

ИЗУЧЕНИЕ УРОВНЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ УРОГЕНИТАЛЬНЫХ МИКОПЛАЗМ К ДЕЙСТВИЮ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ

Е. С. Херувимова, В. Г. Артюхов, С. Г. Резван

Воронежский государственный университет

Поступила в редакцию 23.06.2010 г.

Аннотация. В данной статье исследован уровень резистентности *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* к антибактериальным препаратам различных классов. Показано, что урогенитальные микоплазмы наиболее чувствительны к фторхинолонам, доксициклину, джозамицину. Установлено, что изучаемые штаммы наиболее резистентны к азитромицину и рокситромицину.

Ключевые слова: *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, инфекция, антибиотики, антибиотикорезистентность.

Abstract. In the article under consideration the level of resistance of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* to antibacterial substances of different nature has been studied. It has been demonstrated that urogenital mycoplasma is more sensitive to fluoroquinolones, doxycycline, josamycin. It has been established that strains being studied are more resistant to azithromycin and roxithromycin.

Keywords: *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, infection, antibiotics, antibiotic resistance.

ВВЕДЕНИЕ

Заболевания человека, вызываемые микоплазмами, объединяют в группу микоплазмозов [5]. Отличительными признаками микоплазм и уреоплазм (*Mycoplasmataceae*) являются отсутствие ригидной клеточной стенки и способность паразитировать на мембране клеток хозяина. Опубликованы данные о таких свойствах микоплазм, как способность влиять на кроветворение, вызывая лейкопению, индуцировать иммуносупрессию и аутоиммунные реакции организма, вызывать необратимые хромосомные aberrации и давать тератогенный эффект при воздействии на половые клетки [2, 4].

Патогенные для человека микоплазмы имеют существенные биологические отличия от «типичных» бактериальных возбудителей, что определяет их природную резистентность к антибиотикам. Использование антимикробных препаратов создает селективное давление, способствующее отбору, выживанию и размножению резистентных штаммов [7]. Однако к настоящему времени не существует четких представлений о резистентности к антибиотикам микоплазм и уреоплазм и ее значении для клинической практики, не установлено четкой корреляции между значениями минимальной подавляющей концентрации антибиотиков *in vitro* и показателями микробиологической эф-

фективности терапии микоплазменных инфекций *in vivo*, что требует дальнейших исследований в данной области [9].

Представляло интерес изучить уровень резистентности чувствительных к антимикробным препаратам штаммов *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum*.

Цель работы — определить степень распространенности микоплазменной инфекции и чувствительность *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* к антибактериальным препаратам различных классов.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявлялось наличие микоплазменной инфекции (*Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum*) у 3000 пациентов. Материалом для исследования послужили соскобы эпителиальных клеток из уретры и цервикального канала. Для обнаружения указанных возбудителей инфекций применялась полимеразная цепная реакция (ПЦР) [3]. В каждом клиническом образце определяли наличие ДНК *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum*, используя диагностические наборы «ДНК-Технология» (ГНЦ Института иммунологии МЗ РФ и ГНЦ Института ФВЭ).

С целью количественного определения изучаемых штаммов было проведено бактериологическое исследование с использованием культурального метода, при этом диагностически значимым счи-

тали титр микроорганизмов $> 10^4$ КОЕ/мл. Данный метод предполагает посев отделяемого из урогенитального тракта на жидкие диагностические среды и выделение возбудителя на культуре клеток. Идентификация микроорганизмов основана на характерном для *Mycoplasma hominis* гидролизе аргинина и закислением среды *Ureaplasma urealyticum*. Визуализация реакции фиксируется при смене цвета индикатора pH с желтого на красный. Количественное определение *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* базируется на принципе разведения изучаемых штаммов в жидкой среде.

Определение чувствительности *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* к антимикробным препаратам проводили с использованием тест — системы «МИКОПЛАЗМА/УРЕАПЛАЗМА — АЧ», разработанной при ФГУН НИИЭМ им. Пастера, основанной на ингибировании антибиотиками метаболической активности урогенитальных микоплазм в жидкой питательной среде. В процессе их роста изменяется pH среды, что проявляется в изменении цвета pH-индикатора от зеленого до фиолетового (*Mycoplasma hominis*) и от желтого до красного (*Ureaplasma urealyticum*).

В четырнадцати лунках стрипа сорбированы антибиотики. После внесения в эти лунки инокулята сорбированные антибиотики растворяются в среде. В тех лунках, где антибиотики подавляют рост урогенитальных микоплазм, изменения цвета среды не происходит, и штамм считается чувствительным к данным антибиотикам. В тех лунках, где антибиотики не подавляют рост урогенитальных микоплазм, происходит изменение цвета среды, и штамм считается резистентным к данным антибиотикам. Концентрации антибиотиков подобраны таким образом, чтобы профиль чувствительности исследуемых штаммов определялся как чувствительный, умеренно чувствительный или резистентный.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты обследования пациентов на наличие микоплазменной инфекции методом ПЦР представлены на рис. 1.

Как следует из представленных данных, наиболее частыми возбудителями являются *U. urealyticum* и *M. hominis*. По мнению ряда авторов (И. И. Мавров, 1991; В. В. Делекторский, 1991), трудность диагностики микоплазменных инфекций, распространенность микоплазмозов и неадекватность проводимой терапии привели к преобладанию этих инфекций над «классическими» венерическими заболеваниями.

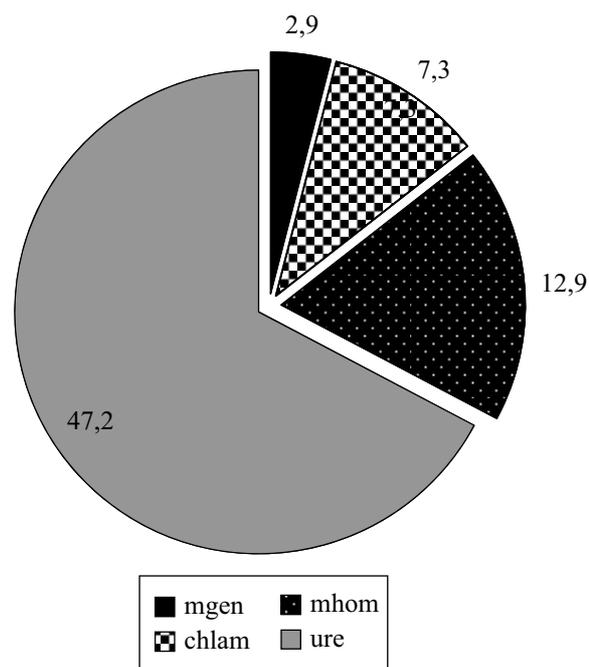


Рис. 1. Распространенность ИППП, %. Сокращения: ИППП — инфекции, передаваемые половым путем; mgen — *Mycoplasma genitalium*; chlam — *Chlamidia trachomatis*; m hom — *Mycoplasma hominis*; ure — *Ureaplasma urealyticum*

Учитывая техническую сторону оценки ПЦР как качественного метода диагностики, был проведен количественный анализ содержания *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* отделяемого урогенитального тракта 134 пациентов (75 *Mycoplasma hominis* и 59 *Ureaplasma urealyticum*).

По мнению большинства исследователей, при наличии клинико-лабораторных признаков воспалительных процессов, вызванных микоплазмами и уреоплазмами, в органах мочеполовой системы и при обнаружении *Mycoplasma hominis* и (или) *Ureaplasma urealyticum* в количествах более 10^4 КОЕ/мл показано использование антибиотиков с определением чувствительности к конкретным препаратам (В. Кисина и др., 2006).

Наиболее активными антибиотиками, подавляющими рост микоплазм, являются макролиды, тетрациклины и новые фторхинолоны [1,10]. Однако профили резистентности различных видов микоплазм и уреоплазм к разным макролидам и к тетрациклинам существенно различаются [10].

Данные по сравнительной оценке индивидуальной чувствительности *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* к 9 антимикробным препаратам, полученные в нашей лаборатории, представлены на рис. 2 и 3.

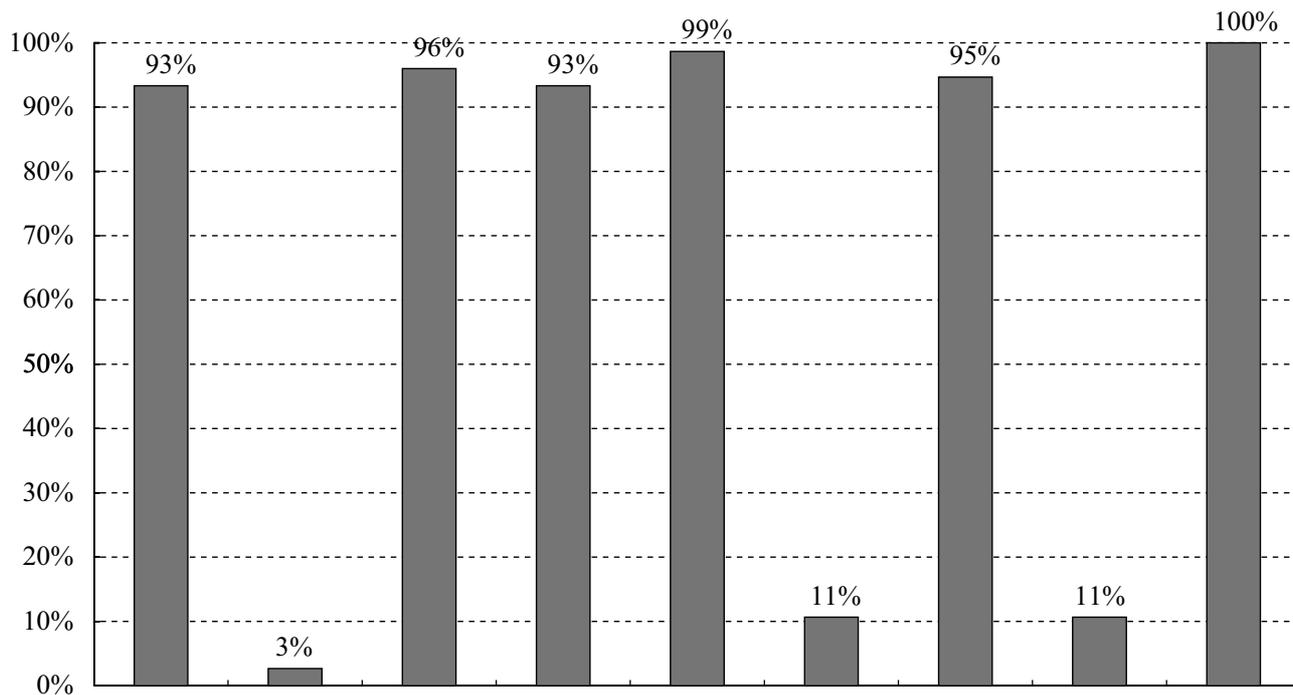


Рис. 2. Уровень чувствительности *Mycoplasma hominis* к антимикробным препаратам, %. Сокращения: ДОК — доксициклин; АЗМ — азитромицин; Джо — джозимицин; КЛ — клиндамицин; ОФ — офлоксацин; КТМ — кларитромицин; ЦИП — ципрофлоксацин; РОК — рокситромицин; СПФ — спарфлоксацин

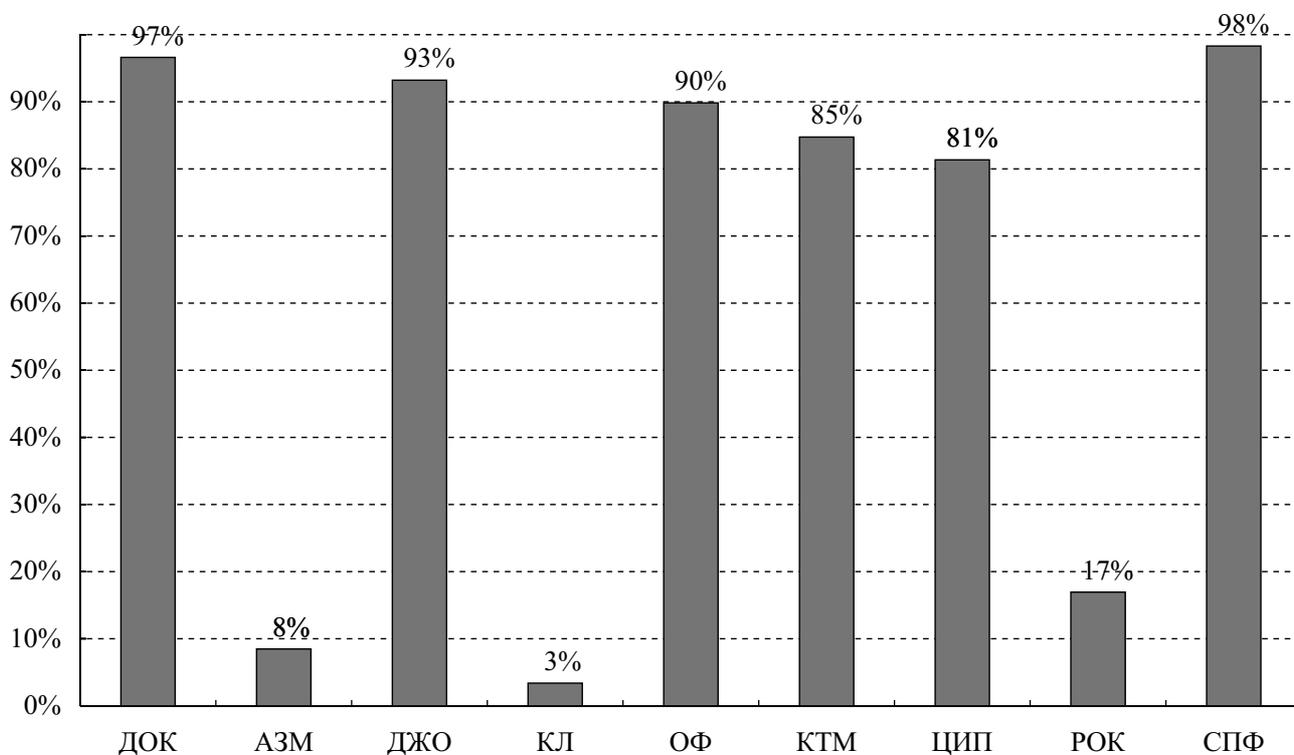


Рис. 3. Уровень чувствительности *Ureaplasma urealyticum* к антимикробным препаратам, %. Сокращения: ДОК — доксициклин; АЗМ — азитромицин; Джо — джозимицин; КЛ — клиндамицин; ОФ — офлоксацин; КТМ — кларитромицин; ЦИП — ципрофлоксацин; РОК — рокситромицин; СПФ — спарфлоксацин

Как следует из рис. 2 и 3, в отношении штаммов *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* высокую активность проявляли фторхинолоны, джозамицин, доксициклин. Однако штаммы *Mycoplasma hominis* сохраняли активность к клиндамицину, а штаммы *Ureaplasma urealyticum* — к кларитромицину. Обращает на себя внимание низкая чувствительность изучаемых микроорганизмов к азитромицину и рокситромицину. Резистентность *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* к макролидам и линкозамидам обусловлена активным выведением антибиотиков из клетки и изменением мишени их действия. Основой терапевтического действия антибактериальных препаратов является подавление жизнедеятельности возбудителя инфекционной болезни в результате угнетения более или менее специфичного для микроорганизмов метаболического процесса [7]. Угнетение происходит в результате связывания антибиотика с мишенью, в качестве которой может выступать либо фермент, либо структурная молекула микроорганизма. Высокая чувствительность изучаемых микроорганизмов к фторхинолонам, по-видимому, обусловлена биологической активностью данных antimicrobных препаратов. Большинство биологически активных органических соединений являются слабыми кислотами или основаниями. Степень протонизации лекарственного препарата имеет большое значение для проникновения веществ через биологические мембраны в организме [6]. Фторхинолоны являются амфолитами, так как содержат в молекуле одновременно основные центры — вторичный (спарфлоксацин, ципрофлоксацин) или третичный (офлоксацин) — алифатические атомы азота и кислотный центр — карбоксильную группу [8]. Такое строение молекул, по-видимому, препятствует активному эффлюксу антибиотика из микробной клетки.

В последние годы увеличивается процент штаммов микоплазм, резистентных к различным группам антибиотиков. Для *Mycoplasma hominis* характерен выраженный антигенный полиморфизм с высокой частотой мутаций. Основные антигены представлены фосфо- и гликолипидами, полисахаридами и белками. *Mycoplasma hominis* в мембране содержит 9 интегральных гидрофобных белков, из которых лишь 2 более или менее постоянно присутствуют у всех штаммов. У уреоплазм выделяют 16 сероваров, основные антигенные детерминанты — поверхностные полипептиды [5]. Анализ данных по определению чувствительности урогенитальных микоплазм к антибиотикам позволил

выявить определенный процент штаммов, обладающих умеренной чувствительностью к antimicrobным препаратам. Для штаммов *Mycoplasma hominis* — это азитромицин (19 %), кларитромицин (17 %), ципрофлоксацин (5 %) и доксициклин (4 %); *Ureaplasma urealyticum* — азитромицин (42 %), ципрофлоксацин (19 %), офлоксацин (8 %) и кларитромицин (7 %).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, урогенитальные микоплазмы наиболее чувствительны к следующим антибиотикам, используемым для лечения:

микоплазмоз — спарфлоксацин, офлоксацин, джозамицин, ципрофлоксацин, клиндамицин;

уреоплазмоз — спарфлоксацин, доксициклин, джозамицин, офлоксацин, кларитромицин.

Наиболее низкая чувствительность *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* наблюдалась к азитромицину и рокситромицину.

По результатам наших исследований проявление различной чувствительности *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* к антибактериальным препаратам обусловлено особенностями строения клеточной стенки микоплазм и специфичным механизмом действия антибиотиков на компоненты их клеток. В дальнейшем предполагается изучить молекулярные механизмы, лежащие в основе реакций взаимодействия антибиотиков различных классов с отдельными компонентами клеток, на примере модельных систем (антибиотик-эритроцит).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Башмакова М. А. Генитальные микоплазмы и микоплазменные инфекции / М. А. Башмакова, А. М. Савичева // Трудный пациент. — 2006. — № 2. — С. 90—95.
2. Делекторский В. В. Комплексный метод лечения хламидийной и уреоплазменной инфекции урогенитального тракта / В. В. Делекторский [и др.] // Вестник дерматологии. — 1991. — №9. — С. 79—80.
3. Костюк С. А., Кулага О. К. Скрининговые полимеразные цепные реакции при проведении обследования у беременных и их роль в профилактике урогенитальных инфекций / С. А. Костюк // Медицинские новости. — 2006. — №9. — С. 94—97.
4. Мавров И. И. Нарушение репродуктивной функции у больных урогенитальным хламидиозом и уреоплазмозом / И. И. Мавров // Вестник дерматологии. — 1992. — № 11. — С. 72—75.
5. Поздеев О. К. Медицинская микробиология : учебное пособие / О. К. Поздеев ; под ред. В. И. Покровского. — М. : Изд-во Гэотар Медиа, 2001. — 736 с.
6. Полищук А. В. Фотоиндуцированный межмолекулярный перенос протона в офлоксацине / А. В. По-

лищук, Э. Т. Карасева, В. Е. Карасев // Вестник ДВО РАН. — 2005. — №2. — С. 181.

7. *Сидоренко С. В.* Механизмы резистентности микроорганизмов : практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / С. В. Сидоренко; под ред. Л. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С. Н. Козлова. — Смоленск : МАКМАХ, 2007. — 464 с.

8. *Титов И. В.* Использование метода УФ-спектрокопии для установления подлинности лекарственных

средств группы фторхинолонов / И. В. Титов, В. Л. Дорофеев, А. П. Арзамасцев // Вестник Воронеж. гос. ун-та. Сер. Химия. Биология. Фармация. — 2004. — №2. — С. 264—269.

9. *Hardy R. D.* Mycoplasma Infections / RD Hardy // ACP Medicine. — 2005. — XII. — p. 1—8.

10. *Lorian V.* Ed. Antibiotics in laboratory medicine. 5-th edition. Williams & Willrins. — Baltimore, 2005. — 832 p.

Херувимова Е. С. — аспирант, Воронежский государственный университет; e-mail: galaxy1985@mail.ru, тел.: (916) 1373602

Артюхов В. Г. — доктор биологических наук, профессор, Воронежский государственный университет

Резван С. Г. — кандидат биологических наук, доцент Воронежский государственный университет; e-mail: starn2008@mail.ru, тел.: (910) 3408444

Kheruvimova E. S. — Voronezh State University, postgraduate student; e-mail: galaxy1985@mail.ru, tel.: (916) 1373602

Artuhov V. G. — professor, PhD, Voronezh State University

Rezvan S. G. — PhD, Voronezh State University, associate professor; e-mail: starn2008@mail.ru, tel.: (910) 3408444