleva I., Lupica L., Ghislanzoni M., Cusini M., Alessi E. *Mycoplasma genitalium* in males with nongonococcal urethritis. *Sex Transm Dis* 2000; 27:226-9.
5. Taylor-Robinson D., Horner P.J. The role of *Mycoplasma genitalium* in non-gonococcal urethritis. *Sex Transm Inf* 2001; 77:229-31.
6. Keane F.E.A., Thomas B.J., Renton A., Taylor-Robinson D. An association between non-gonococcal urethritis and bacterial vaginosis and the implications for patients and their sexual partners. *Genitourin Med* 1997; 73:373-7.
7. Morris M.C., Rogers P.A., Kinghorn G.R. Is bacterial vaginosis a sexually transmitted infection? *Sex Transm Inf* 2001; 77:63-8.
8. Goldenberg R.L., Hauth J.C., Andrews W.W. Intra-uterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med* 2000; 342:1500-7.
9. Horner P., Thomas B., Gilroy C.B., Egger M., Taylor-Robinson D. The role of *Mycoplasma genitalium* and *Ureaplasma urealyticum* in acute and chronic non-gonococcal urethritis. *Clin Infect Dis* 2001; 32:995-1003.
10. Taylor-Robinson D., Furr P.M. Update on genital mycoplasmas. *Lancet* 1998; 351 (Suppl III):12-15.
11. Yoshida T., Maeda S.I., Deguchi T., Miyazawa T., Ishiko H. Rapid detection of *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum*, and *Ureaplasma urealyticum* organisms in genitourinary samples by PCR-microtiter plate hybridization assay. *J Clin Microbiol* 2003; 41:1850-5.
12. Paavonen J., Miettinen A., Stevens C.E., Kiviat N., Kuo C.C., Stamm W.E., et al. *Mycoplasma hominis* in cervicitis and endometritis. *Sex Transm Dis* 1983; 10 (Suppl 4):276-80.
13. Paavonen J., Critchlow C.W., DeRouen T., Stevens C.E., Kiviat N., Brunham R.C., et al. Etiology of cervical inflammation. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 154:556-64.
14. Кисина В.И., Забиров К.И., Мешков В.В., Загребина О.С. Особенности диагностики и терапии воспалительных урогенитальных заболеваний у женщин, ассоциированных с *Ureaplasma urealyticum*. *Антибиот химиотер* 2000; 45(6):29-32.
15. Bhandari H., Malhotra S., Sharma M., Kumar B. Microbial flora of women with chronic cervicitis. *J Indian Med Assoc* 2000; 98:384-6.
16. Manhart L.E., Critchlow C.W., Holmes K.K., Dutton S.M., Eschenbach D.A., Stevens C.E., et al. Mucopurulent cervicitis and *Mycoplasma genitalium*. *J Infect Dis* 2003; 187:650-7.