

Рищук С.В. Диагностические подходы при урогенитальной микоплазменной инфекции / С.В. Рищук, В.Е. Мирский // TERRA MEDICA. – 2013. - №1. – С.4-12

Рищук С.В., Мирский В.Е.
Rishchuk S.V., Mirskij V.E.

Северо-Западный государственный медицинский университет
им. И.И.Мечникова, Санкт-Петербург, Россия.
North-Western State Medical University I.I.Mechnikov, St.-Petersburg, Russia.

**ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ ПРИ УРОГЕНИТАЛЬНОЙ
МИКОПЛАЗМЕННОЙ ИНФЕКЦИИ**
DIAGNOSTIC APPROACH IN UROGENITAL MYCOPLASMA INFECTION

Сведения об авторах:

Рищук Сергей Владимирович - доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, г. Санкт-Петербург, Россия.

Мирский Владимир Ефимович - доктор медицинских наук; профессор кафедры акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, г. Санкт-Петербург, Россия.

Проведен анализ методов лабораторной диагностики микоплазменной инфекции, вызванной *M. hominis*, *M. genitalium* и *Ureaplasma spp.* Получены различные сочетания подтверждения диагноза у 264 половых пар. В связи с менее частым, по сравнению с женщинами, подтверждением инфекции у мужчин, сделана попытка оптимизации их диагностических подходов. Показано, что сложность установления диагноза микоплазменной инфекции в пределах половой пары зависит от качества диагностических тест-систем и особенностей инфекционного процесса. При этом весь объем лечебных мероприятий напрямую зависит от клинической проблемы и характера инфекционного процесса.

Ключевые слова: микоплазменная инфекция, оптимизация диагностики, половые пары.

The analysis of laboratory diagnosis techniques mycoplasmic infection caused by *M. hominis*, *M. genitalium* and *Ureaplasma spp.* obtained from different combinations of diagnostic confirmation from 264 sexual pairs. The less frequent compared to women, the infection in men, an attempt was made to optimize their diagnostic approaches. It is shown that it

is difficult to establish the diagnosis of mycoplasmal infection within sexual couples depends on the quality of diagnostic tests-systems and the characteristics of the infectious process. The entire volume of treatment depends on the clinical problem and the nature of the infectious process.

Key words: Mycoplasma infection, optimization of diagnosis, sex couples.

Для выявления урогенитальных микоплазмозов разработаны и апробированы различные лабораторные методы диагностики. К методам специфической диагностики относятся микроскопический, культуральный, а также генодиагностика и серодиагностика.

Из-за малых размеров и низкой восприимчивости к обычным красителям традиционные методы бактериоскопического исследования неприменимы при диагностике микоплазмозов. Попытка использовать для этой цели люминесцентную микроскопию с окраской препаратов флюорохромами (например, акридиновым оранжевым) не получила широкого признания из-за низкой её чувствительности. Однако некоторые авторы считают этот подход весьма эффективным при обнаружении *Ureaplasma spp.*, адсорбированных на сперматозоидах [1].

В нашей стране большие надежды в диагностике микоплазменной инфекции связывали с прямой иммунофлюоресценцией (ПИФ). Препараты для этой цели выпускал целый ряд отечественных компаний: «МикоСлайд», «УреаСлайд» (АО «Лабдиагностика, Москва), «МикоГомоФлюоСкрин», «УреагениФлюоСкрин» (СП «Ниармедик», Москва). Эти диагностические наборы содержат меченые флюоресцеина изотиоцианатом (ФИТЦ) поликлональные кроличьи антитела к видоспецифическим антигенам *M. hominis* и *Ureaplasma spp.*

В то же время ПИФ используется значительно реже, чем при диагностике других урогенитальных инфекций, например хламидиоза. Это связано с особенностями антигенного строения представителей семейства *Mycoplasmataceae* [2]. Известно, что наибольшей иммуногенностью из компонентов бактериальной стенки обладает клеточная стенка, которая как раз и отсутствует у микоплазм. Кроме того, характерной особенностью микоплазм является высокий уровень их внутривидовой антигенной гетерогенности и лабильности. Для них характерны общие антигены с мембранами клеток-мишеней. Все это затрудняет производство клон при использовании техники моноклональных антител и обуславливает высокую вероятность неспецифических реакций. Возможно, этим обстоятельством объясняется тот факт, что ведущие зарубежные микробиологические и иммунологические компании не производят препараты для диа-

гностики микоплазмозов в РИФ. Метод получил в целом отрицательную оценку и в работах некоторых отечественных авторов [3].

Вследствие регрессивного характера эволюции, имеющие медицинское значение микоплазмы утратили целый ряд ферментов и ферментативных систем, подавляющее большинство которых удается культивировать на питательных средах. Это делает возможным использование культурального метода для диагностики микоплазменной инфекции. Для этого исследования берут пробы со слизистой уретры [4]. Пробы мочи, для выделения микоплазм, предпочтительно получать из первой срединной утренней порции. При подозрении на микоплазменный или уреоплазменный простатит, следует взять на посев секрет предстательной железы.

Микоплазмы высокочувствительны к воздействию факторов внешней среды [1; 5], поэтому доставка материала должна осуществляться в кратчайший срок. Специальные среды для транспортировки этой группы микроорганизмов пока не разработаны. Поэтому обычно доставку проб осуществляют в жидкой питательной среде. Для этих целей возможно использование среды 199, обогащенной лошадиной сывороткой и дрожжевым экстрактом. В зависимости от конкретной схемы исследования, в дальнейшем проводят высеивание на плотную или на жидкую среду из транспортного бульона или его разведений. В некоторых современных диагностических системах, например «Mycoplasma 1ST», «Mycoplasma LYO» («BioMerieux», Франция), для транспортировки используют основу уреаргининового бульона (R1). При этом сроки транспортировки могут составлять 4-5 ч при комнатной температуре или до 2 сут. при условии хранения пробы при 4⁰С.

Для реализации культурального метода диагностики могут быть использованы жидкие и/или плотные питательные среды. В настоящее время ассортимент питательных сред для этих целей достаточно широк, причем многие из них выпускаются промышленными способами. Как плотные, так и жидкие среды для первичного выделения *Mycoplasmataceae* часто наделяют дифференцирующими свойствами. В качестве дифференцирующих факторов используют моносахариды - глюкозу, мочевины и аргинин.

Для выявления *M. hominis*, как правило, используют способность этих микроорганизмов к ферментации аргинина. Способность к расщеплению мочевины является ключевым признаком для дифференциации уреоплазм на жидких питательных средах. Образующийся аммиак сдвигает рН среды в щелочную сторону, что легко выявляется с помощью индикатора. В плотные питательные среды в качестве дифференцирующего субстрата также включают $MnSO_4$. Рост на этих средах *Ureaplasma spp.* сопровождается

ся образованием MnO_2 , окрашивающим колонии этих микроорганизмов в коричневый цвет, в то время как колонии микоплазм остаются бесцветными. Для подавления роста сопутствующей микрофлоры к питательным средам добавляют антибиотики. Для этого используют группу пенициллинов и цефалоспоринов, к которым микоплазмы и уреоплазмы резистентны.

Использование плотных питательных сред в условиях практических лабораторий затрудняет ряд обстоятельств, важнейшим из которых является необходимость использования микроаэрофильных условий инкубации. Это связано с тем, что при культивировании микоплазм из-за укороченности электрон-транспортных цепей, оканчивающихся флавиновыми ферментами, в питательных средах накапливается большое количество токсичных для клеток перекисных соединений. Для создания микроаэрофильных условий приходится использовать специальное оборудование и газогенерирующие пакеты, что существенно удорожает исследование. Кроме того, колонии микоплазм, а особенно уреоплазм, на плотных питательных средах малы. Поэтому для учета результатов требуется применение микроскопа. При культивировании микоплазм на жидких средах можно создать анаэробные условия, налив на поверхность среды стерильное минеральное масло. Учет результатов часто производят по изменению цвета среды.

Следует отметить, что *M. genitalium* очень плохо культивируется на питательных средах. Поэтому для её идентификации применяют ПЦР и её модификацию - *real-time* ПЦР [6; 7].

В России для диагностики микоплазмоза и уреоплазмоза широкое распространение получила ПЦР. При этом для выявления в пробе *Ureaplasma spp.* часто используют праймеры к гену уреазы, а для *M. hominis* – ген аргининдезаминазы [8]. В последние годы для определения обсемененности микоплазмами половых путей, как и при других половых инфекциях, начали применять ПЦР в реальном времени (*real-time* ПЦР) [9;10; 11]. Метод предназначен для качественного и количественного определения *M. hominis* и *Ureaplasma spp.* В *real-time* ПЦР используется зонд SYBR Green 1, что делает метод относительно недорогим. Праймеры и дезоксирибонуклеозидфосфаты отделены от остальных компонентов ПЦР-смеси парафиновой перегородкой, что обеспечивает проведение ПЦР с горячим стартом. Оптический модуль осуществляет динамическое изменение флуоресценции, генерируемой флуорофорами. Увеличение флуоресценции за счет накопления продуктов амплификации отображается на дисплее прибора в конце каждого цикла. Автоматическая регистрация, математический анализ, интерпретация полу-

ченных результатов с возможностью определения количества копий ДНК повышают объективность оценки, обеспечивают воспроизводимость реакции. Кроме того, исключается необходимость проведения пост-ПЦР этапов, таких как электрофорез или гибридационный иммуноферментный анализ. Резко снижается риск контаминации, ускоряется получение результатов, что существенно при анализе большого числа материалов.

Несмотря на то, что *real-time* ПЦР является количественным тестом, как и обычная (качественная) ПЦР, она имеет те же ограниченные возможности, связанные с местонахождением возбудителя при хронизации инфекции. Кроме того, не совсем понятен смысл в определении исходного количества ДНК-материала микоплазм, если, во-первых, обсемененность патогенами доступного биоматериала из наружных половых органов не отражает истинной картины обсемененности внутренних половых органов (предстательной железы, семенных пузырьков, яичек, полости матки, маточных труб); ведь даже взятие эякулята не вносит ясность, обсемененность какого органа мы получаем (эякулят является биоматериалом одновременно из нескольких желёз); во-вторых, отсутствует прогностическая клиническая значимость различных показателей копий ДНК в плане определения причинно-следственной связи между возбудителем и очагом инфекции. Очень важный момент, который ограничивает применение *real-time* ПЦР при половых инфекциях (в т. ч. при микоплазменной), – отсутствие стандартизации при заборе материала из половых путей (особенно из мужской и женской уретры, эндоцервикса и вагины) [12].

В настоящее время разработаны и с успехом используются методы выявления антигенов микоплазм и уреоплазм в сыворотке крови и других субстратах – РАГА, ИФА, РИФ [4]. Однако для реализации этих методов необходимо наличие стандартных наборов антисывороток к разным серотипам возбудителя. Предложенные отечественными производителями наборы для ПИФ не получили высокой оценки при проведении испытаний в условиях практического здравоохранения [3].

Для диагностики урогенитального микоплазмоза неоднократно предлагалось использовать серодиагностику, чаще всего РСК, РИМ, РИГА, ИФА [4]. Сопоставление различных методов показало низкую эффективность серологии (по сравнению с ПЦР и культуральным тестом) в выявлении урогенитальных микоплазм [13].

Серодиагностика микоплазм и уреоплазм весьма затруднительна в связи с существованием большого числа серотипов этих возбудителей, поверхностной фенотипической вариабельностью ЛПС комплексов и сложностью производства тест-систем,

включающих стандартные антисыворотки [1; 14; 15]. Кроме того, гуморальные антитела к *M. hominis* и *Ureaplasma spp.* могут присутствовать у клинически здоровых лиц, а инфицирование не всегда сопровождается повышением уровня специфических антител. Однако для подтверждения острой микоуреаплазменной инфекции в комплексе с другими лабораторными тестами можно учитывать увеличение титра антител класса М (диагностического 4-кратного увеличения) в парных сыворотках, взятых с разницей в 7-10 дней. При хронической инфекции также возможно определение титров IgG и IgM в сыворотке крови. Нередко продукция последних продолжается в течение многих месяцев после инвазии возбудителя и не может указывать на недавнее инфицирование. Исключением является нарастание их титра в парных сыворотках [16].

Считаем проведение видовой идентификации уреаплазм *U. parvum* и *U. urealyticum* в клинической практике не принципиальным (достаточно определения *Ureaplasma spp.*), поскольку доказана возможность формирования патологических процессов в половых органах женщин и мужчин, а также осложнений во время беременности, вне зависимости от принадлежности уреаплазм к обоим разновидностям [17].

Неоднократно выполняемые работы по сопоставлению сравнительной эффективности отдельных методов диагностики зачастую давали противоречивые результаты. Поэтому имеются рекомендации использовать комплекс методов, так как это повышает достоверность обследования. При сравнительном изучении ПЦР и гибридизации *in situ* при выявлении *Ureaplasma spp.* и *M. hominis* с различными урогенитальными синдромами практически во всех образцах они дали сходные результаты [18]. Проведено сравнительное выявление *Ureaplasma spp.* в выделениях 618 пациентов (165 мужчин и 453 женщин) методом ПЦР с ингибиторным контролем и культуральным методом. У мужчин чувствительность ПЦР, по сравнению с культуральным методом, составила 64, а специфичность – 99 %; у женщин – 84 и 98 % соответственно. При этом 80 % ПЦР-положительных образцов содержали *U. parvum*, 13,5 % – *U. urealyticum* и 6,5 % – оба вида [19]. Сравнение эффективности серологических методов выявления уреаплазм в ПЦР и культурального метода показало неэффективность определения АТ [13].

Помимо методов, основанных на выявлении возбудителя в материале, разработан тест для выявления негонококкового уретрита, основанный на определении эстеразы в лейкоцитах мочи, количество которой коррелирует с числом лизированных клеток в осадке мочи. Тест оказался чувствительным в 96-100 % случаев и специфичным в 55-52,8 % [20]. Обследование контингента с воспалительными заболеваниями гениталий показало, что при клинически выраженных случаях заболевания, вызванных *Ureaplas-*

ta spp., повышается уровень циркулирующих иммунных комплексов и естественных АТ, в то время как при бессимптомном носительстве уреоплазм эти показатели находятся в пределах нормы [21]. Теория универсального управления системой распознавания Кульберга [22] открыла новые возможности для выявления лиц с различными патологическими изменениями, связанными с инфекционными процессами и приводящими к нарушению гомеостаза. Согласно этой теории, основную функцию регуляции гомеостаза выполняют участки мембранных рецепторов – R-белки. В свете этой теории количество рецепторов на мембране и их топология преобретают особое значение. Будучи мембранными паразитами, микоплазмы вызывают изменения в рецепторном аппарате клеточных мембран, что может привести к повышению уровня внеклеточного R-белка и нарушению гомеостаза. По данным НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи, микоплазменные инфекции, вызванные *M. hominis* и *Ureaplasma spp.*, сопровождаются значительным повышением титров R-белка. Определение его количества при массовом обследовании пациентов, бесспорно, способствует выявлению лиц с урогенитальными инфекциями, в том числе микоплазменной и уреоплазменной природы.

Нами была проанализирована частота лабораторного подтверждения диагноза микоплазменной инфекции у представителей 264 пар с наличием продолжительного периода их половой жизни без применения средств защиты. Различные варианты установления диагноза представлены на рисунках 1 и 2.

Обращает внимание, что количество пар с подтверждением инфекции в ПЦР только у женщины (М-- Ж+) преобладало над его количеством с подтверждением только у мужчины (М+ Ж--). Причём в случае *Ureaplasma spp.* это преобладание было наиболее значимо (почти в 5 раз).

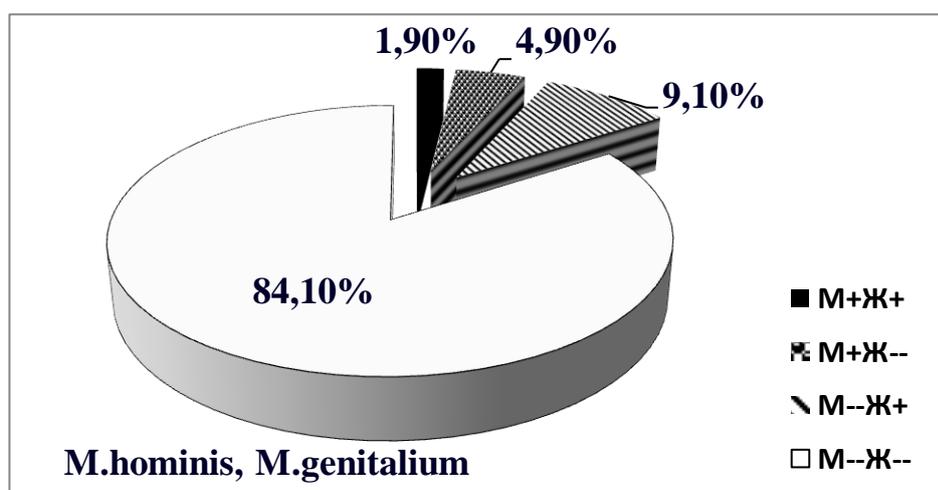


Рисунок 1. Различные сочетания лабораторного подтверждения (в ПЦР) микоплазменной (*M.hominis*, *M.genitalium*) инфекции в парах

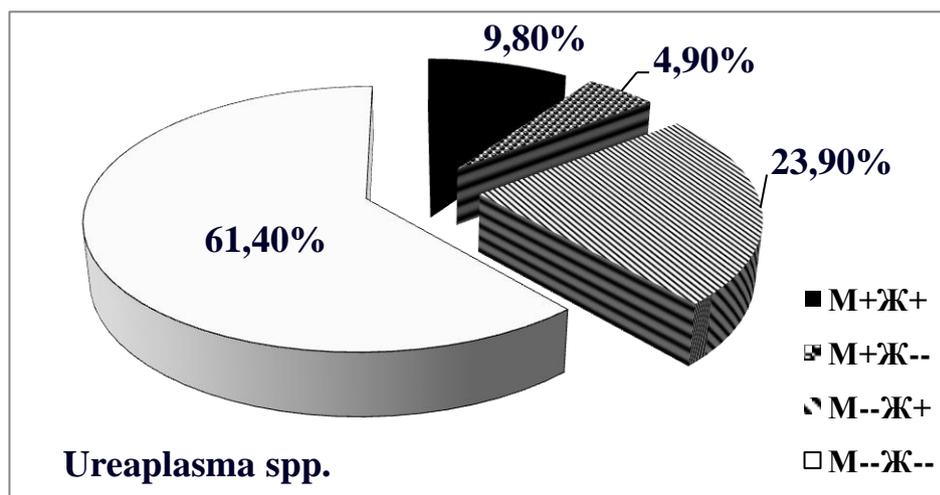


Рисунок 2. Различные сочетания лабораторного подтверждения (в ПЦР) уреаплазменной (*Ureaplasma spp.*) инфекции в парах.

Результаты длительного клиничко-лабораторного наблюдения за парами подтвердили правомочность диагноза микоплазменной инфекции «по контакту» и лечения представителя половой пары даже с отрицательными лабораторными тестами [17; 23].

Однако в связи с менее частым, по сравнению с женщинами, подтверждением микоплазменной урогенитальной инфекции у мужчин, мы сделали попытку оптимизации у них диагностических подходов.

В первую очередь было проведено сопоставление результатов ПЦР в уретре и эякуляте у мужчин. Из рисунков 3 и 4 видно, что встречались варианты обнаружения ДНК-материала микоплазм только в эякуляте и только в уретре.

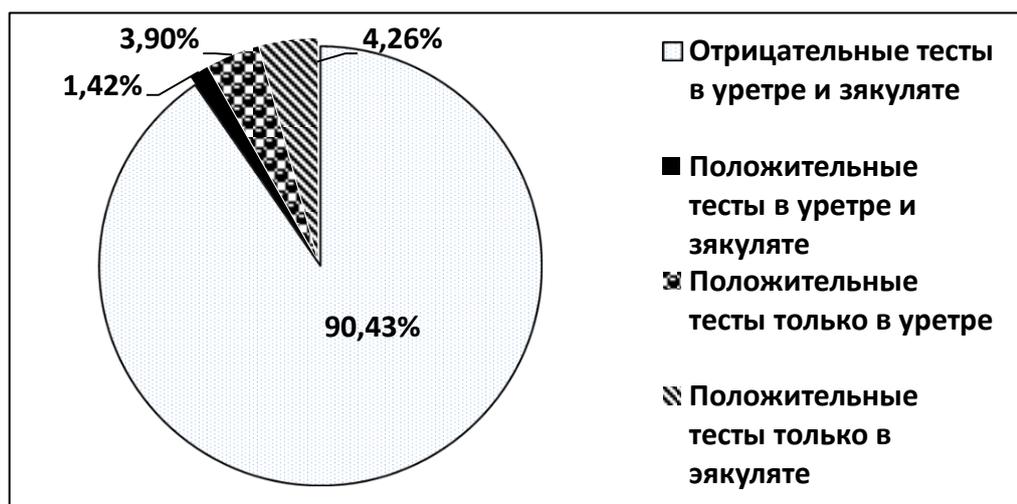


Рисунок 3. Сравнение частоты выявления ДНК-материала *M. hominis* и *M. genitalium* в уретре и эякуляте у мужчин (282 парных определений)

Причём исследование эякулята у мужчин существенно не улучшает диагностику микоплазменной инфекции. Наличие случаев несовпадения положительных результа-

тов в уретре и эякуляте предполагает взятие материала для постановки ПЦР-теста в процессе диагностического поиска из этих эпителиев в разные эппендорфы. Возможно происходит ингибирование ПЦР в эякуляте ещё окончательно не установленными его компонентами.

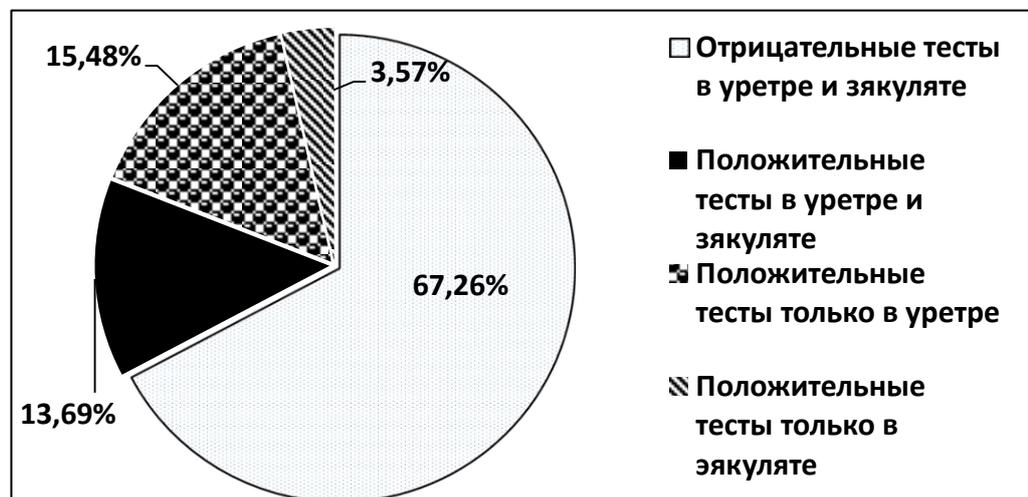


Рисунок 4. Сравнение частоты выявления ДНК-материала *Ureaplasma spp.* в уретре и эякуляте у мужчин (168 парных определений).

Ранее нами было доказано влияние давности заражения патогенами на выявляемость ДНК-материала в ПЦР в уретре у мужчин [17]. Чаще всего микоплазмы определяются в диагностическом количестве при остром инфекционном процессе в уретре (давность заражения до 2-3 месяцев), когда возбудитель доступен для обнаружения. При отсутствии воспалительного очага в уретре и при хронизации инфекции с наличием только хронического простатита уреоплазмы нередко становятся недоступными для исследования. Это подтверждает, что в процессе хронизации инфекции первичные входные ворота, которыми чаще всего является уретра, ослабляет или теряет своё значение резервуара инфекции (рис. 5). Возбудитель колонизирует внутренние половые органы, недоступные или недостаточно доступные для взятия материала (предстательная железа, семенные пузырьки и яички). Не последняя роль в санации уретры от патогенов отводится бактерицидным компонентам мочи и эякулята.

Хотя и с меньшей вероятностью, но можно определить патоген в различных титрах в уретре при формировании в ней хронического воспалительного процесса. В данном случае даже при положительных уретральных тестах обсеменённость уретры патогеном не отражает истинную обсеменённость предстательной железы, семенных пузырьков и яичек.

Эпитопы	Уретра	Предстательная железа	Семенные пузырьки	Придатки яичек и яички	Примечания
Вариант 1					Чаще острый процесс
Вариант 2					Чаще хронический процесс
Вариант 3					Чаще хронический процесс
Вариант 4					Чаще хронический процесс
Вариант 5					Чаще хронический процесс
Вариант 6					Чаще хронический процесс
Вариант 7					Чаще хронический процесс
Вариант 8					Чаще хронический процесс

Рисунок 5. Различные варианты нахождения возбудителя в мужской репродуктивной системе (заливкой обозначены экониши с патогеном).

В отличие от мужчин, у женщин одинаково часто уреоплазмы в диагностических количествах высевались как при острых воспалительных процессах во влагалище и эндоцервиксе, так и при хронических вагинитах. Это свидетельствует об их доступности при взятии на исследование материала непосредственно из очага воспаления. В меньшей степени патогены определялись при отсутствии воспаления во влагалище и при его формировании в эндоцервиксе и придатках матки. В этом случае микробный спектр, определяемый в вагине и эндоцервиксе, по-видимому, не отражает истинную обсеменённость внутренних половых органов и не доказывает значимость данных патогенов в формировании хронических воспалительных очагов в придатках матки (рис. 6). Напрашивается вывод о целесообразности определения обсеменённости для оценки только тех эпитопов, из которых доступен забор материала. Однако нерешённой на сегодня остаётся проблема стандартизации его забора, если речь идёт о соскобе из слизистых оболочек полых органов, а не жидких или полужидких биоматериалах [24].

Нами было также проведено сопоставление выявления ДНК-материала микоплазм в уретре и эякуляте у мужчин с результатами посева эякулята на жидкие пита-

тельные среды. Соскоб из уретры и эякулят вносились одновременно в один эппендорф для ПЦР и одну пробирку для культурального теста. Результаты представлены в таблице 1.

Эпитопы	Вагина	Шейка матки	Полость матки	Придатки	Примечания
Вариант 1					Чаще острый процесс
Вариант 2					Чаще острый процесс
Вариант 3					Чаще острый процесс
Вариант 4					Чаще хронический процесс
Вариант 5					Чаще хронический процесс
Вариант 6					Чаще хронический процесс
Вариант 7					Чаще хронический процесс
Вариант 8					Чаще хронический процесс

Рисунок 6. Различные варианты нахождения возбудителя в женской репродуктивной системе (заливкой обозначены экониши с патогеном).

Таблица 1

Сопоставление результатов определения урогенитальных микоплазм в ПЦР и культуральном тесте у мужчин (n=59)

Обнаружение в ПЦР	Обнаружение в посеве	по <i>M. hominis</i> (%)	по <i>Ureaplasma spp.</i> (%)
+	+	0	15,3
--	--	79,3	49,2
+	--	6,9	16,9
--	+	13,8	18,6

Наличие вариантов с обнаружением патогенов только в ПЦР или только в посеве предполагает обязательное применение обоих тестов в диагностических блоках у мужчин. Можно предполагать, что положительный результат только в ПЦР определя-

ется низким качеством жидких питательных сред и/или незначительной обсеменённостью биопроб патогеном, а также большей чувствительностью ПЦР, по сравнению с культуральным тестом. Положительный результат только в посеве может быть результатом ингибирования ПЦР компонентами эякулята при достаточной обсеменённости половых путей микоплазмами.

В качестве обобщения представленного материала можно предложить следующий оптимальный лабораторный диагностический блок:

а) для мужчин:

➤ идентификация *M. hominis*, *M. genitalium* и *Ureaplasma spp.* методом ПЦР отдельно в уретре и эякуляте. При этом можно применять *real-time* ПЦР исключительно в качественной интерпретации по причинам ранее изложенным [12].

➤ посев на жидкие питательные среды (можно соединить соскоб из уретры и эякулят) в качественном варианте на *M. hominis* и *Ureaplasma spp.*; предпочтительны импортные среды (например, тест-система «Mycoplasma duo» производства «Sanofi diagnostics Pasteur»)

б) для женщин:

➤ идентификация *M. hominis*, *M. genitalium* и *Ureaplasma spp.* методом ПЦР в эндоцервикальной слизи и вагине; при этом допустимо смешивание материала из указанных эпителиев в одном эппендорфе [25; 26].

В будущем возможно применение культуральных тестов и *real-time* ПЦР для количественной оценки исходной обсеменённости исключительно тех органов мочеполовой системы, которые доступны для взятия материала (уретра, вагина, эндоцервикс) после стандартизации забора материала и определения клинической значимости ДНК-нагрузки в каждом из выше указанных эпителиев. Определение обсеменённости эякулята микоплазмами с помощью культурального теста возможно и может иметь диагностическое значение. Однако оно не будет выявлять локализацию очага инфекции во внутренних половых органах мужчины и его обсеменённость, но может давать представление по обсеменённости внутренних половых органов в целом. В таком случае необходимо выработать клинические прогностические критерии обсеменённости эякулята (в КОЕ/мл или ЦОЕ/мл). Аналогичные задачи стоят и при использовании *real-time* ПЦР (в качестве альтернативы культуральному тесту) для определения ДНК-нагрузки эякулята. Однако применение данного метода ещё дополнительно ограничивается обилием липидов и других ингибиторов ПЦР, которые находятся в эякуляте.

На основании имеющихся данных можно представить последовательность обоснования микоплазменной инфекции, вызванной *M. hominis*, *M. genitalium* и *Ureaplasma spp.*, у половой пары с учетом продолжительности её половой жизни и использования барьерных методов защиты. При определении разновидности инфекционного процесса (заболевания в виде урогенитального микоплазмоза или носительства микоплазм) необходимо учитывать, в первую очередь, положительные по микоплазмам лабораторные тесты и характерные для данной инфекции воспалительные очаги (чаще хронические), подтвержденные клинико-лабораторными исследованиями по общепризнанным методикам [27; 28]. К характерной воспалительной органной патологии у мужчин относятся уретрит, простатит, орхит, эпидидимит, цистит, пиелонефрит. Могут быть осложнения в виде реактивного артрита и инфертильности [6; 17]. К характерной воспалительной органной патологии у женщин относятся уретрит, цервицит, вагинит, сальпингоофорит, эндометрит, цистит, а также бактериальный вагиноз – как проявление анаэробноза в мочеполовой системе. Встречаются осложнения во время беременности, а также реактивный артрит и бесплодие [6; 17; 29; 30].

Забор материала на ПЦР у мужчины производится взятием соскоба из уретры и эякулята в разные пробирки для ПЦР (идентификация *M. hominis*, *M. genitalium* и *Ureaplasma spp.*) и посева на жидкие питательные среды (отдельно на *M. hominis* и *Ureaplasma spp.*). У женщины забор материала осуществляется из эндоцервикса и вагины в одну пробирку на ПЦР. Хранение взятого для ПЦР материала в буферном растворе желательно осуществлять при температуре +4⁰С (возможно до 3-х суток). Однократная и особенно двукратная заморозка проб негативно сказывается на результативности теста и увеличивает вероятность получения ложно-отрицательного результата [31; 32].

При невозможности обследования обоих представителей пары – необходимо провести полную диагностику у одного из них. При обнаружении микоплазм у одного или одновременно у обоих партнёров при их половой жизни без барьерных методов защиты – диагноз «микоплазменная инфекция» не вызывает сомнений. В случае положительных тестов у одного из партнёров – представителю пары с отрицательными тестами устанавливается «микоплазменная инфекция (по контакту)». Характер инфекционного процесса (заболевание или носительство) определяется по наличию характерной органной патологии с помощью клинико-лабораторных методов. При установлении заболевания в виде «урогенитального микоплазмоза» (при наличии возбудителя и очага(-ов) у одного или одновременно у обоих половых партнёров) – показано лечение пары. Исследование обсеменённости в культуральном тесте или с помощью *real-time*

ПЦР не имеет принципиального значения по причинам, указанным выше [12]. Лечение пары можно не проводить в случае установления носительства микоплазм одновременно у обоих партнёров (отсутствие очагов у обоих партнёров и при доказанном возбудителе у одного или обоих представителей пары). Однако при сочетании этой разновидности инфекционного процесса с подготовкой пары к беременности, женщины – к аборту и/или инструментальным инвазивным исследованиям и/или оперативным вмешательствам на органах мочеполовой системы – показана обязательная санация обоих партнёров от микоплазм.

Нельзя забывать, что один и тот же воспалительный очаг может быть вызван микст-инфекцией (трихомонадами, хламидиями и т.д.). В этом случае определить удельный вес каждого патогена в формировании данного очага и/или осложнения не представляется возможным и его необходимо рассматривать как проявление сочетания из нескольких инфекционных заболеваний. Лечебная тактика при этом определяется с учётом соответствующего сочетания.

Не случайный вопрос, имеет ли значение для клинициста характер инфекционного процесса – уrogenитальный микоплазмоз или носительство микоплазм? Это имеет принципиальное значение т.к. заболевание с наличием хронических воспалительных очагов предполагает (кроме системной терапии) дополнительное местное лекарственное воздействие на эти очаги. Кроме того, они являются своеобразным клиническим индикатором эффективности лечения: определение клинической излеченности независимо от наличия или отсутствия эрадикации патогена [33].

Таким образом, подтверждение диагноза микоплазменной инфекции в пределах половой пары вызывает определённые затруднения, зависящие от качества диагностических тест-систем и особенностей инфекционного процесса. Весь объём лечебных мероприятий напрямую зависит от клинической проблемы и характера инфекционного процесса.

Литература:

1. Прозоровский С.В., Раковская И.В., Вульфович Ю.В. Медицинская микоплазмология. М.: Медицина, 1995. С. 288.
2. Thirkill C.E., Kenny G.E. Antigenic analysis of three strains of *Mycoplasma arginini* by two-dimensional immunoelectrophoresis // J. Immunol. 1975. V.114. P. 1107-1111.
3. Белоусова Е.В. Сравнительная оценка эффективности методов выявления возбудителей урогенитальных микоплазмозов: Дисс. ... канд. мед. наук. СПб., 1999. С. 146.

4. Лисин В.В., Поташенко Л.Б., Румель Н.Б. и др. Лабораторная диагностика микоплазма у людей: методические рекомендации МЗ СССР. 1988. С. 36.
5. Vrazquez F., Carreno F., Prerez A.F. et al. Comparison of 3 culture methods for genital mycoplasmas // *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 1995. V.13, №8. P. 460-463.
6. Taylor-Robinson D., Jensen J.S. Mycoplasma genitalium: from Chrysalis to multi-colored butterfly // *Clin. Microbiol. Rev.* 2011. Vol.24, №3. P.498-514.
7. Taylor-Robinson D. The history and role of Mycoplasma genitalium in sexually transmitted diseases. // *Genitourin Med.* 1995. Vol.71. P.1-8.
8. Бурменская О.В., Жданов А.В., Игнатченко А.А. и др. Использование полимеразной цепной реакции для диагностики *C.trachomatis*, *U.urealyticum* и *M.hominis* в околоплодных водах и тканях плода // Полимеразная цепная реакция в диагностике и контроле лечения инфекционных заболеваний: материалы 2-й Всерос. науч.-практ. конф. М., 1998. С. 42-43.
9. Bustin S.A. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays // *J. of Molecular Endocrinology.* 2000. V.25. P.169-193.
10. Storm M. Gustafsson I., Herrmann B. et al. Real-time PCR for pharmacodynamic studies of *Chlamydia trachomatis* // *J. Microbiol. Methods.* 2005. V.61, №3. P. 361-7.
11. Zhang W., Cohenford M., Lentricchia B. et al. Detection of *Chlamydia trachomatis* by isothermal ramification amplification method: a feasibility study // *J. Clin. Microbiol.* – 2002. V.40, №1. P.128-32.
12. Мирский В.Е., Рищук С.В. Заболевания репродуктивной системы у детей и подростков (андрологические аспекты): руководство для врачей. СПб.: СпецЛит, 2012. С. 479.
13. Levy R., Layani-Milon M.P., Giscard D'Estaing S. et al. Screening for *Chlamydia trachomatis* and *Ureaplasma urealyticum* infection in semen from asymptomatic male partners of infertile couples prior to in vitro fertilization // *Int. J. Androl.* 1999. V.22, №2. P.113-8.
14. Раковская И.В., Вульфович Ю.В. Микоплазменные инфекции урогенитального тракта. М.: Ассоциация САНАМ, 1995. С. 68.
15. Citti C., Rosengarten R. Mycoplasma genetic variation and its implication for pathogenesis // *Wien. Klin. Wochenschr.* 1997. V.109, № 14-15. P. 562-568.
16. Mardh P.A. Increased serum levels of IgM in acute salpingitis related to the occurrence of *Mycoplasma hominis* // *Acta Pathol. Microbiol. Scand [B] Microbiol. Immunol.* 1970. V.78, №6. P.726-32.

17. Рищук С.В. Клинико-лабораторные аспекты хронических воспалительных заболеваний и дисбиозов у половых партнёров: Дисс. ... доктора мед. наук. СПб., 2006. С. 400.
18. Fernandez C., Alvarez K., Muy L. et al. Detection using molecular biology techniques of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in urogenital samples // Rev. Argent. Microbiol. 1998. V.30, №2. P.53-58.
19. Povlsen K., Jensen J.S., Lind I. Detection of *Ureaplasma urealyticum* by PCR and biovar determination by liquid hybridization // J. Clin. Microbiol. 1998. V.36, №11. P.3211-3216.
20. Veeravahu M., Smyth R.W., Clay J.C. Detection of leukocyte esterase in urine: a new screening test for nongonococcal urethritis compared with two microscopic methods // Sex. Transm. Dis. 1987. V.14, №3. P.180-184.
21. Фейзулла М.Ф., Вульфович Ю.В., Муратова Р.М. и др. Актуальные вопросы клинической микробиологии в неинфекционной клинике // Всесоюз. конф.: тез докл. Барнаул, 1988. С. 68-69.
22. Кульберг А.Я. Рецепторы клеточных мембран. М.: Высшая школа., 1987. С. 702.
23. Рищук С.В. Костючек Д.Ф., Бойцов А.Г. Хронический урогенитальный микоплазмоз у половых пар // Вестник Санкт-Петербургской Медицинской академии им. И.И. Мечникова. 2003. №1-2. С.178-180.
24. Рищук С.В. Костючек Д.Ф. Половые пары и половые инфекции. СПб.: Медицинская пресса. 2005. С. 272.
25. Шалепо К.В., Шипицина Е.В., Савичева А.М. и др. Сравнение методов лабораторной диагностики урогенитальных инфекций, вызванных *Chlamydia trachomatis* // Журнал акушерства и женских болезней. 2001. Вып.4. Т.1. С.77-82.
26. Шалепо К.В., Шипицина Е.В., Савичева А.М. и др. Обнаружение *Chlamydia trachomatis* в различных клинических материалах урогенитального тракта // Журнал акушерства и женских болезней. 2002. Вып.1. Т.1. С.95-100.
27. Гинекология: национальное руководство/ под ред. В.И. Кулакова, И.Б. Манухина, Г.М. Савельевой. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. С. 1072.
28. Урология: национальное руководство / под ред. Н.А. Лопаткина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. С. 1024.
29. Мавров И.И. Клинико-морфологическая характеристика хламидийного сальпингита // Вест. дерматол. и венерол. 1994. Т.4. С. 18-22.

30. Taylor-Robinson D., Furr P.M. Genital mycoplasma infections // Wien. Klin. Wochenschr. 1997. V.109, №14-15. P.578-583.

31. Рищук С.В., Сельков С.А., Мирский В.Е. и др. Зависимость результатов ПЦР при урогенитальных инфекциях от режимов хранения материала // Урогенитальные инфекции и репродуктивное здоровье: клинико-лабораторная диагностика и терапия: материалы 3-й Всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции. СПб., 2010. С. 75-77.

32. Carlsen K.H. Jensen J.S. *Mycoplasma genitalium* PCR: does freezing of specimens affect sensitivity? // J. Clin. Microbiol. 2010. Vol. 48. P. 3624-3627.

33. Рищук С.В., Смирнова Т.С., Костючек Д.Ф. и др. Диагностика и установление излеченности половых пар по урогенитальному хламидиозу и микоплазмозу: методические рекомендации для врачей по Северо-Западному региону России. СПб., 2006. С. 25.