

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**  
**Харківський національний медичний університет**

# **МІКОПЛАЗМИ**

***Методичні вказівки з дисципліни***  
***«Мікробіологія, вірусологія та імунологія***  
***з мікробіологічною діагностикою»***  
***для студентів-бакалаврів II–IV курсу***  
***за спеціальністю***  
***«Технології медичної діагностики та лікування»***

Затверджено  
вченою радою ХНМУ.  
Протокол № 9 від 20.09.2018.

**Харків**  
**ХНМУ**  
**2018**

Мікоплазми : метод. вказ. з дисципліни «Мікробіологія, вірусологія та імунологія з мікробіологічною діагностикою» для студентів-бакалаврів II–IV курсу за спеціальністю «Технології медичної діагностики та лікування» / упоряд. М. М. Мішина, Т. М. Замазій, Н. І. Коваленко. – Харків : ХНМУ, 2018. – 52 с.

Упорядники    М. М. Мішина  
                      Т. М. Замазій  
                      Н. І. Коваленко

## Тема: Лабораторна діагностика мікоплазмозів

**Кількість годин:** 2.

### Обґрунтування теми

Захворювання людини, що викликаються мікоплазмами, об'єднують у групу мікоплазмозів людини. Збудники цієї групи інфекцій – мікоплазми є найдрібнішими прокаріотами. Вони привертають велику увагу дослідників з двох причин:

- 1) через свою унікальну організацію;
- 2) завдяки тому, що дуже часто контамінують культури клітин, викликають захворювання рослин, тварин і людини, впливають на розмноження ряду вірусів, в тому числі онкогенних і ВІЛ, а також самі здатні викликати імунodefіцитний стан.

За сучасною класифікацією мікоплазми відносяться до класу *Mollicutes*, відділу *Tenericutes*, царства *Procariotae*. Клас *Mollicutes* має 3 порядки: *Acholeplasmatales*; *Mycoplasmatales*, *Anaeroplasmatales*. 1-й порядок містить одну родину *Acholeplasmataceae* з одним родом *Acholeplasma*; 2-й складається з двох родин: *Spiroplasmataceae* з одним родом *Spiroplasma* і *Mycoplasmataceae* з двома родами *Mycoplasma* і *Ureaplasma*. Нещодавно виділений 3-й порядок, що містить сімейство *Anaeroplasmataceae* з двома родами *Anaeroplasma* і *Asteroplasma*.

Терміном «мікоплазми», як правило, позначають всі мікроорганізми родин *Mycoplasmataceae* і *Acholeplasmataceae* (див. таблицю).

### Класифікація мікоплазм

Родина <i>Mycoplasmataceae</i>						
Рід	<i>Acholeplasma</i>	<i>Anaeroplasma</i>	<i>Asteroplasma</i>	<i>Mycoplasma</i>	<i>Spiroplasma</i>	<i>Ureaplasma</i>
Вид	12 видів	4 види	<i>A. anaerobium</i>	92 види. <i>M. arthritis</i> <i>M. fermentans</i> <i>M. genitalium</i> <i>M. hominis</i> <i>M. pneumoniae</i>	більше 30 видів	<i>U. cati</i> <i>U. diversum</i> <i>U. felinum</i> <i>U. gallorale</i> <i>U. urealyticum</i>
Типовий вид	<i>A. laidlawii</i>	<i>A. abactoclasticum</i>		<i>M. mycoides</i>	<i>S. citri</i>	

### Мета:

- загальна: оволодіти мікробіологічною діагностикою хвороб, спричинених мікоплазмами;
- конкретна:
  - а) знати:
    - правила безпеки при роботі з біологічним матеріалом (Державні санітарні правила – ДСП 9.9.5.03599).

б) вміти:

- 1) підготувати робоче місце лаборанта;
- 2) дотримуватися правил роботи і техніки безпеки з інфікованим матеріалом, культурами мікроорганізмів, апаратурою;
- 3) відбирати та транспортувати матеріал для дослідження при підозрі на інфекцію, обумовлену мікоплазмами;
- 4) готувати матеріал, який надійшов від хворого з підозрою на мікоплазмоз;
- 5) досліджувати матеріал за допомогою методів, призначених для виявлення мікоплазм;
- 6) давати оцінку результатам дослідження та заповнювати відповідну лабораторну документацію.

**Матеріальне та методичне забезпечення теми:** музейні мікропрепарати, бланки направлень, мікроскоп, імерсійне масло, дезінфікуючий розчин, таблиці, атлас.

### **Зміст заняття**

Етіологію захворювання, спричиненого мікоплазмами (плеввропневмонію великої рогатої худоби) вперше вивчав Л. Пастер. Лише у 1898 р. Е. Нокар і Е. Ру отримали культуру збудника плеввропневмонії.

Назва «мікоплазми» походить від грецького слова *mykos*, що означає «м'який». Ці мікроорганізми мають м'яку оболонку (*molluscites* – «нижня шкіра»).

*Мікоплазми* складають особливий великий клас мікроорганізмів, характерними ознаками яких є наступні:

- малі розміри життєздатних частинок, близьких до розмірів вірусів;
- відсутність ригідної клітинної стінки;
- вміст у клітинах ДНК та РНК на відміну від вірусів, що мають одну з кислот;
- здатність рости на вільних від клітин поживних середовищах; на щільних середовищах центр колоній мікоплазми востає у середовище, а периферія ажурна; в організмі прикріплюються до мембрани клітин (мембранні паразити);
- розмноження шляхом бінарного ділення, як і у бактерій; здатність брунькуватися;
- поліморфізм клітин – крім звичайних овоїдних клітин мають ниткоподібні, зірчасті форми;
- ріст мікоплазм пригнічують тетрацикліни, макроліди; не ефективні антибіотики, що впливають на синтез клітинної стінки (пеніциліни).

Перераховані властивості мікоплазм, що відрізняють їх від бактерій, є підставою для виділення їх в особливий клас *Mollicutes*. Людина є природним господарем 14 видів мікоплазм. За місцем існування мікоплазми, що живуть в організмі людини, діляться на орофарингеальні та генітальні види.

Найбільш часто із геніталій виділяють *Ureaplasma urealyticum* і *Mycoplasma hominis*, які добре ростуть на спеціальних живильних середовищах. *Mycoplasma genitalium* належить до видів, що важко культивуються. Для виявлення цього виду потрібно застосування полімеразної ланцюгової реакції або інших молекулярно-біологічних технологій.

*M. hominis* і *U. urealyticum* присутні у піхві, уретрі, кишечнику у 20–75 % здорових людей. Численні клініко-мікробіологічні дослідження не змогли дати відповідь на запитання про роль мікоплазм у акушерсько-гінекологічній та неонатологічній інфекційній патології, у всякому разі, однозначної відповіді до цього часу немає

Багато років молекули відносили до вірусів, тому що вони здатні проходити через фільтри з діаметром пір 0,45 і навіть 0,22 мкм. У 1930-х роках, коли концепція вірусів була більш чітко сформульована, мікоплазми стали відносити до бактерій. У 1950-х роках деякі види мікоплазм відносили до L-форм бактерій, у яких відсутня клітинна стінка, і тільки в 1960-х роках мікоплазми зайняли те місце в таксономії, яке вони займають і зараз. Належність бактеріальних видів до мікоплазм визначає їх здатність проходити через бактеріальні фільтри і відсутність у них клітинної стінки.

Мікоплазми відносять до найдрібніших із прокаріотів. Вважають, що вони походять від грампозитивних бактерій і ближче за всіх знаходяться до клостридій. У мікоплазм порівняно з іншими бактеріями частіше виникають мутації, що говорить про їх постійну еволюцію. Мікоплазми вважаються поверхневими паразитами клітин слизових оболонок. Інфекції, які вони викликають, рідко призводять до летального результату.

Мікоплазми взаємодіють із багатьма компонентами імунної системи, індукуючи активацію макрофагів і продукцію цитокінів. Деякі компоненти мікоплазмової клітини можуть діяти як суперантигени, і в літературі описано кілька випадків аутоімунних реакцій. Відкриття мікоплазмових адгезинів, відповідальних за прикріплення до клітин хазяїна, значно сприяло усвідомленню механізмів патогенезу. В останні роки інтенсивно вивчаються механізми ухилення різних видів мікоплазм від імунної відповіді хазяїна, обумовлені антигенними варіантами поверхневих компонентів. Показано, що мікоплазми здатні проникати в клітини хазяїна і викликати злиття клітин, апоптоз і навіть онкогенні ефекти.

Дискусії про локалізацію мікоплазм на поверхні клітин або внутрішньоклітинно ведуться до цих пір. У 1970-х і 1980-х роках велика частина доказів була на боці поверхневої локалізації мікоплазм. Однак уже в 1989 р. за допомогою електронної мікроскопії був виявлений внутрішньоклітинний вірусоподібний інфекційний агент, який згодом виявився штамом *M. fermentans*. Пізніше та ж група дослідників виявила ще один новий вид мікоплазм, який виявився здатним проникати в еукаріотичні клітини за

допомогою спеціалізованих подовжених структур, що дозволило назвати його *M. penetrans*. Крім того, це явище пізніше було описане і в уrogenітальних клітинах інфікованого пацієнта, що дозволило припустити його існування *in vivo*.

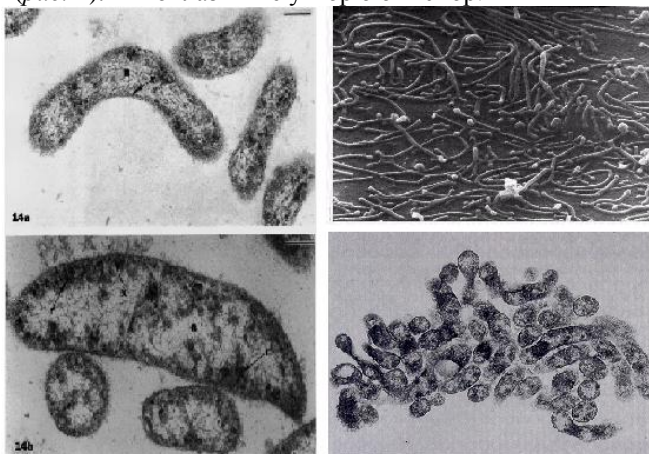
Отримання переконливих доказів внутрішньоклітинної персистенції мікоплазм могло б якимось чином пояснити труднощі їх ерадикації антибіотиками.

### ***Морфологічні та тинкторіальні властивості***

Відмінними, унікальними для прокаріотів рисами мікоплазм є наступні.

1. Відсутність ригідної клітинної стінки та її попередників, що обумовлює ряд біологічних властивостей мікоплазм: поліморфізм їх клітин, пластичність, осмотичну чутливість, здатність проходити через пори з діаметром 0,22 мкм, резистентність до різних агентів, що пригнічують синтез клітинної стінки, і в тому числі до пеніциліну, його похідних і синтетичних пеніцилінів. Усі мікоплазми грамнегативні, але за Грамом не забарвлюються.

Поліморфізм мікоплазм проявляється у тому, що всі колонії складаються з різноманітних елементів: паличок, кокоподібних клітин, куль різної оптичної щільності, ниток різної довжини (рис. 1). Способи репродукції цих різноманітних структур множинні: брунькування, сегментація гіллястих і ланцюгових форм, бінарний поділ, розпад ниток на окремі кокоподібні елементи (рис. 2). Мікоплазми не утворюють спор.



**Рис. 1.** Поліморфізм мікоплазм

2. Мінімальний розмір генома – 500–1 000 МД, найменший для прокаріотів (1/16 генома *E. coli*, 1/10 генома рикетсій). Простота організації, розмір генома визначають обмеженість біосинтетичних можливостей мікоплазм і, отже, їх високі вимоги до умов культивування.

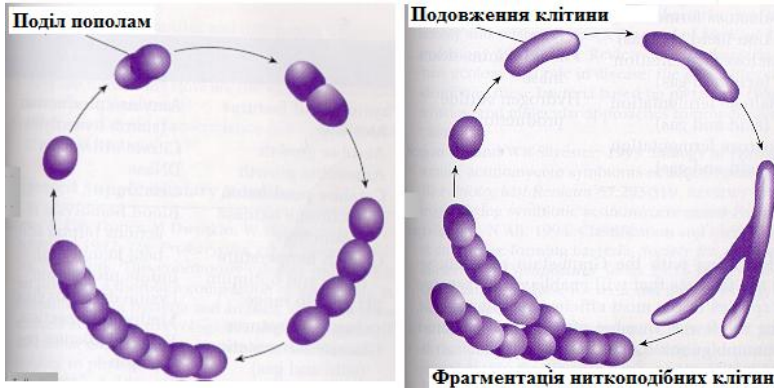


Рис. 2. Способи репродукції мікоплазм

3. Мінімальна кількість органел – 3-шарова цитоплазматична мембрана, прокаріотичний нуклеоїд і рибосоми.

4. Низьке співвідношення Г + Ц пар у ДНК, у більшості видів 25–30 %. Винятком є *M. pneumoniae*, у якій Г + Ц пари складають 39–40 %. Теоретичний мінімум вмісту Г + Ц, необхідного для кодування білків з нормальним амінокислотним набором, дорівнює 26 %, тому багато еволюціоністів вважають, що мікоплазми знаходяться на межі життя.

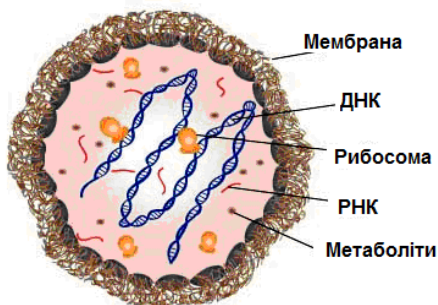
5. Здатність паразитувати на мембрані клітин еукаріот – дуже важлива властивість, що відрізняє мікоплазми від хламідій (останні, як відомо, є внутрішньоклітинними паразитами). Мікоплазми – мембранні паразити. Вони можуть бути виявлені всередині лише тих клітин, які здатні до фагоцитозу, за винятком, мабуть, *M. penetrans* і деяких штамів *M. fermentans*, які активно проникають у клітини. Здатність мікоплазм паразитувати на мембрані еукаріотичної клітини багато в чому визначає патогенез спричинених ними інфекцій.

6. Здатність рости на різних поживних середовищах і утворювати на поверхні агару колонії діаметром 0,1–0,3 мм (мікоплазми) і 0,01–0,03 мм (уреаплазми) з опуклим центром, який вростає в агар і ніжною, часто ажурною периферією. Типові колонії схожі на яечню («fried egg»).

7. Ріст мікоплазм у середовищі пригнічується специфічними імунними сироватками, що виявляється в реакції нейтралізації або пригнічення росту, або в реакції інгібіції метаболізму.

Мембрани мікоплазм схожі на мембрани клітин еукаріот, вони асиметричні, зовнішній шар товщий за внутрішній (рис. 3). Мікоплазмозна мембрана – це рухома система, що складається з 2 білкових шарів (зовнішнього і внутрішнього), занурених у внутрішній ліпідний шар. Зовнішній шар мембрани більш текучий, ніж внутрішній. Білки у мембрані становлять близько 40 %. Периферичні білки легко вимиваються з мембрани при зміні

pH і іонної сили розчину, тоді як інтегральні гідрофобні білки можна виділити тільки при обробці детергентами. Мембрани вкочають вуглеводмісні сполуки: глікопротеїди, полісахариди і ліпополісахариди. На частку ліпідів припадає близько 40 %, з них 60 % – нейтральні ліпіди. Головний компонент останніх – холестерин, він є необхідною складовою середовища культивування.



**Рис. 3.** Схема будови клітини мікоплазм

Відсутність ряду ферментних систем повинна була б поставити мікоплазми в надзвичайно не вигідне становище при конкуренції з іншими мікроорганізмами. Однак слід мати на увазі, що клітини мікоплазм дуже тісно пов'язані з клітинами господаря, і відсутність деяких ферментних систем компенсується наявністю ферментів і механізмів, за допомогою яких мікоплазми отримують необхідні речовини з клітин вищих організмів.

Морфологія, патогенність і чутливість мікоплазм до лікарських препаратів пов'язані з наявністю аутоантигенів і можуть змінюватися залежно від складу живильного середовища довкола них. Субкультуровані мікоплазми здатні змінювати чутливість до антибактеріальних засобів. Крім того, вони мають властивість вбудовувати у свої мембрани антигенні компоненти з субстратів поживного середовища, а також з тканин господаря.

*M. genitalium* – це найдрібніша з відомих на сьогоднішній день бактерій, її геном становить 580 кбр. *M. genitalium* належить до рухливих видів мікоплазм, подібно до більшості рухомих бактерій, має колбоподібну форму і використовує подовжену термінальну структуру для прикріплення до поверхні клітин і забезпечення змінного руху. Швидкість її пересування становить приблизно 0,1 мкм/с. За прикріплення до поверхонь оточуючих клітин відповідають білки-адгезини, головним з яких у *M. genitalium* є білок MgPa.

### **Культивування**

Мікоплазми здатні розмножуватися на безклітинних поживних середовищах, але для їх росту необхідні холестерин, жирні кислоти, нативний білок, нуклеїнові кислоти.



У рідких поживних середовищах вони утворюють незначне помутніння або опалесценцію.

На щільних середовищах – дуже дрібні колонії діаметром від 0,1 до 0,6 мм, округлої форми із зубчастим краєм, зморщеною поверхнею. Вони врастають у поживне середовище і мають вигляд виливної яєчні (рис. 4).

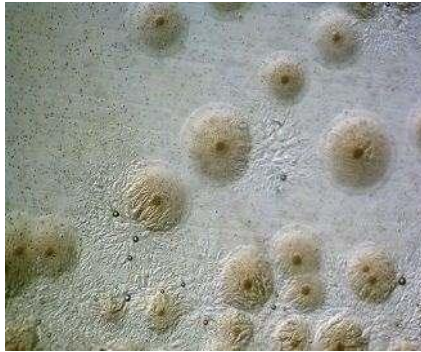


Рис. 4. Колонії мікоплазм на поживному середовищі

Для культивування мікоплазм використовують також курячий ембріон.

Унаслідок того, що мікоплазми можуть тривалий час персистувати на мембранах клітин людей і тварин, антигени цих клітин можуть включатися до мембрани мікоплазм. Це може стати причиною антигенної мімікрії та призвести до розвитку аутоімунної хвороби.

Повільний ріст *M. genitalium* на поживних середовищах не дозволяє детально вивчити біологічні властивості мікроорганізму.

Відомо, що за цілою низкою ознак *M. genitalium* схожа з іншим патогенним для людини видом мікоплазм – *M. pneumoniae*. Серед цих властивостей, крім вимогливості до поживних середовищ і повільного росту, дослідники відзначають здатність обох видів мікоплазм прикріплюватися до скла, зануреного в поживне середовище.

Унікальна особливість *U. urealyticum* – потужна система уреаз. Це визначило назву, а також принципи виділення й ідентифікації мікоплазми. Культуральними особливостями уреоплазм є те, що їхній ріст пригнічується талією ацетатом, до якого не чутливі інші види. Разом із тим для вирощування *M. hominis* і *M. genitalium* важлива наявність у поживному середовищі глюкози, аргініну й талію ацетату. Крім того, рН поживного середовища для вирощування *M. hominis* і *M. genitalium* має становити 7,0, а для *U. urealyticum* – 6,0. Особливість *M. hominis* – здатність розкладати аргінін. Вони не володіють уреазною, фосфатазною і ліпазною активністю, а також не спричиняють редукцію тетразолію, гемолізу і гемаглютинації еритроцитів. Для *M. genitalium* характерним є те, що вони розкладають глюкозу, але не аргінін і сечовину.

### **Антигенні властивості**

Антигенній структурі мікоплазм притаманна наявність двох груп антигенів: мембранних і цитоплазматичних. При цьому до складу мембранних антигенів входять білкові, ліпідні й полісахаридні компоненти. Мембрана мікоплазм має два білкових шари (зовнішній і внутрішній), занурені у внутрішній ліпідний шар. Мембрани включають вуглеводовмісні сполуки: глікопротеїди, полісахариди і ліпополісахариди. Білкові антигени мікоплазм локалізуються переважно в глибині мембранного матриксу і зумовлюють реакції клітинного імунітету. Крім того, вони здатні викликати утворення комплексів антиген–антитіло, що зв'язують комплемент і стимулюють утворення місцевих лімфоцитарних інфільтратів. Деякі мембранні білки виконують роль адгезинів. У *M. pneumoniae* головним адгезином і фактором патогенності є білок P1 з мол. м. 168 000, у *M. genitalium* білки P 32 000 і P 140 000, крім цих адгезинів у *M. genitalium* є ще високомолекулярні поліпептиди HMW<sub>1</sub>, HMW<sub>2</sub>, HMW<sub>3</sub>, що виконують роль адгезинів. У *M. hominis* основні адгезини P120 000, Lmp і Vaa є ліпопротеїдами, у *U. urealyticum* – антиген MBA. Моноклональні антитіла до адгезинів заважають зв'язуванню мікоплазм з клітиною й розвитку інфекції. Для мембранних антигенів характерна велика варіабельність. Під впливом сигналу зовнішнього середовища вони диференційно експресуються, що часто спостерігається при переході гострої інфекції у хронічну персистенцію.

**Стійкість до факторів зовнішнього середовища.** Через відсутність клітинної стінки мікоплазми нестійкі до механічних, фізичних і хімічних факторів.

Рівень відносної вологості і температури зовнішнього середовища визначають виживання мікоплазм у аерозолях. Найменша загибель визначається при відносній вологості 10–20 %, а найбільша – при 40–60 %. Підвищена температура при будь-яких режимах вологості скорочує строки виживання мікоплазм у аерозолях. Ультрафіолетові промені також знижують виживання цих мікроорганізмів. Оптимальне значення рН для мікоплазм варіює у межах 7,5–8,0; уреоплазми дуже чутливі до лужних значень рН, оптимальний рівень рН для них –  $6,0 \pm 0,2$ . При температурі 37 °С мікоплазми виживають у дистильованій воді 60 хв, в ізотонічному розчині натрію хлориду – 120 хв, у розчині Рінгера – 60 хв, у фосфатному буфері при рН 7,0 – 90 хв, при рН 5,6 – 30 хв.

Мікоплазми зберігаються у ліофілізованому стані 5 років і більше без змін біологічних властивостей, лізуються ефіром і хлороформом, чутливі до лугів. Фенол у концентрації 1:200, перекис водню 1 : 2 000–1 : 1 000, перманганат калію 1 : 1 000 є інгібіторами мікоплазм.

Неорганічні солі, необхідні для розвитку мікоплазм, у визначених концентраціях чинять пригнічуючу дію на ці мікроорганізми. Натрію хлорид

у концентрації вище 0,04–0,06 М пригнічує ріст деяких видів мікоплазм. Солі марганцю, цинку, кобальту й заліза також чинять інгібуючу дію. На відміну від більшості бактерій мікоплазми мають високу резистентність до ацетату талію. Його додавають до поживних середовищ у концентрації 0,8 %. Уреаплазми, навпаки, до нього чутливі, у зв'язку з чим його не рекомендують додавати у середовища при виділенні уреоплазм від хворих.

### **Фактори патогенності**

Факторами патогенності є адгезини, екзотоксини (нейротоксин у *M. pneumoniae*), ендотоксини, ферменти агресії, перехреснореагуючі антигени; мікоплазми здатні також до гемадсорбції, гемаглютинації, гемолізу, цитотоксичної дії.

### **Епідеміологічна характеристика мікоплазмозів**

Родина мікоплазм нараховує понад 100 видів. Мікоплазми виділяють з рослин, від молосків, комах риб, птахів і ссавців. У складі нормальної мікрофлори людини перебуває 16 видів мікоплазм, що населяють слизові оболонки очей, дихальних шляхів, травного тракту, сечостатевих органів.

Людина є природним господарем *M. buccale*, *M. faucium*, *M. fermentans*, *M. genitalium*, *M. lipophilum*, *M. orale*, *M. hominis*, *M. salivans*, *M. penetrans*, *M. pirum*, *M. pneumoniae*, *M. spermatophilum*, *U. urealyticum*, *Acholeplasma laidlawii*. Рідше від людини виділяють *M. primatum* й інші види, природними господарями яких прийнято вважати різних тварин.

З організму людини найчастіше виділяють мікоплазми, що входять до складу двох родів: *Mycoplasma* і *Ureaplasma*, серед яких є патогенні й сапрофітні види. Найбільш поширеним захворюванням є мікоплазмоз пневмонія або респіраторний мікоплазмоз. У розвинених країнах як збудник пневмонії мікоплазма займає III місце після пневмокока і леґіонел. Доведено, що вади розвитку плода, мертвонародженість, рання дитяча смертність часто пов'язані зі внутрішньоутробним зараженням плода мікоплазмами.

Мікоплазми ускладнюють перебіг багатьох вірусних інфекцій, особливо грипу та парагрипу. При змішаній мікоплазмозо-гриповій інфекції летальність може досягати 10 % .

*M. hominis* присутній на слизових оболонках і у виділеннях 20 % здорових людей. Новонароджені діти отримують генітальні мікоплазми під час пологів при проходженні через родовий канал матері, у них *M. hominis* і *U. urealyticum* можуть бути виділені з порожнини рота, носа, глотки, геніталій, сечі, частіше у дівчаток, ніж у хлопчиків. Колонізація сечостатевих шляхів у дітей транзитрна і зникає досить швидко, але у 5–20 % вона зберігається і в пубертатному віці.

Передача генітальних мікоплазм відбувається при статевому контакті. Тому вона залежить від характеру статевих зв'язків, числа статевих партнерів, присутності інших патогенних агентів, що передаються статевим

шляхом. Колонізація піхви генітальними мікоплазмами зустрічається в 2–3 рази частіше у жінок, ніж колонізація уретри у чоловіків.

Уреаплазми знаходять у 40–80 % здорових людей, найбільш часто при негонококовому уретриті, пієлонефриті, безплідді, бактеріальному вагінозі.

Захворювання на мікоплазмоз реєструється повсюдно. Джерелом інфекції є хворі люди, носії й особи, що перехворіли на безсимптомну форму мікоплазмозу. У патології людини найбільшу роль відіграють *M. pneumoniae*, *M. hominis*, *U. urealyticum*.

*M. pneumoniae* спричинює до 20 % всіх пневмоній. Найбільш чутливими до інфікування є діти та підлітки віком від 5 до 15 років. Основний шлях передачі – повітряно-краплинний. Інкубаційний період триває 7–14 днів, іноді до 25 днів. Збудник адсорбується на слизовій оболонці верхніх дихальних шляхів, розмножується й активно поширюється по слизовій оболонці трахеї і бронхів до альвеол і проникає в міжальвеолярні перегородки (рис. 5). Внаслідок цього розвиваються місцеві запальні процеси: фарингіт, бронхіт, пневмонія, утворюються інфільтрати.

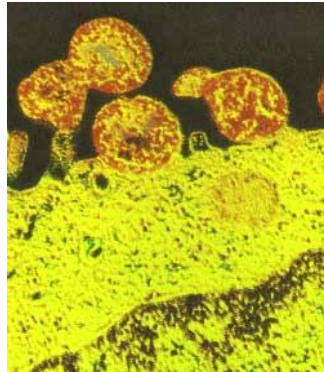


Рис. 5. Мікоплазми на війках миготливого епітелію верхніх дихальних шляхів

Хвороба зазвичай має доброякісний перебіг. Інколи відбувається дисемінація (від лат. *disseminatio* – поширення) збудника по організму, що призводить до розвитку артритів, менінгоенцефалітів, шкірних висипів, гемолітичної анемії.

Імунітет після гострої інфекції зберігається протягом 5–10 років.

*M. hominis* паразитує на слизових оболонках нижніх відділів сечостатевої системи (сечівник, піхва, шийка матки), рідко – на слизовій оболонці зива і глотки. Основний шлях передачі – статевий. Найчастіше виявляється у повій, наркоманів, гомосексуалістів. У різних країнах захворюваність варіює в межах 10–50 %. Отриманню точної інформації перешкоджає безсимптомне носійство *M. hominis*. У чоловіків збудник переважно спричинює уретрити і простатити, у жінок – уретрити, цервіцити (від лат. *cervix uteri* – шийка матки), запалення органів таза: сальпінгіт (від грец. *salpinx* – труба), оофорити (від новолат. *oophoron* – яєчник), ендометрит (від грец. *endon* – внутрішній і *metra* – матка), аднексит (від лат. *adnexa* – придатки) тощо.

*M. hominis* виділяють від клінічно здорових жінок. Вважають, що запальні процеси виникають тоді, коли кількість мікоплазм перевищує певну межу. Ця межа поки що невідома. Запалення органів малого таза мікоплазмозової етіології призводить до розвитку безплідності. Особливо небезпечна *M. hominis* для вагітних. Вона спричинює недоношеність, передчасні пологи, внутрішньоутробне зараження плода, призводить до порушення хро-

мосомного апарату і формування вад розвитку плода, розвитку післяпологового сепсису. *M. hominis* виділяють у 50–60 % жінок з інфекційним абортom.

У разі зараження новонароджених під час пологів мікоплазми проникають через слизові оболонки ротової порожнини, статевих органів, дихальних шляхів, кон'юнктиву.

***Ureaplasma urealyticum*** у 25–80 % випадків виявляється у хворих і клінічно здорових осіб, які мають безладні статеві стосунки. Основне джерело – хворі люди, шлях передачі – статевий. Основні групи ризику – повії, гомосексуалісти, наркомани; уреаплазми часто виявляють у хворих на гонорею, трихомоніаз, кандидоз.

У чоловіків збудник спричинює уретрити, простатити. Адсорбуючись на мембрані сперматозоїдів, уреаплазми пригнічують їх рухливість, змінюють форму, що призводить до чоловічої безплідності.

У жінок інфекція в основному має стертий перебіг, але будь-яка вторинна інфекція грибкової, протозойної чи бактеріальної етіології провокує прояв запальних процесів уреаплазмової природи: цистити, сальпінгіти, вагініти (від лат. *vagina* – піхва). Доведена роль уреаплазми у розвитку сечокам'яної хвороби, а також післяпологового сепсису.

У разі внутрішньоутробного зараження уражаються органи дихання, зору, нирки, печінка, центральна нервова система. Це може спричинити загибель плода.

### **Основи патогенезу мікоплазмозів**

Мікоплазми проникають в організм повітряно-краплинним або контактним шляхом, у тому числі статевим, долають слизовий шар, що покриває епітелій, і досягають клітин епітеліальних тканин, ймовірно, за допомогою хемотаксису.

Деякі види мікоплазм мають мікрворсинки і спеціальні термінальні структури, що містять актиноподібний білок, за допомогою яких мікоплазми активно рухаються і прикріплюються до клітин інфікованого організму. Мікоплазми можуть адсорбуватися практично на будь-яких клітинах еукаріот, розмножуватися на їх поверхні й у міжклітинних просторах, у безпосередній близькості від клітинних мембран. Контакт між мембранами мікоплазм і мембранами клітин хазяїна настільки тісний, що є підстави говорити у деяких випадках про злиття мембран, що контактують. Здатність до такого злиття розглядається як один із факторів патогенності мікоплазм. Процес прикріплення мікоплазм до клітин хазяїна складається з двох фаз.

Перша – фаза неспецифічної взаємодії – здійснюється в результаті броунівського руху мікоплазм і випадкових зіткнень зі клітинами господаря. Наступна фаза – ліганд-рецепторна взаємодія – досить детально вивчена у деяких видів мікоплазм. Відомо, що головними адгезинами *M. pneumoniae* є білок P1 з молекулярною масою 160 kD, хоча й інші білки з меншою молекулярною масою також беруть участь у зв'язуванні. Деякі види мікоплазм взаємодіють з клітиною господаря за типом ліпід-ліпідного прили-

панья, при цьому показана можливість обміну окремими фрагментами мембран, що контактують. Установлено також, що в адгезії мікоплазм беруть участь гідрофобні зв'язки. Природа рецепторів мембрани клітин-мішеней господаря також активно досліджується. Так, у мембрані еритроцитів це сіалоглікопротеїни. Зв'язування мікоплазм з рецепторами глікопротеїнової природи може призвести до порушення нормальних фізіологічних функцій цих рецепторів, клітинних контактів, клітинної кооперації і взаємодії між клітинами у процесі росту, зміни архітекtonіки мембран і іонного транспорту через мембрану. У результаті взаємодії мікоплазм і клітин може відбуватися зміна антигенного профілю взаємодіючих мембран і, як наслідок, індукція різних аутоімунних реакцій. Адсорбція мікоплазм на лімфоцитах може привести до неспецифічної поліклональної активації Т-і В-клітин і до подальшого розвитку аутоімунних реакцій або до пригнічення проліферації лімфоцитів і, отже, імуносупресивного ефекту. Міцне зв'язування мікоплазм із клітиною забезпечує їх стійкість до механічного руху війок клітин миготливого епітелію, а переважне розташування мікоплазм, що адсорбувалися в інвагінатах клітини-господаря, захищає від дії антитіл, що сприяє їх тривалій персистенції.

В основі патогенезу мікоплазмозів лежить ушкодження ендотелію кровоносних судин, порушення мікроциркуляції, розвиток стазу та мікротромбозів, що супроводжується набряком та фіброзним переродженням тканин. Такі неспецифічні реакції призводять до розвитку імунопатологічних процесів.

Факторами вірулентності уреоплазм є адгезини, що забезпечують тропність бактерій до епітеліальних клітин, сперматозоонів; протеази, що розщеплюють Ig А людини; уреаза, яка гідролізує сечовину з утворенням аміаку, який має токсичний ефект і чинить токсичну дію на клітини.

Більшість видів мікоплазм людини є, мабуть, комменсалами здорових людей. Інші види (*M. pneumoniae*, *M. hominis*, *U. urealyticum*, *M. fermentans*, *M. penetrans*) володіють потенційною патогенністю.

### **Клінічні прояви**

Інфекції, що викликаються мікоплазмами, мають такі характерні риси.

1. За клініко-морфологічними ознаками мікоплазмозі інфекції схожі з захворюваннями, викликаними іншими мікроорганізмами: хламідіями, вірусами, грибами, тобто подібні до інших поліетіологічних захворювань; вони не мають власних клінічних проявів, що вельми ускладнює діагностику і свідчить про необхідність застосування методів лабораторної діагностики та отримання епідеміологічних даних.

2. Мікоплазмозі інфекції можуть протікати гостро, але частіше мають хронічний рецидивуючий перебіг.

3. Розвиток мікоплазмозів значною мірою визначається чутливістю господаря до інфекції. Дані про генетичне детермінування чутливості до мі-

коплазм отримані при моделюванні інфекції на конгенних мишах. Логічно припустити, що людська популяція також неоднорідна за цією ознакою. З цієї теми вже з'явилися перші публікації.

4. Характер патологічного процесу залежить від вхідних воріт інфекції. Так, *M. hominis* може викликати у людини фарингіт і захворювання урогенітального тракту. У літературі описано декілька випадків пневмонії, викликаної *M. hominis*. При внутрішньоутробному мікоплазмозі плода інфекція розвивається у верхніх дихальних шляхах, легенях, урогенітальному тракті, ЦНС.

5. Мікоплазмові інфекції часто супроводжуються різними імунопатологічними реакціями, які ускладнюють і багато у чому визначають перебіг інфекції. Хворі з дефектами імунної системи особливо чутливі до мікоплазмових інфекцій. Імуносупресивна хіміотерапія при трансплантації органів і тканин або при пухлинних процесах збільшує ризик інфекцій, пов'язаних з мікоплазмами – представниками нормальної мікрофлори людини, а також тими, які виникають унаслідок контакту з інфікованими тваринами.

6. Мікоплазми можуть викликати локальну інфекцію і не проникати у підлеглі тканини. Однак тканинний тропізм легко долається, часто спостерігається дисемінація збудника у тканинах і органах, що призводить до генералізації процесу.

7. Для мікоплазмових інфекцій характерна тривала персистенція збудника в інфікованому організмі. Однією з причин є широка варіабельність мембранних білків, яка значною мірою пов'язана з наявністю у геномі їх множинних генних копій і з можливістю гомологічних рекомбінацій між ними. Завдяки цьому збільшується кодуюча здатність їх маленького геному, генетична різноманітність мікоплазм і, отже, їх здатність уникати імунного нагляду господаря.

***M. hominis***. Цей вид мікоплазм відомий з 1937 р., коли мікроорганізм був виділений із гною бартолінієвої залози. Зазвичай він наявний у вагінальному вмісті як здорових жінок, так і тих, що страждають на деякі захворювання, наприклад бактеріальні вагінози. При деяких ускладненнях післяпологового періоду цей мікроорганізм виділяється з ендометрія і крові, а також із маткових труб при сальпінгоофориті.

Вперше описаним захворюванням, обумовленим *M. hominis*, був гнійний бартолініт. Пізніше виникли сумніви, тому що гнійне відокремлення могло бути контамінованим виділеннями з піхви. У даний час вважають, що *M. hominis* не є частим збудником бартолініту. Найпоширенішим захворюванням, при якому майже завжди присутні генітальні мікоплазми, є бактеріальний вагіноз. При цьому захворюванні, крім генітальних мікоплазм, у виділеннях з піхви присутні багато інших мікроорганізмів, зокрема анаеробні бактерії – гарднерели, превотели, анаеробні вібріони, які є симбіонтами мікоплазм. При гонорей, трихомонозі, хламідіозі часто також знаходять обидва види генітальних мікоплазм.

Запальні захворювання органів малого таза можуть бути пов'язані з *M. hominis*, що підтверджується не тільки виділенням цього виду мікоплазм з ураженого органа, але також динамікою наростання антитіл до нього у крові і підвищенням рівня С-реактивного білка.

У початковий період вивчення ролі *M. hominis* була встановлена часта асоціація присутності цього виду мікоплазм і несприятливого перебігу вагітності при передчасних пологах, мимовільних викиднях, деяких захворюваннях новонароджених дітей. Часто мікоплазми виділялися з родових шляхів, тканин плоду, від хворих новонароджених дітей. У даний час ускладнення вагітності та інфекцію у дітей більше пов'язують з іншим видом генітальних мікоплазм – *U. urealyticum*.

***U. urealyticum*.** За антигенною будовою і генотипом цей вид генітальних мікоплазм поділений на кілька сероварів і біоварів. У даний час розрізняють біовари Parvum і T-960, при цьому біовар Parvum зараз виділено у окремих видів *U. parvum*. Такий поділ видів уреаплазм заснований на аналізі генів і, можливо, внесе ясність у розділення патогенних і непатогенних уреаплазм. Так, інвазивні штами у 79,4 % випадків відносяться до *U. parvum*, їх частіше виділяють із навколоплідних вод жінок із несприятливим результатом вагітності. Вид *U. parvum* містить 3 підвиди, але зв'язок окремих підвидів з патогенними властивостями й інвазивністю не доведений. Слід пам'ятати, що в одного пацієнта або пацієнтки можуть бути виявлені кілька підвидів і серотипів уреаплазм. Біовар *U. urealyticum* T-960 виділяють при запальних захворюваннях органів малого таза.

Уреаплазми визнають збудниками уретриту у чоловіків (так званий не-гонококовий уретрит). Роль *U. urealyticum* при цьому захворюванні вважається доведеною, оскільки захворювання відтворено у добровольців з виникненням запального процесу в уретрі і появою М-антитіл до *U. urealyticum*. Описано також уреаплазмові простатити. В етіології цих захворювань певну роль грає також *M. genitalium*. Сучасні методи виявлення уреаплазм у сечі, спермі у безплідних чоловіків порівняно з морфологією спермій показали, що при великій концентрації уреаплазм деформується сперматозоїд, уреаплазми прикріплюються до голівки сперматозоїда у середній його частині, що може знижувати їх рухливість і фертильність.

Багато уваги приділено вивченню ролі *U. urealyticum* у походженні спонтанних абортів, мертвонародження і народження дітей з низькою масою тіла. Численні опубліковані дані недостатньо переконливо доводять «причетність» цих мікроорганізмів до перерахованих патологічних станів.

Генітальні мікоплазми здатні викликати післяабортні і післяпологові ускладнення, іноді досить важкі, з підвищенням температури тіла до 37,8 °С. Вони характеризуються підвищенням титру специфічних антитіл і С-реактивного білка. Висхідна інфекція характерна для передчасних пологів, коли генітальні мікоплазми проникають у навколоплідні води і при цілому навколоплідному міхурі. У цих випадках виникають запальні ділянки



в оболонках плода й ендометрії, обумовлені *U. urealyticum*. Ці дані лежать в основі сучасного уявлення про роль *U. urealyticum* у походженні само-вільних абортів і передчасних пологів.

Частота амніотичної інфекції тим вище, чим менше термін вагітності при передчасних пологах. Однак безсимптомна бактеріурія і бактеріальний вагіноз значно частіше, ніж присутність уреоплазм у статевому тракті, констатуються при передчасних пологах і розцінюються як їх причина. Висхідне інфікування навколоплідних вод і запальний процес, що виникає, асоціюються з продукцією інтерлейкінів і початком передчасних пологів.

Залишається неясним питання, чому в одних вагітних при наявності уреоплазм настає висхідна інфекція, а в інших – ні. Можливо, грає роль високий або низький ступінь колонізації піхви уреоплазмами.

Результати дослідження навколоплідних вод, отриманих при проведенні амніоцентезу, показали наявність у них уреоплазм в 1,8 % випадків. Переривання вагітності у другому триместрі наставало у 11,4 % жінок, які лікувалися еритроміцином, і у 44,4 % нелікованих, а передчасні пологи – в однакової кількості як у тих, що лікувалися, так і у тих що, не лікувалися. Передача уреоплазм від матері дитині спостерігалася у 38 % доношених дітей і у 95 % недоношених з низькою масою тіла при народженні.

Передача генітальних мікоплазм від матері дитині відбувається як антенатально, так і під час пологів. Колонізація шкірних покривів, слизових оболонок порожнини рота, глотки, сечостатевих органів зазвичай не супроводжується вираженими клінічними проявами. Лише у недоношених дітей *U. parvum* може викликати важкі захворювання легенів, головного мозку, іноді зі смертельним результатом. Уреоплазми у таких дітей виявляють у лікворі, рідині з мозкових шлуночків, трахеальному аспіраті. Один і той же біовар уреоплазм виявляється при дослідженні матеріалів, взятих із різних місць.

Чим вище кількісний вміст уреоплазм у статевих шляхах матері, тим частіше спостерігається колонізація новонароджених. До того ж ступінь колонізації строго корелює з несприятливим впливом на матір, плід, новонароджену дитину: спостерігається низька маса тіла дитини, частіше констатується хоріоамніоніт. При низькому рівні колонізації піхви генітальними мікоплазмами не спостерігається впливу на результат вагітності. Важкі летальні мікоплазмові ураження у недоношених новонароджених дітей описані переважно в 1990–1993 рр. Мабуть, вони не є частими і описані як казуїстичні.

***M. genitalium***. Цей вид мікоплазм відкритий у 1981 р. – пізніше, ніж інші генітальні мікоплазми, вивчений гірше за них через труднощі вирощування на живильних середовищах.

У зв'язку з тим, що *M. genitalium* важко культивується, дані про етіологічну роль цього мікроорганізму у розвитку запальних захворювань урогенітального тракту як жінок, так і чоловіків стали накопичуватися тільки

після розробки молекулярно-біологічних методів, заснованих на полімеразній ланцюговій реакції (ПЛР). Застосування методу ПЛР дозволило отримати докази того, що *M. genitalium* – це збудник, що передається статевим шляхом, здатний індукувати ряд захворювань репродуктивного тракту у чоловіків і жінок. Спектр цих захворювань аналогічний спектру захворювань, які викликаються двома іншими збудниками інфекції, що передаються статевим шляхом, *Chlamydia trachomatis* і *Neisseria gonorrhoeae*, і включає уретрит, цервіцит, ендометрит, запальні захворювання органів малого таза.

*M. genitalium* переважно інфікує епітелій уrogenітального тракту. Пошкодження тканин, індуковані *M. genitalium*, тільки частково можуть бути віднесені на рахунок мікоплазмових токсинів і шкідливих метаболітів, таких, як перекис водню і супероксиди, що, як відомо, секретує *M. genitalium*. Вважають, що при інфекції, спричиненій *M. pneumoniae*, тканини пошкоджуються в ході імунної відповіді хазяїна, і, ймовірно, те ж саме відбувається у випадку з *M. genitalium*.

Був опублікований цілий ряд робіт з вивчення ролі *M. genitalium* у розвитку уретриту, сумарний аналіз був проведений Jensen J. Всього було проаналізовано 23 дослідження, які налічували 5 455 пацієнтів. Поширеність *M. genitalium* склала 20,8 % (470 з 2 261) серед пацієнтів із негонококовим уретритом і 5,9 % (124 з 2 107) – серед пацієнтів контрольних груп. Аналіз досліджень, в яких наводилися також дані про хламідійну інфекцію, показав, що серед пацієнтів із негонококовим уретритом поширеність *M. genitalium* склала 19,3 % (345 з 1 786), а поширеність *C. trachomatis* – 27,7 % (496 з 1 786). При цьому *M. genitalium* виявлялися частіше у пацієнтів без хламідій, ніж у пацієнтів, інфікованих хламідіями. Таким чином, було підтверджено припущення, зроблене після перших робіт, що *M. genitalium* може самостійно індукувати уретрит у чоловіків.

Значно менше досліджень було присвячено вивченню етіологічної ролі *M. genitalium* у розвитку запальних захворювань уrogenітального тракту у жінок. Уже в перших роботах було показано, що даний мікроорганізм виявляється в уретральних мазках як від чоловіків, так і від жінок, проте роботи щодо вивчення кореляції між виявленням *M. genitalium* і діагнозом цервіциту були проведені через кілька років. У недавньому дослідженні, проведеному в США, було показано, що *M. genitalium* значно частіше виявлялися у жінок із цервіцитом (11%), ніж у жінок без цервіциту (5%). Далі, коли з групи пацієнток з цервіцитом були виключені пацієнтки, інфіковані *C. trachomatis* і/або *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium* залишалася строго асоційованою з цервіцитом, що ще раз свідчило на користь припущення, що *M. genitalium* може грати незалежну роль у розвитку цервіциту.

Кілька досліджень було проведено з метою встановлення ролі *M. genitalium* в індукції запальних захворювань органів малого таза (ЗЗОМТ). Як відомо, ЗЗОМТ – це синдром, викликаний поширенням мікроорганізмів із нижніх у верхні відділи уrogenітального тракту. Головна проблема всіх досліджень щодо етіології ЗЗОМТ – це встановлення діагнозу. Лапароскопія є «золотим стандартом» діагностики ЗЗОМТ, проте вона не завжди здійсненна в повсякденній клінічній практиці, і відмінності у методології встановлення діагнозу можуть бути джерелом отримання суперечливих даних.

У дослідженні Cohen та ін. *M. genitalium* були виявлені у 16 % жінок з ендометритом, що значно перевищувало частоту виявлення цих мікроорганізмів у жінок без ендометриту (2 %). Simms та ін. при обстеженні 45 жінок із ЗЗОМТ виявили *M. genitalium* у 9 з них (16 %). Ні в однієї пацієнтки контрольної групи цей мікроорганізм не був виявлений.

Відносно можливої ролі *M. genitalium* у розвитку безпліддя накопичені тільки непрямі докази. Так, Clausen та ін. досліджували сироватку крові жінок із безпліддям на наявність антитіл до *M. genitalium*. У 22 % (29 з 132) жінок із трубним безпліддям у сироватці крові були виявлені антитіла до *M. genitalium*, тоді як серед жінок контрольної групи частота їх виявлення склала лише 7 % (11 з 176).

Ряд досліджень був присвячений вивченню можливої ролі *M. genitalium* в індукції несприятливих наслідків вагітності, однак доказів залучення *M. genitalium* у ці процеси отримано не було. Також не було виявлено кореляції між виявленням *M. genitalium* і діагнозом бактеріального вагінозу.

**Імунітет.** Механізми активного впливу мікоплазм на захисні системи господаря є наступними.

1. Цитопатична дія (ЦПД) на макрофаги полягає у порушенні клітинної кооперації в індукції імунної відповіді.
2. Цитотоксична дія (ЦТД) на макрофаги.
3. Суперантигенні властивості ==> Глибокі порушення імунної відповіді.
4. Стимуляція Т-супресорів ==> Порушення індукції імунної відповіді.
5. Неспецифічна стимуляція лімфоцитів ==> Зрив толерантності до власних антигенів.

6. Наявність протеаз, що розщеплюють IgA.

7. Мікоплазмові інфекції є ко-факторами різних захворювань: СНІДу, пухлинних процесів, артритів, а також деяких комплексних синдромів неясної етіології: синдрому хронічної втоми, хвороби Крона та ін.

**Лабораторна діагностика мікоплазмозів.** Для виявлення мікоплазм використовуються наступні методи:

- культуральне дослідження з виділенням мікоплазм у клінічному матеріалі (переважно з кількісною оцінкою);
- метод імунофлюоресценції;
- імуноферментний аналіз;
- метод полімеразної ланцюгової реакції.

Для виявлення антигін проти мікоплазм використовують серологічні методи.

Загальноприйнятим методом лабораторної діагностики мікоплазмозу є пряма мікроскопія мазків, забарвлених за Романовським-Гімзою, яка дає змогу виявляти морфологічні структури мікоплазм, а також чисельність епітеліальних клітин і лейкоцитів. Разом із тим світлова мікроскопія не завжди дає можливість виявити мікоплазми через їхні дрібні розміри.

Класичний метод виявлення генітальних мікоплазм – культуральний метод, тобто посів на поживні середовища. Цей метод дає можливість оцінити кількість мікоплазм, які містяться у досліджуваному матеріалі. Багато дослідників використовують кількісні критерії у діагностиці, вважаючи, що концентрація уреоплазм понад  $10^4$  мікробних тіл у одному мілілітрі або грамі виділень має діагностичне значення, у той час як більш низькі концентрації не повинні враховуватися, оскільки таку кількість уреоплазми можна виявити у здорових людей.

Посів досліджуваного матеріалу зазвичай проводять на щільні й у рідкі поживні середовища, бажано використовувати два зразка середовищ для кожного клінічного матеріалу. Для досліджень відбирають матеріали з піхви, цервікального каналу шийки матки, уретри, а також сечу, сперму, секційний матеріал, навколоплідні води, плаценту, слиз із носоглотки. Одночасно проводиться посів на середовища з розведенням антибіотиків для визначення чутливості до них.

Слід підкреслити, що досі немає вітчизняних стандартизованих поживних середовищ для визначення чутливості мікоплазм до антибіотиків. Зарубіжні тест-системи, що випускаються у вигляді планшет, дозволяють виявити мікоплазми/уреоплазми, визначити їх кількість (більше або менше  $10^4$ ) і визначити чутливість мікоплазм до антибіотиків у двох концентраціях.

Для діагностичних цілей культуральні методи виділення *M. genitalium* непридатні, тому використовують генодіагностику, найбільш часто ПЛР.

Методи ампліфікації нуклеїнових кислот, зокрема ПЛР, спрощують лабораторну діагностику, однак при високій чутливості ПЛР та інших генних методик вони не можуть дати відповідь про кількість уреоплазм у клінічному зразку, а реєструють лише факт присутності генетичного матеріалу уреоплазм. Лише ПЛР у реальному часі за допомогою спеціальної апаратури забезпечує кількісне визначення копій ДНК мікоплазм або уреоплазм у матеріалі.

#### ***Загальні питання хіміопрофілактики і хіміотерапії мікоплазмозів.***

У зв'язку з тим, що генітальні мікоплазми є умовно-патогенною мікрофлорою піхви, рішення про необхідність терапії приймає лікар залежно від клінічної ситуації. При наявності клінічних проявів захворювання, доведеної етіологічної значущості мікоплазм призначають антибактеріальні препарати. При цьому важливо враховувати стан мікробіоценозу піхви. Мікоплазми чутливі до інгібіторів синтезу мембранних і внутрішньоцитоплазматичних білків.

Незважаючи на те, що патогенна роль мікоплазм остаточно не встановлена, серйозний характер цієї патології спонукає призначати етіотропну терапію. Порушення фертильності, репродуктивні втрати, захворювання у недоношених новонароджених дітей є підставою для лікування активними щодо генітальних мікоплазм антибіотиками: тетрациклінами, макролідами, азалідами, фторхінолонами, лінкозаміном, аміноглікозидами і хінолонами. Однак при церебральних ураженнях уреоплазмової етіології у недоношених дітей застосування доксицикліну не зробило клінічно ясного впливу на симптоматику. Застосування у таких же випадках еритромицину негативно впливало на судини, через які вводився препарат.

Обов'язковому лікуванню підлягає урогенітальна мікоплазмозна інфекція, викликана *M. genitalium*. Інші види мікоплазм (*M. hominis*, *M. fermentans*, *U. urealyticum*) відносяться до умовно-патогенних мікроорганізмів, тому лікування призначається тільки за наступних обставин: клінічні прояви інфекційно-запальних процесів у сечостатеви́х органах, при яких доведена етіологічна значимість цих видів мікоплазм; ступінь ризику майбутніх оперативних або інвазивних маніпуляцій; безпліддя, при якому доведена етіологічна роль мікоплазм.

У даний час у акушерсько-гінекологічній практиці, особливо в лікуванні вагітних, найбільш часто використовується джозаміцин (Вільпрафен), який призначається і вагітним жінкам з обтяженим акушерським анамнезом, якщо у них встановлена масивна мікоплазмозна колонізація піхви. При цьому Вільпрафен призначається всередину у дозі 500 мг 3 рази на день протягом 10 днів. Невагітним жінкам, а також чоловікам можливе призначення доксицикліну (Юнідокс Солютаб) всередину в дозі 100 мг 2 рази на день протягом 10 днів.

Статеві партнери хворих на мікоплазмоз підлягають обстеженню, а при виявленні інфекції – лікуванню.

Контрольне обстеження здійснюється через 2–3 тиж після завершення курсу протимікробної терапії.

**Профілактика.** Найчастіше проводиться неспецифічна профілактика. У стадії розробки знаходяться вакцини для профілактики захворювань, які спричинює *M. pneumoniae* (інактивовані, хімічні, а також живі, атенуйовані).

## УРОГЕНІТАЛЬНІ МІКОПЛАЗМОЗИ

***M. hominis.*** Геном *M. hominis* є кільцевою двоспіральною ДНК розміром 450 мД. *M. hominis* серологічно гетерогенна. Для різних серотипів характерна висока гомологія їх ДНК (52–100 %). Мембранні білки характеризуються варіабельністю. *M. hominis* нерухома і має наступні біохімічні властивості: розщеплює аргінін, не розщеплює глюкозу, слабо руйнує метиленовий синій, не має фосфатазної, ліпазної й уреазної активності, не

викликає редукції тетразолу, гемолізу і гемаглютинації еритроцитів, колонії не адсорбують еритроцити.

Таким чином, основним джерелом енергії для *M. hominis* є аргінін, який розкладається цією мікоплазмою шляхом 3-ступеневого гідролізу аргініндеаміназою. Виділення аміаку у процесі росту призводить до залуження середовища культивування, що викликає зміну забарвлення індикатора.

*M. hominis* здатна адсорбуватися на різних прокаріотичних і еукаріотичних клітинах, таких, як *N. gonorrhoeae*, клітинах людини і тварин в умовах *in vitro*, а також на сперматозоїдах людини. У зв'язуванні *M. hominis* з еукаріотичною клітиною беруть участь білки P100 і P50.

*M. hominis* часто контамінує перещеплювані клітини різного походження. Як правило, ця інфекція не супроводжується ЦПД і може бути виявлена лише спеціальними методами. При відсутності ЦПД *M. hominis* здатна викликати у клітинах хромосомні аберації.

*M. hominis* має протеолітичну і фосфоліпазну активність. Передбачається, що фосфоліпаза гідролізує фосфоліпіди клітин плаценти, що призводить до збільшення у них кількості арахідонової кислоти, активує синтез простагландинів, що, у свою чергу, може стати причиною спонтанних абортів, передчасних пологів, загибелі плода.

У присутності *M. hominis* змінюється включення тимідину й уридину в структурі ядра. Як і інші види мікоплазм, *M. hominis* володіє ендонуклеазами і впливає на нуклеїновий обмін інфікованих нею клітин.

***U. urealyticum*.** Уперше *U. urealyticum* була виділена від хворого на негонококовий уретрит у 1954 р. Спочатку уреаплазми були названі «Т-штамами мікоплазм» (tiny – найдрібніші), що пояснювалося їх дрібнішими, ніж у мікоплазм, розмірами колоній. Пізніше з'ясувалося, що при оптимізації умов культивування величина колоній уреаплазм зростає і наближається до розмірів колоній мікоплазм.

Найбільш характерною біологічною властивістю, що відрізняє уреаплазми від інших представників класу *Mollicutes*, є їх здатність гідролізувати сечовину до аміаку, тобто наявність уреазної активності.

Для уреаплазм характерний відносно швидкий ріст. Крива росту уреаплазм має схожість із кривою росту мікоплазм у межах латентної і ранньої логарифмічної фаз, проте логарифмічна фаза росту в них значно скорочена і вже через 16–18 год переходить у стаціонарну, тоді як у мікоплазм ця фаза становить 78 і більше годин. Оптимум рН ростового середовища трохи нижче, ніж у більшості мікоплазм – у межах 6,0–6,5; тоді як у мікоплазм 7,0–7,6. При виділенні уреаплазм з клінічного матеріалу проби інкубують до 3 діб і більше, тому що в цьому випадку латентна фаза може затягнутися. Титр КУО у рідкому поживному середовищі в уреаплазм нижче, ніж у мікоплазм – не більше ніж  $10^6$ – $10^7$  КУО/мл.

На щільному середовищі уреоплазми успішніше культивуються в атмосфері газових сумішей, що містять 5 % CO<sub>2</sub> і 95 % N<sub>2</sub>, або 5 % O<sub>2</sub>, 10 % CO<sub>2</sub>, 85 % N<sub>2</sub>. Середовище культивування повинно містити сечовину. Ацетат талію в середовище додавати не можна, тому що він пригнічує ріст уреоплазм. На ріст вказує інтенсивність залуження середовища, тобто зміни забарвлення індикатора, тому титр уреоплазм прийнято позначати у колір-утворюючих одиницях (КУО).

Клітини уреоплазм синтезують екстремембранний капсулоподібний компонент, що містить вуглеводи.

Унікальною для *Mollicutes* здатністю уреоплазм є наявність протеазної активності, спрямованої на IgA людини. У даний час відомо 14 серотипів уреоплазм, які поділяються на 2 біовари: біовар Paγvо включає 4 серотипи (1, 3, 6, 14), біовар T-960 – інші 10 серотипів.

В останні роки активно досліджується роль різних серотипів у виникненні інфекції. Отримано дані про переважну причетність представників біовара T-960 до розвитку хронічних патологічних станів, хоча їх не можна вважати остаточно доведеними. Від однієї людини можуть бути виділені одночасно уреоплазми різних серотипів.

Уреоплазми виділяють не тільки від людини. Вони виявлені також у мавп, великої рогатої худоби, кіз, овець, собак, кішок, хом'яків, мишей, птахів. Більшість уреоплазм тварин відноситься до виду *U. diversium*, а уреоплазми птахів виділені в окремий вид *U. gallorale*.

*U. urealyticum* здатна прикріпитися до різних клітин: епітеліальних клітин уретри, сперматозоїдів і перещеплюваних клітин різних ліній. Механізм зв'язування з клітинами подібні до тих, які встановлені для інших патогенних видів мікоплазм, зокрема, *M. pneumoniae*.

Дуже часто (до 75–80 % випадків) виявляються асоціації уреоплазм, мікоплазм і анаеробної мікрофлори (гاردнерела, мобілунокс). Оптимальне значення рН для розмноження мікоплазм – 6,5–8. У піхві в нормі рН становить 3,8–4,4.

Кислу реакцію підтримує молочна кислота, що утворюється лактобацилами з глікогену клітин слизової статевого тракту. У нормі 90–95 % мікроорганізмів складають лактобацили, на частку інших припадає 5–10 % (дифтероїди, стрептококи, стафілококи, кишкова паличка, гарднерела). У результаті різних несприятливих впливів, зокрема застосування антибіотиків, гормонотерапії, радіоактивного опромінення, погіршення умов життя і розвитку імунодефіциту, а також психічних стресів, виникає стан дисбіозу і зростає кількість умовно-патогенної мікрофлори. Її зростання супроводжується зміною рН від 3,8–4,4 до 6,8–8,5. Таким чином, створюються сприятливі умови для колонізації статевого тракту уреоплазмами і мікоплазмами.

Уреоплазма передається переважно статевим шляхом, а також контактно-побутовим. Можливий і вертикальний шлях передачі, який може здійсню-

ватися в результаті висхідної інфекції з піхви і цервікального каналу. Можливо внутрішньоутробне зараження плода.

**M. genitalium** була вперше виділена в 1981 р. з уретри двох чоловіків, які страждали на негонококовий уретрит. Клітини цієї мікоплазми мають термінальну, схожу на гарбуз органелу. За допомогою цієї структури клітини мікоплазми зв'язуються з еритроцитами й іншими клітинами еукаріотів.

*M. genitalium* прикріплюється до скла і пластику. Вона розщеплює глюкозу і не розщеплює аргінін і сечовину. Для росту потребує холестерин, зростає при температурі 30–37 °С, чутлива до ацетату талію.

Серологічно ця мікоплазма відрізняється від інших видів мікоплазм, але містить мембранний антиген Ра, що має спільні епітопи з РІ *M. pneumoniae*. Його молекулярна маса – 140 kD, він локалізований на поверхні термінальної структури та є головним адгезином і імуногенном *M. genitalium*.

За допомогою ПЛР *M. genitalium* була виявлена не тільки в уrogenітальному тракті, а й у горлових змивах. У зв'язку з наявністю загальних з *M. pneumoniae* антигенів, однакових біохімічних властивостей, дослідження ролі *M. genitalium* у патології респіраторного тракту утруднено. Для діагностичних цілей недавно запропоноване поживне селективне середовище, що містить стрептоміцин, до якого *M. genitalium* на відміну від *M. pneumoniae* нечутлива.

**M. fermentans.** Ця мікоплазма була вперше виділена з нижніх відділів уrogenітального тракту дорослих чоловіків і жінок на початку 1950 р., однак її роль у захворюваннях УГТ остаточно не з'ясована. У 1970 р. *M. fermentans* була виявлена у синовіальній рідині при РА і запальних захворюваннях суглобів людини, а також у кістковому мозку дітей, хворих на лейкомію. У 1990 р. була виділена і пізніше детально вивчена *M. incognitus*, яка виявилася одним із штамів *M. fermentans*.

*M. fermentans* ферментує глюкозу й аргінін і має унікальні біологічні особливості. Вона адсорбує IgG людини, у результаті чого до агрегованого імуноглобуліну утворюються аутоантитіла (антиIgG), тобто ревматоїдний фактор, який потім може приєднувати компоненти комплементу й IgM. Імунні комплекси циркулюють, фіксуються в тканинах і індукують імунопатологічні реакції.

*M. fermentans* штам *incognitus* відрізняється від відомих раніше мікоплазм здатністю розмножуватися не тільки на мембранах інфікованих клітин, але і внутрішньоклітинно.

*M. fermentans* здатна зливатися з лімфоцитами людини, індукувати синтез інтерлейкінів (ФНП, ІЛ-6), збільшувати експресію Fas-рецепторів, тобто активувати лімфоцити.

**Епідеміологія.** Показники інфікованості населення сечостатевою мікоплазмозом у різних регіонах світу досить варіабельні і коливаються від 10 до 50 % від усієї інфекційної уrogenітальної патології людини. Досить поширене поєднання мікоплазм з іншими збудниками уrogenітальних ін-



фекцій. Зокрема, за даними багатьох авторів, серед обстежених хворих із первинним діагнозом «хламідіоз», мікоплазми виділялися у 64–64 %, серед хворих на трихомоніаз – у 20–71 %, а при гонорей – у 15–66 %.

В Україні нині немає статистично достовірних даних про поширеність урогенітального мікоплазмозу у різних груп населення. Разом із тим у численних публікаціях провідних вітчизняних дерматовенерологів вказується на досить значну кількість випадків змішаної мікоплазмозової інфекції при трихомонадних, хламідійних і гонорейних ураженнях урогенітального тракту, а також гострих і хронічних запальних процесах сечостатевих органів нез'ясованої етіології.

Всі перераховані мікоплазми передаються контактно-побутовим, у тому числі статевим шляхом, при цьому останній найбільш поширений. Можливий і вертикальний шлях передачі, який може здійснюватися у результаті висхідної інфекції з піхви і цервікального каналу. При наявності інфекції у навколоплідних водах плід інфікується через травний тракт, шкіру, очі, УГТ. Мікоплазми проникають через плодові оболонки швидше і легше, ніж бактерії, і контамінують плід, що має підвищену сприйнятливість до інфекції через відсутність нормальної мікрофлори.

Мікоплазми можуть інфікувати плаценту, в якій розвивається децидуїт, і в цьому випадку може відбутися інфікування плода гематогенним шляхом через пупковий канатик. Можливо інфікування плода під час пологів при проходженні через інфіковані родові шляхи. Діти, що народилися через кесарів розтин, інфікуються рідше. У новонароджених мікоплазми частіше за все колонізують носоглотку і піхву. Протягом 1-го року життя кількість дітей, інфікованих мікоплазмами, поступово зменшується, але за деякими даними, у 5 % однорічних дівчаток, раніше інфікованих, ще вдається виділити мікоплазму. Після досягнення статевої зрілості і збільшення частоти статевих контактів інфікованість мікоплазмами різко зростає. Так, показано, що у незайманих студентів мікоплазми відсутні, тоді як 14 % осіб, які мають 3 або більше статевих партнерів, виявляються інфікованими. Найбільша забрудненість відзначена серед осіб 30–40 років. У віці старше 45 років вона поступово зменшується. Частота інфікованості *M. hominis* і *U. urealyticum* корелює з частотою статевих контактів. Найбільш часто їх виявляють у осіб, пов'язаних з груповим сексом, гомосексуалістів, повій, які перенесли гонорею та інші ЗПСШ. Після припинення статевих контактів ці мікроорганізми тривало персистують у УГТ, втім іноді можливо їх спонтанне зникнення.

Численні дослідження свідчать про наявність певної залежності між інфікованістю мікоплазмами і соціально-економічними умовами життя. Чорношкірі частіше інфіковані, ніж люди білої раси. У чоловіків мікоплазми найбільш часто колонізують уретру і крайню плоть, у жінок – піхву, рідше цервікальний канал і уретру.

Мікоплазми можуть бути виділені з сечі. Бар'єрні методи контрацепції і деякі хімічні контрацептиви оберігають від інфекції. Антитіла до мікоплазм часто виявляють у новонароджених при передчасних пологах, але, як правило, це материнські антитіла, хоча у деяких роботах при обстеженні новонароджених із низькою масою тіла (< 2500 г) IgM виявляли у 90 % випадків (30/40) у день народження, при цьому культури були позитивними у 17,5 % (7/40), ПЛР була позитивною у 37,5 % (P. Quinn et al., 1998), що свідчило про наявність внутрішньоутробної інфекції.

Дані про частоту поширення мікоплазм серед населення суперечливі. Показники інфікованості, за даними різних авторів, варіюють від 10 до 50 %, за деякими даними, дуже висока інфікованість вагітних жінок (до 80 %). При цьому частіше вагітність протікає благополучно і відхилень у середній величині маси тіла у новонароджених не спостерігається.

**Патогенез.** Мікоплазми дуже часто виявляються у клінічно здорових людей. Тому кілька років тому питання про причетність мікоплазм до того чи іншого захворювання вирішувалося позитивно, якщо одночасно дотримувалися такі умови:

- 1) більш часте виявлення у хворих, ніж у здорових;
- 2) наростання титру антитіл у динаміці захворювання;
- 3) відтворення процесу на добровольцях та лабораторних тваринах.

Однак стало відомо, що гуморальні антитіла у ряді випадків не утворюються через слабкі імуногенні властивості збудника, вони не є протективними і відображають лише масивність інвазії. У даний час головна увага приділяється саме масивності інвазії. Прийнято вважати, що мікоплазми причетні до розвитку запального процесу, якщо їх титр у досліджуваному матеріалі > 10<sup>4</sup> КУО, в інших випадках присутність мікоплазм розглядається як здорове носійство.

Чому ж в УГТ у ряді випадків відбувається активне розмноження мікоплазм, і їх титр досягає порогової величини 10<sup>4</sup> КУО/мл і вище? Оптимальне значення рН для розмноження мікоплазм – 6,5–8. У піхві в нормі рН становить 3,8–4,4. Кислу реакцію підтримує молочна кислота, що утворюється лактобацилами глікогену клітин слизової генітального тракту. У нормі 90–95 % мікроорганізмів складають лактобацили, на частку інших доводиться відповідно 5–10 % (дифтеріди, стрептококи, стафілококи, кишкова паличка, гарднерели). У результаті різних несприятливих впливів, зокрема застосування антибіотиків, гормонотерапії, радіоактивного опромінення, погіршення умов життя і розвитку імунодефіциту, а також психічних стресів виникає стан дисбіозу, в УГТ зростає кількість умовно-патогенної мікрофлори. *G. vaginalis* утворює янтарну кислоту, яка використовується іншими умовно-патогенними мікроорганізмами. Їх ріст супроводжується зміною рН від 3,8–4,4 до 6,8–8,5. Створюються сприятливі умови

для колонізації генітального тракту мікоплазмами, і відбувається їх активне розмноження.

Таким чином, мікоплазми, особливо при виявленні їх у високому титрі, можна розглядати як індикатори патології певної екосистеми. Яка ж у цій екосистемі роль мікоплазм? Відповісти на це питання досить складно, тому що мікоплазми надзвичайно поширені серед клінічно здорових осіб. Проте існують патологічні стани, при яких етіологічна роль мікоплазм доведена. До них відносяться негонококовий уретрит, епідидиміт (збудники *U. urealyticum* і *M. genitalium*), запальні захворювання органів малого таза, спонтанні аборти, мертвонародження, народження дітей із низькою масою тіла, зі хронічними захворюваннями легенів, вадами розвитку, передчасний розрив плодових мембран, післяпологовий і післяабортний сепсис, деякі випадки безпліддя. Описані випадки перитоніту, який розвинувся після пересадки інфікованої мікоплазмами нирки, випадки септичного артриту і артриту у людей із гіпогаммаглобулінемією, випадки виділення мікоплазм у якості єдиного інфекційного агента з ліквору новонароджених дітей при менінгіті, менінгоенцефаліті, абсцесах мозку.

**Клінічні прояви.** Клінічна симптоматика мікоплазмової інфекції характеризується широким спектром. Зокрема її перебіг може бути безсимптомним, латентним, а також із виразними клінічними проявами та ускладненнями. Враховуючи відсутність характерної для сечостатевого мікоплазмозу клінічної картини, їх класифікують згідно з локалізацією ураження (мікоплазмозовий уретрит, баланіт, простатит, епідидиміт, цервіцит, бартолініт, ендометрит, сальпінгіт та ін.).

У більшості випадків хвороба має торпідний перебіг, із розвитком різнопланових симптомів протягом 2–3 міс. Зазвичай, торпідні малосимптомні уретрити, вульвовагініти, цервіцити переходять у хронічну форму сечостатевого мікоплазмозу. Хворі при цьому скаржаться на періодичні відчуття свербіж у ділянці сечостатевих органів, неоднозначні слизові виділення, які можуть спонтанно зникати, а через деякий час знову з'являтися та ставати інтенсивнішими.

Деякі дослідники вважають мікоплазми умовно-патогенними мікроорганізмами, обґрунтовуючи це можливістю виділення їх від клінічно здорових осіб, а також безсимптомним клінічним перебігом мікоплазмозу. Разом із тим, на думку інших авторів, мікоплазми є патогенними агентами, а виділення їх від клінічно здорових осіб слід розглядати як загрозове носійство, з огляду на подовжену дію персистуючого збудника, а також можливість підвищення вірулентності штамів мікоплазм.

Вагомим критерієм для розвитку запального процесу є також ступінь зворотної реакції організму хворого, зокрема вироблення антитіл на наявність мікоплазм. Вважається, що чотириразове зростання титру антитіл у динаміці перебігу захворювання є свідченням інфекційного процесу. Деякі дослідники дотримуються думки, що вказане вище зростання титру

антитіл є правомірним тільки у разі розвитку генералізації запального процесу та ускладнень при мікоплазмовій інфекції (простатит, ендометрит та ін.). Разом із тим при неускладнених і хронічних мікоплазмових урогенітальних ураженнях виразної сероконверсії не спостерігається. Відповідна особливість імунної відповіді організму, а також наявність різних серологічних варіантів мікоплазм дуже ускладнюють проблему мікоплазмової інфекції.

### **Негонококовий уретрит (НГУ) і простатит**

НГУ або неспецифічний уретрит – найбільш поширений наслідок уреоплазмової інфекції та інфекції, викликаной *M. genitalium*, що виникає, як правило, у чоловіків. Роль уреоплазми у розвитку НГУ вперше була показана у 1964 р. при широкому епідеміологічному обстеженні моряків на кількох військово-морських базах США і жінок у портових містах. Було доведено, що уреоплазми викликають НГУ, для якого характерний перебіг із рецидивами. Інкубаційний період триває 3–5 тиж. Докази розвитку НГУ уреоплазмової природи були отримані при зараженні добровольців і при експериментальному зараженні мавп.

За даними сероепідеміологічних обстежень тільки у 10 % хворих з уреоплазмовим уретритом виявлено 4-кратне збільшення кількості специфічних антитіл.

Розвиток простатитів також є досить частим проявом уреоплазмової інфекції.

Жінки часто є безсимптомними носіями мікоплазм і уреоплазм. Таке безсимптомне носійство можна розглядати як стан ризику. Розвиток інфекційного процесу може бути спровоковано різними факторами: супутньою інфекцією, зміною гормонального фону у зв'язку з фазою природного циклу дозрівання яйцеклітини, станом вагітності та іншими змінами фізіологічного і імунного статусу організму. Присутність у піхві невеликої кількості уреоплазм і мікоплазм може особливо не насторожувати. Виявлення уреоплазм у сечі також може бути транзиторним і не мати наслідків. Однак при проникненні уреоплазм у більш глибокі відділи сечовивідної, а також статевій системі можуть розвинути серйозні наслідки. Наприклад, *U. urealyticum* може стати причиною розвитку гострого уретрального синдрому.

### **Запальні захворювання органів малого таза**

Причиною розвитку запальних захворювань органів малого таза – гострого та хронічного сальпінгітів, хронічного неспецифічного сальпіngo-офориту, тубоваріального абсцесу, параметриту, ендометриту, аднекситу, запалення тазової клітковини і очеревини – найчастіше є факультативні і строго анаеробні бактерії, мікоплазми та уреоплазми. Вельми часто причиною згаданих захворювань є змішана інфекція. Так, за даними літератури, при обстеженні 201 пацієнтки з ендометритом *M. hominis* як єдиний інфекційний агент була виявлена лише у 7 % випадків, у той час як у 44 %

хворих вона була виділена разом з уреоплазмою і (або) хламідіями. Цілком ймовірно, що мікоплазмам і уреоплазмам при зазначених патологічних процесах належить вторинна патогенетична роль. З присутністю *M. hominis* і *U. urealyticum* пов'язують запальні процеси верхніх відділів сечовивідних шляхів, що знайшло своє підтвердження у експериментах на лабораторних тваринах.

Є публікації, які свідчать про те, що прихована інфекція та її субклінічні форми становлять велику потенційну небезпеку, оскільки при деяких умовах вона може активізуватися і стати причиною важких септичних процесів. Так, описаний випадок перитоніту мікоплазмозової етіології, який розвинувся на 6-й день після пересадки нирки.

Колонізація УГТ *M. hominis* або *U. urealyticum* є серйозним фактором ризику при трансплантації нирки і при стероїдній терапії.

### **Патологія вагітності і плода**

Мікоплазмове інфікування ендометрія може привести до відшарування плодового яйця і, таким чином, до переривання вагітності у ранні терміни. Мікоплазмозова інфекція плода може розвинути на більш пізніх стадіях внутрішньоутробного розвитку з інфікованих навколоплідних вод. *M. hominis* і *U. urealyticum* можуть проникнути у базальну пластину і викликати розвиток децидуїту.

Часто відбувається невиношування плода, передчасне відходження навколоплідних вод, хоріоамніоніт (у пологах) і метроендометрит (у післяпологовому періоді). Мікоплазми можуть бути виділені з крові породіль відразу після пологів, а також через кілька днів після них. Клінічний перебіг післяпологового сепсису характеризується раптовим початком без попереднього субфебрилітету і відносно благополучним станом пацієнток. Септичний стан зникає, як правило, без спеціального лікування.

При наявності мікоплазмозової та уреоплазмозової інфекції у матері плід може бути інфікований інтранатально. Вхідними воротами інфекції найбільш часто є слизові оболонки очей, ротової порожнини, статевих органів і дихальних шляхів. Однак самостійна роль мікоплазм у розвитку гострих запальних процесів дихальних шляхів у новонароджених при інфікуванні їх під час пологів невелика і проявляється переважно у недоношених дітей. Недоношені діти інфіковані мікоплазмою у 3 рази частіше, ніж ті, що народилися вчасно. У разі інтранатальної колонізації мікоплазмами доношених дітей у постнатальному періоді відбувається швидка елімінація мікоплазм.

При внутрішньоутробному мікоплазмозі часто розвивається генералізований патологічний процес; уражаються органи дихання і зору плода, печінка, нирки, ЦНС, шкірні покриви, рідше периферична нервова система. Внутрішньоутробна мікоплазмозова пневмонія протікає, як правило, у вигляді інтерстиціальної пневмонії, що супроводжується вираженими циркуляторними розладами, крововиливами у альвеоли, утворенням тромбів.

За даними деяких дослідників, середня маса тіла новонароджених, інфікованих уреоплазмою, на 500 г нижче, ніж неінфікованих. При цьому у дітей з низькою масою тіла часто розвиваються хронічні захворювання легень (bronхолегенева дисплазія). Смертність таких дітей у 2 рази вище, ніж неінфікованих. Від загиблих дітей *U. urealyticum* може бути виділена не тільки з легень, трахеї, плевральної рідини, але і з крові і спинномозкової рідини, що вказує на розвиток генералізованої інфекції.

**Безпліддя.** Безпліддя у чоловіків, викликане уреоплазмами, може бути обумовлено не тільки запальними процесами, а й безпосереднім впливом уреоплазм на сперматозоїди, їх життєздатність і рухливість. Скануюча електронна мікроскопія показує, що у місці контакту уреоплазми і сперматозоїда відбувається злиття і лізис мембрани, що в свою чергу може призводити до втрати життєздатності і рухливості. Показано також наявність загальних антигенів у мембрані сперматозоїда і *U. urealyticum*, що часто призводить до утворення антитіл, які ушкоджують мембрану сперматозоїда.

При дослідженні впливу *U. urealyticum* на сперматозоїди барана *in vitro* виявлено збільшення активності ДНКаз і руйнування ДНК сперматозоїдів, що може привести до інфертильності або надати негативний вплив на ембріональний розвиток.

У інфікованих *M. hominis* жінок вторинне безпліддя може розвинутиися у результаті запальних процесів, які призводять до порушення оогенезу, перешкоджають просуванню яйцеклітини.

Показано, що при тривалій персистенції в організмі *M. hominis* і *U. urealyticum* впливають на хромосомний апарат статевих і соматичних клітин; викликають різні хромосомні аберації, розриви і фрагментацію хромосом, появу нових, невласливих даному каріотипу варіантів хромосом, поліплоїдію, а також пригнічують мітоз. Дія на хромосоми лежить в основі тератогенного і мутагенного впливу мікоплазм на плід людини. Пригнічення мітотичної активності призводить до пригнічення процесу епітелізації і тим самим до хронізації патологічного процесу.

**Лікування.** Питання про необхідність лікування має вирішуватися у кожному конкретному випадку індивідуально і позитивно при наявності виражених клінічних проявів інфекції і виділення мікоплазм зі статевих органів у титрі  $10^4$  КУО і вище. Лікуванню безперечно підлягають жінки з неблагополучним акушерським анамнезом, а також жінки дітородного віку поза вагітністю. Курс лікування повинні пройти особи, які страждають на безпліддя неясної етіології, інфіковані мікоплазмами. Лікування має бути комплексним і включати препарати, що впливають на збудник і засоби, які стимулюють неспецифічний імунітет. У зв'язку з тим, що мікоплазми найчастіше виявляють в асоціації з іншими патогенними або умовно-патогенними мікроорганізмами (часто з хламідіями), для лікування пацієнтів слід застосовувати антибіотики широкого спектра дії. Препаратами першого вибору є тетрацикліни. У зв'язку з тим, що більше 10 %

штамів мікоплазм і уреоплазм стійкі до тетрацикліну, його можна замінити еритроміцином, і слід пам'ятати, що *M. hominis*, на відміну від *U. urealyticum*, до еритроміцину стійка.

У клінічній практиці використовуються наступні схеми лікування.

Тетрациклін – 500 мг кожні 6 год. – 7 днів.

Доксициклін – 100 мг перорально кожні 12 год. Перша доза – 300 мг.  
Курс – 1 міс.

Метациклін – перша доза 600 мг перорально, потім по 300 мг 3 рази на добу – 9 днів або по 300 мг 4 рази на добу.

Міноциклін – перша доза 0,2 г перорально, потім по 0,1 г 2 рази на добу – 7–10 днів.

Мідекаміцин – 0,4 г перорально 3 рази на добу – 7–10 днів.

Еритроміцин – 500 мг перорально 4 рази на добу – 14 днів.

Азитроміцин – 250 мг перорально 1 раз на добу – 6 днів.

Кларитроміцин (коаліціада) – 250 мг перорально 2 рази на добу – 10 днів.

Джозаміцин – 500 мг перорально 2 рази на добу – 14 днів.

Ерициклін – 500 мг перорально 4 рази на добу – 14 днів.

Рокситроміцин – 0,15 г перорально 2 рази на добу – 10 днів.

Ципрофлоксацин – 500 мг перорально 2 рази на добу – 12–14 днів або 750 мг 2 рази на добу – 7 днів.

Офлоксацин – 200–400 мг перорально 3 рази на добу – 10–14 днів.

Гентаміцин – парентерально по 40 мг кожні 8 год – 5 днів. Всього 600 мг.

Для санації вагітних жінок із терміном 12 тиж і пізніше призначається еритроміцин перорально по 0,2 г 4 рази на добу 7–10 днів або по 0,5 г 2 рази на добу протягом 10 днів.

При уретритах, простатитах і вагінітах уреоплазмової етіології специфічна терапія повинна проводитися одночасно подружжю.

Проблема профілактики внутрішньоутробного мікоплазмозу заслуговує особливої уваги. Необхідно спрямоване обстеження жінок на різних термінах вагітності. У разі виявлення у них уrogenітального мікоплазмозу можна попередити розвиток внутрішньоутробного мікоплазмозу шляхом санації вагітної та її чоловіка. Введення таким жінкам вагінально тетрацикліну і одночасне призначення їх чоловікам перорально або призначення подружжю еритроміцину *per os* призводить до зменшення відсотка невиношування вагітності та ускладнень при пологах, а також зниження перинатальної смертності.

При хронічній формі перебігу уrogenітального мікоплазмозу хороші результати дає проведення курсу антибіотикотерапії на тлі введення імуномодуляторів.

Для неспецифічної терапії рекомендують прийом адаптогенів (за звичайними схемами) і еубіотиків – біфідумбактерин або ацилакт у свічках для ректального і вагінального застосування.

Є дані про позитивний ефект у результаті введення імуноглобуліну, гемотрансфузії та застосування імуномодуляторів.

Хороші результати отримані при введенні внутрішньом'язово імуномодулятора циклоферона (250 мг на 1-й, 2-й, 4-й, 6-й та інші дні; на курс – 2 500 мг.)

Показаний також лейкінферон, який вводиться двічі (по одній ампулі) до початку курсу антибіотикотерапії, потім 2–3 рази на тиждень протягом курсу і двічі після його закінчення.

**Критерії санації.** З огляду на те, що антигени мікоплазм тривало зберігаються у крові і тканинах, контрольні дослідження потрібно проводити не раніше, ніж через 1 міс після лікування. Для остаточного висновку про санацію рекомендовано контрольні дослідження проводити за допомогою ПЛР.

При РА із синовіальної рідини виділяють, крім *M. fermentans*, інші види мікоплазм: *M. pneumoniae*, *M. genitalium*, *U. urealyticum*, *M. arthritidis*.

**Діагностика мікоплазмозових інфекцій.** З огляду на те, що мікоплазмозові інфекції не мають будь-яких специфічних, властивих тільки їм клінічних проявів, для їх виявлення необхідно використовувати методи лабораторної діагностики.

Використовують 3 групи методів:

- культуральний;
- імунологічний метод виявлення антигенів мікоплазм і антитіл до них;
- молекулярно-біологічний.

## РЕСПІРАТОРНИЙ МІКОПЛАЗМОЗ

Респіраторний мікоплазмоз – поширене антропогенне захворювання.

Джерелом мікоплазмозової інфекції є хвора людина або носій. Мікоплазма виявляється у носоглотковому слизу протягом 8 тиж і більше від початку захворювання навіть при наявності специфічних антитіл у сироватці крові і клінічно ефективної антибіотикотерапії.

Частота носійства мікоплазм у здорових осіб коливається у великому діапазоні. Найчастіше мікоплазмоз реєструється у містах, ніж у сільській місцевості, оскільки висока щільність населення сприяє розсіюванню інфекції. Під час періодичних підйомів захворюваності рівень носійства зростає. Захворюваність частіше реєструється в осінньо-зимовий і весняний періоди.

Як і для більшості респіраторних інфекцій, для мікоплазмозу характерний аерогенний шлях передачі, але йому, на відміну від інших подібних інфекцій, не властиво швидке епідемічне поширення. Для формування вогнища у колективі, сім'ї, стаціонарі необхідний тісний тривалий контакт. Можливе виникнення вторинних випадків інфікування дітей у сім'ях. Є дані про інфікування в осередках мікоплазмозу до 84 % дітей і до 41 % дорослих. Найбільш схильні до інфекції особи з різними формами імунодефіциту і супутньою патологією.



Особливістю респіраторного мікоплазмозу є періодичність епідемій з інтервалами від 3 до 7 років. Поширенню інфекції сприяє частота і тривалість контактів серед осіб, які перебувають у закритих і напівзакритих колективах (військовослужбовці, школи-інтернати), особливо при їх формуванні.

У 3–10 % випадків мікоплазмозової інфекції рентгенологічно діагностується пневмонія. При пневмонії, викликаній *M. pneumoniae*, інші бактеріальні або вірусні збудники, як правило, не виявляються, однак у окремих випадках також виділяється *S. pneumoniae*. У 1–5 % випадків захворювання на респіраторний мікоплазмоз вимагає госпіталізації.

Вхідними воротами для інфекції, зумовленої *M. pneumoniae*, є слизові оболонки респіраторного тракту. Виражений тропізм *M. pneumoniae* до слизових дихальних шляхів обумовлений особливостями будови поверхневих антигенів збудника. Ці антигени містять адгезини, що забезпечують міцне ліганд-рецепторне зв'язування *M. pneumoniae* з епітеліальними клітинами респіраторного тракту. При цьому ферменти, синтезовані мікоплазмами, несприятливо впливають на епітелій. Пошкодження клітинної стінки епітеліоцитів супроводжується порушенням міжклітинних зв'язків, пригніченням мукоциліарного кліренсу і в кінцевому підсумку призводить до загибелі епітеліальних клітин. Тісний міжмембранний контакт не виключає проникнення вмісту мікоплазм у клітину; можливо внутрішньоклітинне паразитування мікоплазм. Один цикл внутрішньоклітинного розмноження становить 6 діб.

При інфекції, викликаній *M. pneumoniae*, уражаються всі відділи респіраторного тракту, що клінічно може проявлятися ринітом, ларингітом, фарингитом, трахеобронхітом, пневмонією.

Процеси запалення частіше обмежуються слизовими верхніх дихальних шляхів і бронхів. Однак нерідко (особливо у дітей з обтяженим преморбідним статусом) інфекційний процес поширюється на термінальні відділи респіраторного тракту, приводячи до розвитку пневмонії. При цьому відзначають дистрофію, деструкцію і метаплазію частини клітин альвеолярного епітелію, а також потовщення міжальвеолярних перегородок. Епітеліальні клітини на ранніх етапах захворювання зберігають зв'язок зі стінкою альвеол, але пізніше злущуються і піддаються лізису, внаслідок чого у дітей раннього віку можливий розвиток гіалінових мембран. Одночасно у інтерстиції легеневої тканини відзначаються обмежені інфільтрати, переважно перибронхіальні і периваскулярні, представлені лімфоцитами, плазмочитами, гістіоцитами, моноцитами та одиночними нейтрофілами.

У результаті важкого респіраторного мікоплазмозу може розвинутися хронічний інтерстиціальний легеневий фіброз. У літературі представлені випадки розвитку генералізованої інфекції, обумовленої *M. pneumoniae*, із залученням до запального процесу органів кровообігу, нервової системи, суглобів, а також з ураженням шкірних покривів, слизових і клітин крові.

Є описи проявів геморагічного синдрому з гіперкоагуляцією, гемолітичної анемії, дрібних тромбозів і геморагій.

Клінічна своєрідність респіраторного мікоплазмозу залежить від двох основних факторів. На прояви і виразність респіраторної симптоматики впливає місце проникнення і розмноження збудника. При формуванні специфічного імунітету до мікоплазм значну роль відіграють початковий стан епітелію відділів респіраторного тракту, кількісно-якісний склад мікробіоти слизових оболонок носо- і ротоглотки.

*M. pneumoniae* в організмі індукує всі види імунних реакцій: специфічну гуморальну і клітинну імунну відповідь, неспецифічну імуностимулюючу та імуносупресивну відповідь за рахунок неспецифічної мітогенної активності по відношенню до Т- і В-лімфоцитів. Протективну функцію виконують секреторні імуноглобуліни IgA, гуморальні антитіла всіх класів і специфічно сенсibiliзовані лімфоцити.

У перші дні захворювання секреторні IgA з'являються на поверхні клітин епітелію, але немає точних даних, як довго вони можуть бути присутні в організмі. Сироваткові антитіла виникають через 7–10 днів від початку захворювання і зберігаються протягом ряду років. Тривалість імунітету може бути різною залежно від тяжкості захворювання.

Інкубаційний період при респіраторному мікоплазмозі становить від 3 днів до 4 тиж, іноді може досягати 4–5 тиж, середня тривалість – 10–14 днів.

Захворювання може протікати у різних клінічних формах – від легких катарів верхніх дихальних шляхів до важких зливних пневмоній.

При мікоплазмовій інфекції майже у половині випадків (44,4 %) діагностується обструктивний бронхіт. У кожного п'ятого (20,4 %) пацієнта, госпіталізованого у стаціонар з мікоплазмозом інфекцією, діагностується пневмонія.

Мікоплазмозова пневмонія супроводжується частим болісним і тривалим кашлем з мізерним в'язким мокротинням, яке погано евакуюється, відзначаються болі в грудній клітці, може розвинути обструкція бронхів. Інтотоксикація не різко виражена. Фізикальні зміни у легенях відсутні або слабо виражені. Рентгенологічна картина вельми варіабельна. У більшості випадків виявляються ураження інтерстицію, у частини хворих пневмонія протікає за типом осередкової або сегментарної, у когось запальні зміни мають змішаний характер. Явища легеневої недостатності не характерні для мікоплазмозової пневмонії.

Мікоплазмозова пневмонія зазвичай має сприятливий перебіг, в рідкісних випадках – дуже важкий.

Ускладнення мікоплазмозової інфекції в основному пов'язані з нашаруванням бактеріальної коінфекції, але у рідкісних випадках можливі специфічні ускладнення: менінгоенцефаліти, ураження судинної оболонки очей, бульозний ларингіт, отит, полірадикулоневрит.

Діагностика мікоплазмової пневмонії тільки на підставі клінічних або рентгенологічних даних неможлива, оскільки не має патогномонічних рис. Основна роль у підтвердженні мікоплазмової етіології пневмонії відводиться лабораторній етіологічній діагностиці. Для етіологічної діагностики мікоплазмової пневмонії застосовують наступне:

- виявлення ДНК *M. pneumoniae* методом ПЛР з детекцією методом електрофоретичного розділення ДНК, однак найбільшу специфічність і чутливість має ПЛР з детекцією у режимі реального часу (ПЛР-РЧ);
- виявлення антигену мікоплазм у реакції прямої імунофлуоресценції (РІФ);
- серологічне дослідження для виявлення специфічних антитіл класу IgM і IgG до *M. pneumoniae* у сироватці крові методом імуоферментного аналізу (ІФА).

*M. pneumoniae* відноситься до мікроорганізмів, які важко культивуються; процес виділення займає 3–5 тиж, тому культуральний метод не може бути рекомендований для використання діагностичними лабораторіями.

З метою швидкої етіологічної діагностики пневмонії рекомендується використовувати ПЛР при дослідженні біологічного матеріалу, отриманого з нижніх дихальних шляхів (мокрота при глибокому відкашлюванні, аспірати з трахеї, мокрота, одержана в результаті індукції за допомогою інгаляції гіпертонічного розчину натрію хлориду, рідина бронхоальвеолярного лаважу (БАЛ), що отримується за допомогою фібробронхоскопії).

При одержанні позитивного результату ПЛР при дослідженні біологічного матеріалу, отриманого з нижніх дихальних шляхів, етіологія пневмонії вважається встановленою. При неможливості одержання біологічного матеріалу з нижніх дихальних шляхів, для ПЛР допустимо використовувати мазки з верхніх дихальних шляхів (об'єднаний мазок з носоглотки і задньої стінки глотки), і при отриманні позитивного результату слід вважати етіологію пневмонії імовірно встановленою. Однак одержання негативного результату ПЛР при дослідженні мазків із верхніх дихальних шляхів не може свідчити про відсутність мікоплазмової інфекції. У цьому випадку рекомендується серологічна діагностика з урахуванням сукупності результатів із виявлення специфічних антитіл класів IgM та IgG у парних сироватках, досліджуваних одночасно.

З метою ретроспективної діагностики, коли хворий вже знаходиться у стадії реконвалесценції, необхідно використовувати серологічні дослідження.

Первинна імунна відповідь характеризується синтезом IgM-антитіл через 1–3 тиж з моменту зараження, виявлення яких свідчить про гостру фазу інфекції. Імуноглобуліни класів G з'являються до кінця 3–4-го тижня, 4-кратна сероконверсія специфічних антитіл у парних сироватках крові підтверджує діагноз мікоплазмової респіраторної інфекції.

Безпосереднє виявлення антигенів *M. pneumoniae* у різних біосубстратах (мазки з носоглотки, лаважна рідина, біоптати), отриманих від хворих з респіраторною патологією, до теперішнього часу в окремих діагностичних

лабораторіях проводять із використанням РІФ. Цей метод у поєднанні з виявленням специфічних антитіл до мікоплазми у ІФА дає можливість підтвердити захворювання, викликаного *M. pneumoniae*. Слід враховувати, що гуморальні антитіла зберігаються кілька років.

Діагноз «респіраторний мікоплазмоз» може бути встановлений на підставі виявлення збудника чи його антигенів у досліджуваних пробах, або визначення приросту рівня титру специфічних антитіл у парних серологічних реакціях. Перше дослідження здійснюється не пізніше 7-го дня захворювання, друге – через 10–14 днів.

Для достовірної та остаточної етіологічної діагностики мікоплазмової пневмонії з урахуванням можливості персистенції даного збудника в організмі людини без виражених клінічних проявів рекомендується додаткове підтвердження встановленого діагнозу будь-яким із перерахованих вище методів.

**Лікування.** При призначенні терапії хворим з мікоплазмовою інфекцією враховують нозоформи, тяжкість і період захворювання, преморбідний стан пацієнта.

В амбулаторних умовах зазвичай проводять лікування хворих з легкими формами респіраторного мікоплазмозу. У стаціонар направляється, як правило, хворі на пневмонію, бронхіт, стенозуючий ларинготрахеїт, пацієнти з обтяженим преморбідним станом і ускладненим перебігом захворювання, а також у разі відсутності терапевтичного ефекту від лікування на дому або за епідемічними показаннями (при наявності вогнища захворювання у сім'ї або спалаху в колективі).

Лікування складається зі специфічної (антибактеріальні засоби) і симптоматичної (часте харчування, жарознижуючі, антигістамінні, бронхолітичні, імунобіологічні, відхаркувальні препарати, комплекс вітамінів, фізіолікування) терапії.

Симптоматична терапія визначається виразністю клінічних проявів – риніту, фарингіту, ларинготрахеїту, обструктивного бронхіту, пневмонії – і не відрізняється від тактики лікування ГРЗ іншої етіології. Внаслідок відсутності клітинної стінки і стійкості *M. pneumoniae* до бета-лактамних антибіотиків (пеніциліни, цефалоспорини 1-го покоління) ці препарати неефективні при лікуванні хворих на респіраторний мікоплазмоз. У стандартну антибактеріальну терапію включають макроліди. Активні відносно *M. pneumoniae* фторхінолони і тетрациклін. Перевагу слід надавати антибіотикам групи азалідів (азитроміцин) або джозаміцин, рокситроміцин, кларитроміцин. Тривалість лікування залежить від тяжкості та клінічного варіанту захворювання: при обструктивному бронхіті – 5–7 днів, при пневмонії – 10–14 днів.

#### **Практичні навички з теми**

1. Проведення мікроскопії мазків-препаратів із мікоплазмами.
2. Визначення морфотинкторіальних і культуральних властивостей мікоплазм.

### ***Алгоритми лабораторної роботи***

**Алгоритм:** «Взяття матеріалу для лабораторної діагностики мікоплазмозу».

*Досліджуваний матеріал.* При підозрі на респіраторний мікоплазмоз досліджують мазки з носоглотки, лаважну рідину, мокротиння, бронхіальні змиви, а також мазки-відбитки тканин органів мертвонароджених і абортіваних плодів.

При уrogenітальних інфекціях досліджують серединну порцію ранкової сечі, зскрібки зі слизової уретри, періуретральної ділянки, склепінь піхви, цервікального каналу, матеріал, отриманий при лапароскопії, амніоцентезі, мазки-відбитки органів абортіваних і мертвонароджених плодів. При простатиті досліджують секрет простати, при чоловічому безплідді – сперму.

При взятті матеріалу з цервікального каналу важливим моментом є видалення слизової пробки. Від цієї процедури може залежати і результат дослідження. Слизову пробку видаляють ватним тампоном і лише потім беруть матеріал. Краще для взяття матеріалу використовувати спеціальну щіточку або спеціальний зонд з дакроновим наконечником, що дозволяє отримати для дослідження достатню кількість клітин із цервікального каналу, при цьому слизова не травмується, добре віддається зібраний матеріал у рідке живильне середовище.

Слід мати на увазі, що за 10 днів до планованого проведення дослідження необхідно припинити прийом антибактеріальних препаратів. Жінки напередодні обстеження не повинні проводити туалет зовнішніх статевих органів і спринцювання.

#### **Біопроби з уrogenітального тракту у чоловіків**

##### **1. Зскрібок епітеліальних клітин з уретри:**

- перед взяттям матеріалу пацієнту рекомендується утриматися від сечовипускання протягом 1,5–2 год;
- безпосередньо перед взяттям матеріалу зовнішній отвір уретри обробити стерильним фізіологічним розчином;
- при наявності гнійних виділень зскрібок рекомендується брати через 15–20 хв після сечовипускання;
- ввести зонд на глибину 3–4 см, зібрати матеріал обережними обертовими рухами;
- занурити зонд у флакон з живильним середовищем, кілька раз обернути і, віджавши залишки середовища об стінку, видалити з флакона, який щільно закрити і промаркувати.

##### **2. Секрет передміхурової залози:**

- перед взяттям секрету голівку статевого члена обробити стерильним ватним тампоном, змоченим стерильним фізіологічним розчином;
- після попереднього масажу простати через пряму кишку з кавернозної частини видавити простатичний секрет;

- секрет зібрати у стерильну суху пробірку; стерильною піпеткою 100 мкл секрету перенести в живильне середовище.

### 3. Сперма:

- сперму зібрати в стерильну суху пробірку і 100 мкл піпеткою перенести в живильне середовище.

### **Біопроби з урогенітального тракту жінки**

#### 1. Зскрібок з цервікального каналу:

- перед взяттям проби видалити ватним тампоном слиз і потім обробити шийку матки стерильним фізіологічним розчином;

- зонд ввести на глибину 0,5–1,5 см, зібрати матеріал обережними обертальними рухами;

- при видаленні зонда повністю виключити його зіткнення зі стінками піхви.

#### 2. Зскрібок з уретри:

- безпосередньо перед взяттям матеріалу зовнішній отвір уретри обробити стерильним фізіологічним розчином;

- провести масаж уретри;

- ввести зонд на глибину 1–1,5 см, зібрати матеріал обережними обертальними рухами.

**Алгоритм:** «Лабораторна діагностика мікоплазмозу».

*Культуральний метод.* Для всіх видів мікоплазм і уреаплазм необхідні стероли (холестерин і його похідні) і жирні кислоти. Потреба у стеролах дуже рідко спостерігається у прокаріотів, мембрани яких їх, як правило, не містять. Мікоплазми потребують також фосфоліпідів, гліколіпідів і фосфогліколіпідів. Джерелом цих з'єднань є сироватка крові тварин, для більшості мікоплазм – сироватка крові коня. Види, що ферментують глюкозу, краще ростуть при більш високих значеннях рН (8–8,5). Види, що гідролізують аргінін і сечовину – при більш низьких значеннях рН (6,5–6,0). Вимоги до аерації у різних видів різні. Більшість видів краще ростуть у атмосфері газової домішки, що складається з 95 % N<sub>2</sub> і 5 % CO<sub>2</sub>.

Мікоплазми можна культивувати на рідких, напіврідких (0,3 % агар) і щільних (1,3 % агар) середовищах. Деякі види мікоплазм (*M. pneumoniae*, *M. genitalium*) можна також вирощувати на склі і пластику у вигляді моношару, як культуру клітин.

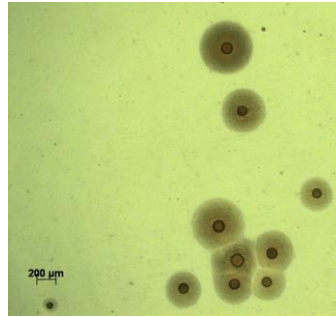
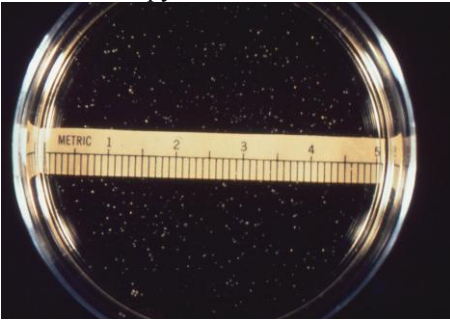
Більшість видів мікоплазм розмножуються повільно, культивування триває кілька днів або навіть тижнів (*M. pneumoniae*, *M. genitalium*). Крива їх росту в основному схожа з кривою росту бактерій. *M. hominis* досягає кінця логарифмічної або початку стаціонарної фази росту тільки через 48–72 год, титр клітин у популяції становить до цього часу 10<sup>10</sup> КУО/мл. Такий титр зберігається у стаціонарній фазі росту протягом 5–7 днів культивування. Уреаплазми мають дуже коротку стаціонарну фазу, їх житте-

здатність різко падає вже через 24 год, рідше – через 48 год, коли гине приблизно 90 % клітин, особливо у погано забуференому середовищі.

Бульйонні культури мікоплазм злегка опалесціють, уреаплазми не викликають помутніння середовища навіть при титрі 10 КУО/мл. У товщі напіврідкого агару мікоплазми та уреаплазми утворюють світлу хмарку по ходу уколу піпетки, особливо добре помітну в світлі.

На напівтвердому агарі мікоплазми утворюють колонії 0,1–0,3 мм у діаметрі або рівномірно зернисті, або за формою схожі на яєчню (рис. 6). Колонії уреаплазм мають діаметр 0,01–0,03 мм. Колонії мікоплазм і тим більше уреаплазм видно тільки при малому збільшенні мікроскопа ( $\times 100$ ). Для виявлення колоній мікоплазм, утворених на щільних живильних середовищах, слід розглядати їх під мікроскопом зі збільшенням у 60–100 разів. З цією метою можна застосовувати імунофлюоресцентні методи, а також метод фазово-контрастної мікроскопії.

При вирощуванні на живильних середовищах мікоплазми виявляють надзвичайно високу вимогливість до їх складу і умов культивування, особливо це відноситься до патогенних мікоплазм, які культивуються з великими труднощами.



**Рис. 6.** Колонії мікоплазм

Живильні середовища повинні відповідати наступним вимогам.

1. Вони повинні містити всі попередники, необхідні для синтезу макромолекул, що забезпечується використанням витяжки з яловичого серця і мозку, пептона, дріжджового екстракту як джерела фактора росту, ДНК, або НАД (нікотинамід-аденін-динуклеотид), або ДПН (дифосфопіридин-нуклеотид) у якості пуринів і піримідинів, які не можуть синтезувати мікоплазми і отримують у готовому вигляді з цих з'єднань за допомогою ферментів.

2. Живильні середовища повинні забезпечувати мікоплазми джерелами енергії. Вони є в екстрактах, отриманих під час відварювання серцевої м'язи, печінки та інших органів, і вносяться у середовище додатково у вигляді глюкози (для видів, які ферментують глюкозу), аргініну (для

видів, які ферментують аргінін) і сечовини (для уреаплазм). При розщепленні цих компонентів змінюється рН середовища, тому середовище повинне бути забуферене.

Частіше для виділення мікоплазм використовують модифіковане середовище Хайфліка, середовище SP-4 і середовище на основі гідролізату  $\beta$ -глобулінової фракції, отриманої від відходів  $\gamma$ -глобулінового виробництва.

Середовища, що використовують для виділення і культивування уреаплазм: бульйон із сечовиною й індикаторами (Urease color test broth U9C), бульйон із сечовиною й індикатором – середовище 10 C, стандартне агаризоване середовище A5K, диференційні агарові середовища A7 і A8. Також використовують мікоплазму-агар, бульйон для первинної ізоляції уреаплазм, основу поживного середовища для виділення уреаплазм сухо, основу поживного середовища для індикації *U. urealyticum*, уреаплазмове середовище.

При виділенні мікоплазм з клінічного матеріалу необхідно посіяти аналізовані проби (0,1 мл) у транспортне середовище (1 мл) – середовище того ж складу, що і для культивування, але без джерел енергії (глюкози, аргініну і сечовини) і з великою кількістю антибіотиків для пригнічення супутньої флори: пеніциліну (1 000 од/мл) і будь-якого антибіотика, що пригнічує ріст грибів. Посіви витримують 30 хв при кімнатній температурі, потім переносять у середовище культивування (0,1 мл на 1 мл середовища) і поміщають у термостат (37 °C) на 3 дні (для виділення *U. urealyticum*), 7 днів (для *M. hominis*) і 3 тиж (для *M. pneumoniae*, *M. genitalium*).

Посіви у бульйоні з сечовиною (для виділення уреаплазм) треба продивлятися кожного дня протягом 3 днів, посіви у бульйоні з аргініном (для виділення *M. hominis*) – через 5–7 днів культивування, посіви матеріалу на чашках (для виділення *M. pneumoniae*) – через 7 днів – 3 тиж. Чашки необхідно заклеїти або залити парафіном, або утримувати у термостаті у вологій камері, або поліетиленовому мішку з метою запобігання висиханню.

Про ріст у бульйоні свідчить зміна кольору середовища: *U. urealyticum* і *M. hominis* змінюють колір середовища з червоного на червоно-фіолетовий, у разі *U. urealyticum* середовище залишається прозорим, а *M. hominis* дає легку опалесценцію. *M. pneumoniae*, *M. genitalium* змінюють колір середовища з червоного на жовтий. Для того, щоб переконатися, що зміна кольору середовища пов'язана з ростом мікоплазм (уреаплазм), необхідно зробити висів із бульйону на агар, приготований на тій же основі і через зазначені вище відрізки часу переглядати чашки при малому збільшенні мікроскопа. Пересів уреаплазм із рідкого середовища з сечовиною проводять відразу після зміни кольору середовища, тому що при збільшенні рН уреаплазми швидко гинуть.

Для виділення *M. hominis*, *M. pneumoniae* і *M. genitalium* можна робити пересів з транспортного середовища безпосередньо на чашки, минаючи бульйон.



*M. pneumoniae* відрізняється від інших мікоплазм здатністю викликати швидкий  $\beta$ -гемоліз еритроцитів морської свинки, барана і людини та гем-адсорбцію цих еритроцитів. Для виявлення гемолітичної активності 7–10 денні культури заливають тонким (3 мл на чашку) шаром розплавленого і охолодженого 1 % агару на ізотонічному розчині натрію хлориду з 3–5 % три рази відмитих у розчині Олсвера еритроцитів. Після інкубації протягом 24 год при 37 °С навколо колоній *M. pneumoniae* з'являються зони повного гемолізу, які гарно видно при перегляді напроти світла.

Для виявлення гемадсорбційних властивостей поверхню агару з колоніями, що вирости, заливають 2 мл 0,3 % суспензії еритроцитів морської свинки, попередньо 3 рази відмитими у розчині Олсвера, в ізотонічному розчині натрію хлориду з 0,01 М фосфатним буфером, рН 7,2. Чашки з посівами інкубують при 37 °С 15–30 хв, суспензію еритроцитів зливають і поверхню агару ополіскують 2–3 рази ізотонічним розчином натрію хлориду. Під малим збільшенням мікроскопу добре видно еритроцити, айсорбовані на поверхні колоній *M. pneumoniae* (не інших мікоплазм).

З уrogenітального тракту людини виділяють *M. hominis*, *U. urealyticum*, *M. fermentans* та рідко інші види (непатогенні) мікоплазм. Усі вони різняться між собою за біохімічними властивостями. *M. hominis* розкладає аргінін, *U. urealyticum* – сечовину, а *M. fermentans* – аргінін та глюкозу. На підставі цих властивостей може бути проведена їх диференціація. Імунологічні методи ідентифікації з використанням різних серологічних реакцій (інгібування росту, інгібування метаболізму) – високоспецифічні, але, на жаль, доступні лише спеціалізованим лабораторіям.

Для визначення титру мікоплазм у культурі проводять серію десятикратних розведень з висівом кожного розведення (0,5 мл) у напіврідке середовище культивування (0,3 %) з усіма добавками. Підраховують кількість колоній у останній пробірці, де є ріст мікоплазм, та помножують на ступінь розведення. Титр виражають у КУО/мл. Титрування уреаплазм проводять у рідкому середовищі. За титр приймають зворотну величину розведення останньої пробірки, де відбулася зміна кольору середовища. Титр виражають у кольорозмінюючих одиницях.

Перевагою культурального методу є їх 100 % специфічність і можливість отримання чистої культури для подальшого дослідження виділених штамів, зокрема випробування їх чутливості до антибіотиків. Недоліками культурального методу є їх низька чутливість, пов'язана з неадекватністю поживних середовищ, нездатністю деяких штамів мікоплазм рости у відсутності живих клітин, і тривалість культивування.

*Серологічний метод. Виявлення антигенів.* За даними деяких авторів, діагностична цінність тестів для виявлення антигенів становить 93–96 %. Інші ж дослідники вказують на діагностичну перевагу серологічних показників з огляду на частішу їхню кореляцію з даними мікробіологічних досліджень на мікоплазми.

### *1. Реакція агрегат-гемаглютинації (РАГА).*

РАГА дозволяє виявити наявність антигену мікоплазм у сироватці крові хворого у концентрації 0,001–0,0001 мкг/мл (по білку). Особливість РАГА полягає у тому, що для сенсibiliзації еритроцитів використовують агреговані глутаровим альдегідом (ГЛА) білки імунної сироватки, при цьому антитіла вводяться до складу тривимірних білкових комплексів, унаслідок чого частина активних центрів антитіл віддаляється від поверхні еритроцита і стає більш доступною для детермінант антигену.

*Постановка РАГА.* Реакцію проводять у планшетах мікротитратора «Такачі» з V-подібними лунками. Досліджувані проби сироваток розводять нормальною сироваткою кролика до 0,2 % концентрації. Потім готують кілька послідовних дворазових розведень (за допомогою мірних петель або автоматичних мікропіпеток, від 1 : 2 до 1 : 256), вносячи у лунки по 25 мкл, і додають у такому ж обсязі еритроцитарний діагностикум. Планшети інкубують протягом 2 год при 37 °С; отримані результати враховують по 4-хресній системі. При наявності антигену в досліджуваній сироватці еритроцити вистилають дно лунки; якщо антиген відсутній, утворюється компактний осад у вигляді точки.

*Облік результатів.* Контролі забезпечують наступне:

1) перевірку специфічності тест-системи (сенсibiliзовані еритроцити + розведення гетерологічних антигенів);

2) перевірку чутливості тест-системи, тобто визначення найбільшого розведення гомологічного антигену, що дає реакцію гемаглютинації з еритроцитами, сенсibiliзованими імунною сироваткою;

3) визначення титрів при можливій неспецифічній реакції з сенсibiliзованими еритроцитами; для цього еритроцити, сенсibiliзовані агрегрованою нормальною кролячою сироваткою, вносять у досліджувані проби (у різних розведеннях); титр при неспецифічній взаємодії зазвичай не перевищує 1 : 4.

Діагностично значущим є утворення антигену мікоплазм у сироватці крові у розведенні 1:8 та вище.

*2. Імуноферментний аналіз (ІФА).* Чутливість реакції – 0,001–0,0001 мкг/мл (по білку).

*Постановка реакції.* У лунки полістиролових планшетів вносять 100 мкл специфічних імуноглобулінів, виділених з антимікоплазмозової сироватки кролика у концентрації 10 мкг/мл (по білку) у КББ; рН 9,6.

Планшети інкубують протягом 18 год при +4 °С, після чого лунки тричі відмивають (по 5 хв) фосфатним буфером (ФСБ) з 0,05 % розчином твін-20 і видаляють залишки буфера. У лунки вносять приготовані на ФСБ з твіном розведення досліджуваних сироваток обсягом 100 мкл. Після інкубації протягом 1 год при 37 °С тричі відмивають ФСБ з розчином твін-20. Потім у лунки вносять 100 мкл кон'югату, що представляє собою специфічні імуноглобуліни, мічені пероксидазою хрому. Кон'югат розводять ФСБ із

розчином твін-20 (робоче розведення вказано на етикетці ампули). Суміш інкубують протягом 1 год при 37 °С, лунки тричі відмивають від незв'язаного кон'югату.

Реакцію «проявляють» шляхом внесення у лунки планшета 100 мкл свіжоприготовленого субстрат-індикаторного розчину, що містить 0,04 % ортофенілдіаміну, 0,006 %  $H_2O_2$  у 0,1 М цитратно-фосфатному буфері (рН 6,0) та інкубують протягом 30 хв у темряві при кімнатній температурі. Реакцію зупиняють шляхом додавання 1Н розчину  $H_2SO_4$ .

*Облік результатів.* Результат взаємодії ферменту з субстратом виявляють колориметрично (за помаранчевим фарбуванням). При візуальному обліку реакція вважається позитивною, якщо титр досліджуваної сироватки у 2 рази і більше перевищує такий у контролі. При спектрофотометричному обліку результатів показники оптичної щільності (ОЩ) аналізованої проби (при 492 нм) повинні у 2 і більше разів перевищувати показники ОЩ контрольної проби. Мінімальний діагностичний титр – 1 : 200. Специфічність реакції перевіряють за допомогою гетерологічних антигенів і гальмування реакції надлишком специфічних антитіл. Додатковим контролем є контроль субстрату і неспецифічної адсорбції кон'югата.

3. *Реакція непрямої імунофлюоресценції (РНІФ).* Даний метод може бути використаний для швидкого виявлення антигенів мікоплазм у деяких біосубстратах: у мазках з носоглотки, мокроті, плевральної рідини, мазках з уретри, піхви та ін.

Принципи цієї реакції, методи забору і підготовка матеріалу такі ж, як і при дослідженні на хламідіоз. Зскрібок або краплю досліджуваного матеріалу наносять на чисте і знежирене предметне скло і розподіляють тонким шаром. Препарат підсушують на повітрі і фіксують в охолоджену ацетоні або етанолі (96 °С) протягом 15 хв. Фіксовані препарати можуть зберігатися у холодильнику при +4 °С. Препарати повинні містити велику кількість клітин.

*Постановка реакції.* Препарат ділять склографом на дві частини для одночасного контролювання специфічності методу. Одну частину обробляють специфічною гіперімунною кролячою сироваткою у робочому розведенні. Після цього препарат поміщають у вологу камеру на 30 хв при 37 °С.

Робоче розведення попередньо визначають на серії однакових препаратів, приготованих із відмитої бульйонної культури мікоплазм або відбитків колоній. Найбільше розведення сироватки, при якому спостерігається специфічне світіння клітин мікоплазм, приймають за робоче. Послідовні розведення імунної сироватки роблять 0,001–0,15 М розчином ФСБ; рН – 7,2–7,4. Через 30 хв препарати промивають у трьох порціях ФСБ (рН 7,2–7,4), підсушують на повітрі і обробляють всю поверхню антитілами, міченими флюорохромом, взятими з робочого розведення. Робоче розведення міче-

ного антивидового глобуліну вказано на кожній ампулі і зазвичай відповідає оптимальному. Потім препарати поміщають на 30 хв у вологу камеру при 37 °С, тричі промивають ФСБ, споліскують водопровідною водою, підсушують на повітрі і переглядають під люмінесцентним мікроскопом у падаючому світлі з імерсією.

*Облік і оцінка результатів.* Позитивна реакція проявляється у вигляді інтенсивного смарагдово-зеленого гранулярного світіння мікоплазм на мембранах клітин і в міжклітинному просторі.

Результат вважається позитивним, якщо у препараті можна знайти не менш 10 зелених гранул, що світяться.

Даний метод має високу специфічність і чутливість, він застосовується для виявлення мікоплазм практично у будь-якому матеріалі і дозволяє кількісно оцінити масивність інвазії збудника. Метод використовують для виявлення тих видів мікоплазм, до яких є специфічні гіперімунні сироватки, але відсутні тест-системи для прямої РІФ.

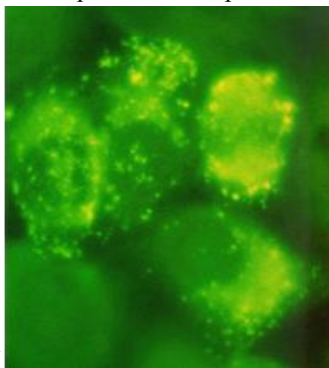
*4. Реакція прямої імунофлюоресценції (РІФ).* Для виявлення антигенів *M. hominis*, *U. urealyticum*, і *M. pneumoniae*.

У якості флюоресцентної мітки використовують ФІТЦ (флюоресцеїн-ізотіоціанат). Мікоплазми та уреаплазми фарбуються у яскраво-зелений колір та виявляються на мембрані клітин і у міжклітинному просторі.

Після того, як досліджуваний матеріал підсохне, його фіксують холодним безводним ацетоном або 96° спиртом протягом 15 хв. Далі матеріал фарбують (проводять РІФ). Імунну сироватку наносять на мазок, рівномірно розподіляючи її по всій поверхні мазку, далі ставлять у вологу камеру термостату (37 °С) на 25 хв. Після цього препарат промивають водопровідною водою у текучому струмені (10–15 хв), ополіскують декілька разів фосфатним буфером (рН 7,2). Препарати висушують і проводять мікроскопію у люмінесцентному мікроскопі.

Мікоплазми є мембранними паразитами, тому в люмінесцентному мікроскопі вони видні як зелені гранули, розташовані на поверхні клітин та у безпосередній близькості до них (рис. 7). Результати враховують позитивними при наявності у препараті не менш 10 світних гранул. Мазок повинен мати велику кількість клітин для того, щоб уникнути помилкового негативного результату. Метод вимагає мінімальної витрати часу (1,5 год).

*Виявлення антитіл до мікоплазм.* Антитіла до мікоплазм виявляють за допомогою різних реакцій: пригнічення росту (РІР), інгібіції метаболізму (РІМ), мікоплазмацидного тесту, РЗК і ін. В останні роки найбільш часто



**Рис. 7.** Виявлення мікоплазм методом РІФ: мікоплазми у вигляді гранул на поверхні епітеліальних клітин

застосовують реакцію пасивної гемаглютинації (РПГА) та імуноферментний аналіз (ІФА).

Ці реакції доцільно застосовувати для діагностики свіжих клінічних форм урогенітального мікоплазмозу, коли спостерігається зростання титру антитіл не менш ніж у 4 рази, що є важливим діагностичним критерієм. Разом із тим вказані діагностичні тести мають істотний недолік, який полягає у можливості їхнього позитивного результату у практично здорових людей. Крім того, у ряді випадків серологічні дослідження не дають змоги проводити чітку інтерпретацію отриманих результатів, що пояснюється високою антигенною різноманітністю мікоплазм. Утруднення аналізу результатів серологічних досліджень при дослідженні на урогенітальний мікоплазмоз пояснюється також особливістю морфології мікоплазм, зокрема, вони не мають клітинної оболонки, що суттєво послаблює виразність антигенних детермінант і знижує стимуляцію антитілоутворення при мікоплазмозі.

Матеріалом для дослідження служить сироватка крові. Часто доводиться досліджувати парні сироватки, тому що діагностичне значення має наростання титру антитіл у динаміці захворювання у 4 і більше разів. При урогенітальному мікоплазмозі виявлення антитіл має меншу діагностичну цінність, ніж виявлення антигенів, тому що інфекція, як правило, має хронічний перебіг, а «урогенітальні» мікоплазми є слабкими антигенними подразниками. Проте і при урогенітальному мікоплазмозі у ряді випадків необхідно проводити дослідження на наявність антитіл.

### 3. Реакція пасивної гемаглютинації (РПГА)

Чутливість реакції 0,01-0,001 мкг / мл (по білку).

*Постановка реакції.* Постановку реакції здійснюють у планшетах мікротитратора «Такачі», досліджувані сироватки розводять у 0,2 % розчині нормальної сироватки кролика. Для дворазового розведення сироватки хворих використовують петлі або мікропіпетки на 25 мкл. У такому ж обсязі вносять у лунки тест-еритроцити (8 % суспензія стабілізованих еритроцитів людини 0(1) групи крові, резус-негативної, сенсibilізовані розчинним антигеном мікоплазм). Після інкубації протягом 2 год при 37 °С проводять облік отриманих результатів по 4-хресній системі.

*Облік результатів:* (++++) – аглютинат вистилає дно всієї лунки; (+++) – аглютинат вистилає 50 % всієї поверхні лунки; (++) – аглютинат вистилає 25 % поверхні лунки; (+) – аглютинат вистилає невеликий ореол навколо осаду; (–) – аглютинат утворює компактний осад на дні лунки.

Позитивними вважаються реакції з чіткими показниками: (++++), (+++) і (++) . Діагностичний титр – 1 : 32.

Контролі забезпечують: 1) перевірку специфічності тест-системи (сенсibilізовані еритроцити + розведення антитіл); 2) перевірку чутливості

тест-системи, тобто визначення найбільшого розведення гомологічних антитіл при мікоплазмозі.

При мікоплазмозі діагностичне значення надають збільшенню титрів специфічних антитіл у парних сироватках крові (у 4 рази і більше) у динаміці захворювання. Першу пробу сироватки крові одержують у пацієнта на початку захворювання (бажано у перші 7 днів), другу – через 10–14 днів від початку захворювання.

4. *Імуноферментний аналіз (ІФА)*. Чутливість реакції 0,001–0,0001 мкг/мл (по білку). Метод виявлення антитіл класів М I G до антигенів мікоплазм і уреаплазм заснований на використанні непрямого імуноферментного аналізу на твердій фазі з використанням пероксидази хрому як маркерного ферменту.

*Постановка реакції*. У лунки полістиролового планшету вносять по 100 мкл розчинного антигену мікоплазм (концентрація 10 мкг/мл) у КББ; рН 9,4. Антигени являють собою білкову фракцію, виділену з цитоплазматичної фракції клітин мікоплазм при введенні  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .

Планшети інкубують при 4°C протягом 18 год, потім тричі відмивають по 5 хв ФСБ з 0,05 % розчином твін-20 і ретельно видаляють залишки буфера. У лунки, сенсibiliзовані антигеном, вносять послідовно дворазово розведені досліджувані сироватки обсягом 100 мкл або титрують автоматичною мікропіпеткою у ФСБ із розчином твін-20. Початкове розведення сироваток 1:100. Після інкубації протягом 1 год при 37 °C планшети тричі відмивають ФСБ з 0,05 % розчином Твін-20.

У лунки вносять кон'югат, що містить мічені пероксидазою хрому антитіла кролика до глобулінів сироватки людини у робочому розведенні обсягом 100 мкл. Для розведення використовують ФСБ із твіном. Після інкубації протягом 1 год при 37 °C планшети тричі відмивають від надлишку кон'югату і вносять 100 мкл свіжоприготовленого субстрат-індикаторного розчину, що містить 0,04 % розчин ортофенілєндіаміну, 0,05 %  $\text{H}_2\text{O}_2$  у 0,1 М цитратно-фосфатному буфері та інкубують протягом 30 хв у темряві при кімнатній температурі. Реакцію зупиняють шляхом додавання 1Н розчину  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Внаслідок взаємодії хромогену з пероксидазою, зв'язаною з антитілами, розчин утворює жовте забарвлення. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна вмісту в сироватці антитіл до антигенів мікоплазм.

*Облік результатів*. Інтенсивність забарвлення у лунках визначають спектрофотометрично (при довжині хвилі 492 нм) або візуально. При візуальному обліку реакція вважається позитивною, якщо титр досліджуваної сироватки у 2 рази і більше перевищує такий у контролі. При спектрофотометричному обліку результатів показники оптичної щільності (ОЩ) аналізованої проби повинні у 2 і більше разів перевищувати показники ОЩ контрольної проби.

*Молекулярно-біологічний метод. Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР).*

В останнє десятиріччя дедалі більшого поширення у діагностиці урогенітального мікоплазмозу набуває застосування тест-системи на головні реакції ампліфікації ДНК для визначення мікоплазм — полімеразна ланцюгова реакція. Важливою перевагою цього діагностичного методу є дуже висока чутливість. Використовування ПЛР на практиці дало підставу істотно скоротити час та підвищити надійність кінцевих результатів діагностики низки інфекційних захворювань, зокрема мікоплазмозової етіології.

Крім того, підбір специфічних праймерів до певних видів урогенітальних мікоплазм при діагностуванні методом ПЛР дає змогу з досить високою достовірністю ідентифікувати збудника, що дуже важливо для розширення уявлень про етіологічне значення окремих видів і розвитку запальних захворювань сечостатевого тракту. Згідно з даними ряду авторів, специфічність та чутливість методу ПЛР становить 99–100 %.

Для реакції ампліфікації беруть 25–50 мкл середовища. Суміш, яка використовується для реакції, містить 60 ммоль трис-НСІ (рН 8,8), 16,6 ммоль  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 1,5 ммоль  $\text{MgCl}_2$ , 10 ммоль кожного з чотирьох дезоксирибонуклеотидтрифосфатів, по 12 нмоль кожного праймера, ДНК-мішень (до 1 мкл) та 2 од. Таq-полімерази. Для проведення ПЛР використовують ампліфікатор. Програма ампліфікації включає 30–35 циклів у режимі: денатурація – при 94 °С протягом 1 хв, приєднання праймерів – при температурі від 45 до 65 °С (величина розраховується теоретично, яка відповідає температурі плавлення використовуваних праймерів) – протягом 0,5 хв, синтез – при 72 °С протягом 2 хв. Продукти ампліфікації після електрофорезу виявляють у 1,2 % агарозному гелі, пофарбованому етидіум-бромідом. Наявність фрагмента ДНК із заданим показником враховується у якості позитивного результату.

Амплікони виявляють також шляхом гібридизації продукту ампліфікації з біотильованим або міченим радіоактивним ізотопом олігонуклеотидів, комплементарної послідовності ДНК, розташованої усередині ампліфікованого фрагмента. Гібридизацію проводять на фільтрах або у мікропланшетах. Останнє дає можливість кількісно оцінювати результати ПЛР.

Молекулярно-біологічні методи мають дуже високу чутливість. Однак факт виявлення мікроба у клінічному матеріалі не дозволяє зробити висновок про етіологічне значення результату, тому що мікоплазмозом інфекція дуже широко розповсюджено серед здорових людей. Для підтвердження діагнозу необхідно провести дослідження, що підтверджує етіологічну роль мікроорганізму. Таким дослідженням є виявлення динаміки титру специфічних антитіл.

Дотепер чітко не визначені критичні кількісні показники масивності інвазії мікоплазм або уреоплазм, які свідчать про прояви їхньої патогенності. У зв'язку з цим для уникнення помилок при діагностиці мікоплазмозової або уреоплазмозової інфекції рекомендується застосовувати комплекс діагностичних методів. Зокрема, якщо мікоплазми або уреоплазми діагнос-

туються мікробіологічним методом, методом РІФ або ПЛР, і при цьому паралельно у сироватці крові обстежених пацієнтів методом ІФА визначаються антигени цих збудників, роблять висновок про наявність генералізованого інфекційного процесу. Чимало дослідників вважають, що помилки при лабораторній діагностиці уrogenітального мікоплазмозу можуть бути зумовлені різними причинами, що потребує критичної оцінки їх і окремого розгляду в конкретному разі. Зокрема, вказується, що виявлення мікоплазм мікробіологічним методом у разі відсутності позитивних результатів у РІФ або ПЛР пояснюється погано (некваліфіковано) взятим для дослідження матеріалом – малим вмістом клітин у мазку. Позитивні дані у ПЛР при негативних результатах мікробіологічного і серологічного методів та РІФ свідчать про наявність місцевої інфекції та її нечисленність. У таких випадках, якщо немає клінічних виявів, можна говорити про безсимптомне носійство. Негативні результати мікробіологічного методу при позитивних даних у РІФ і ПЛР можуть свідчити про неадекватність застосованих середовищ. Крім того, якщо мікоплазми, уреapлазми або їхні антигени, антитіла до них були виявлені тільки одним із застосованих діагностичних методів, то через певний проміжок часу (1 місяць) рекомендується проводити повторне дослідження для підтвердження безсимптомного носійства.

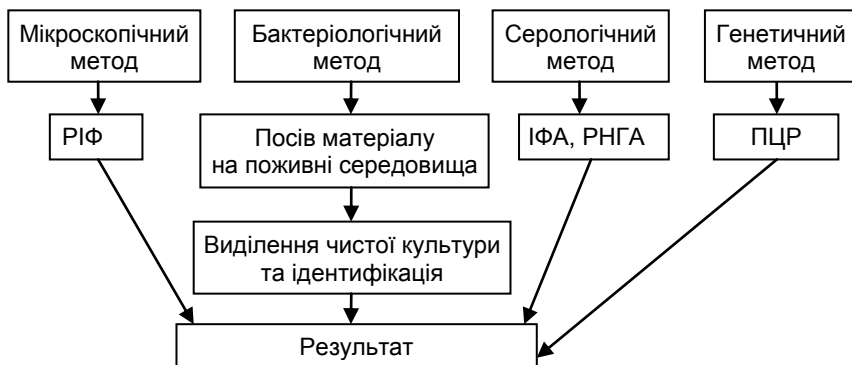


Схема лабораторної діагностики мікоплазмозів

### Термінологія

**Клас:** *Mollicutes*.

**Родина:** *Mycoplasmataceae*.

**Рід:** *Mycoplasma*, *Ureaplasma*.

**Види:** *M. hominis*, *M. genitalium*, *M. fermentans*, *M. penetrans*, *M. arthritidis*, *M. buccale*, *M. faucium*, *M. lipophilum*, *M. orale*, *M. salivarium*, *M. pirum*, *M. pneumoniae*, *M. spermatophilum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Acholeplasma laidlawii*.



### **Запитання для контролю знань**

1. Загальна характеристика мікоплазм. Морфологія, біологічні властивості. Класифікація.
2. Патогенез, клінічні прояви мікоплазмозів. Імунітет.
3. Правила відбору матеріалу для лабораторного дослідження. Лабораторна діагностика мікоплазмозів.
4. Специфічна профілактика і лікування.

### **Тестові завдання**

1. У стоматологічному відділенні ОКЛ зареєстрований спалах вогнищевої пневмонії. У зв'язку з тим, що збудником захворювання могла бути *M. pneumoniae*, то яка з наведених нижче серологічних реакцій може застосовуватися для підтвердження цього діагнозу?  
A. РА.      B. РП.      C. РПГА.      D. РГА.      E. РГГА.
2. У ШВД звернувся чоловік, якому на підставі клінічної картини і лабораторних досліджень був поставлений діагноз «негонококовий уретрит». Який мікроорганізм найбільш ймовірно є збудником даного захворювання?  
A. *Trichomonas vaginalis*.      D. *Chlamydophila psittaci*.  
B. *Ureaplasma urealyticum*.      E. *Staphylococcus aureus*.  
C. *Chlamydia trachomatis*.
3. При проведенні лабораторного дослідження матеріалу, взятого у хворого на простатит, на щільному живильному середовищі виростили дрібні колонії. Лікар-лаборант провів додаткові тести і поставив діагноз «уреаплазмоз простатит». На якій підставі був поставлений такий діагноз?  
A. Ріст виділеної культури на середовищі з додаванням пеніциліну.  
B. Наявність  $\alpha$ -гемолізу на кров'яному агарі.  
C. Наявність  $\beta$ -гемолізу на кров'яному агарі.  
D. Ріст на середовищах з ацетатом талію.  
E. Визначення уреазної активності.
4. Під час посіву мокротиння, взятого у хворого на пневмонію, на кров'яному агарі виростили дрібні колонії з більш темним і зернистим центром, що нагадують окату яєчно, оточені зоною гемолізу. Культура якого мікроорганізму була виділена на агарі?  
A. *C. trachomatis*, серовар L1-3.      D. *C. psittaci*.  
B. *C. trachomatis*, серовар D-K.      E. *C. pneumoniae*.  
C. *M. pneumoniae*.
5. Назвіть найбільш імовірні шляхи зараження *M. pneumoniae*.  
A. Статевий і контактний.  
B. Контактний і повітряно-краплинний.  
C. Фекально-оральний.  
D. Трансмісивний, повітряно-краплинний.  
E. Фекально-оральний і контактний

## Література

### *Основна*

1. Борисов Л. Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология / Л. Б. Борисов – Москва : Медицина, 2001. – 721 с.
2. Воробьев А. А. Медицинская и санитарная микробиология : учеб. пособие для студ. высш. мед. учеб. зав. / А. А. Воробьев, Ю. С. Кривошеин, В. П. Ширококов. – Москва : Издательский центр «Академия», 2003. – 464 с.
3. Микробиология / И. Л. Дикий, И. Ю. Холупяк, Н. Е. Шевелева, М. Ю. Стегний. – Харьков : Прапор, изд. УкрФА, 1999. – 413 с.
4. Пяткін К. Д. Микробиологія з вірусологією та імунологією / К. Д. Пяткін, Ю. С. Кривошеїн. – Київ : Вища школа, 1992. – 431 с.
5. Ситнік І. О. Микробиологія, вірусологія, імунологія / І. О. Ситнік, С. І. Климяк, М. С. Творко. – Тернопіль : Укрмедкнига, 1998. – 392 с.

### *Додаткова*

1. Микоплазмы: молекулярная и клеточная биология, взаимодействие с иммунной системой млекопитающих, патогенность, диагностика / С. Н. Борхсениус, О. А. Чернова, В. М. Чернов, М. С. Вонский. – Санкт-Петербург : Наука, 2002. – 319 с.
2. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике : пособие для врачей / А. Г. Чучалин, А. И. Синкопальников, Р. С. Козлов и др. – Москва, 2010. – 106 с.
3. Дмитриев Г. А. Лабораторная диагностика бактериальных урогенитальных инфекций / Г. А. Дмитриев. – Москва : Медицинская книга, 2007. – 332 с.
4. Козлова В. И. Вирусные, хламидийные и микоплазменные заболевания гениталий : рук-во для врачей / В. И. Козлова, А. Ф. Пухнер. – Москва : Триада-Х, 2003. – 439 с.
5. Коротяев А. И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология : учебник для мед. вузов / А. И. Коротяев, С. А. Бабычев. – Санкт-Петербург : СпецЛит, 2008. – 767 с.
6. Микоплазменные инфекции урогенитального тракта / Н. В. Кунгуров, Н. П. Евстигнеева, Ю. Н. Кузнецова, Н. В. Зильберберг. – Курган : Изд-во «Зауралье», 2010. – 132 с.
7. Медична мікробиологія, вірусологія та імунологія : підручник для студ. вищ. мед. навч. закл. / за ред. В. П. Ширококова. – 2-е вид. – Вінниця : Нова книга, 2011. – 952 с.
8. Медицинская микробиология / под ред. В. И. Покровского. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2001. – 768 с.
9. Медицинская микробиология / под ред. А. М. Королюка, В. Б. Сбойчакова. – Санкт-Петербург, 2002. – 267 с.

10. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология : учебник по дисциплине «Микробиология, вирусология и иммунология» для студентов учреждений высш. проф. образования / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 480 с.
11. Инфекционные болезни и эпидемиология / В. И. Покровский, С. Г. Пак, Н. И. Брико, Б. К. Данилкин. – 2-е изд. – Москва : Изд. группа «ГЭОТАР-Медиа», 2009. – С. 814.
12. Прозоровский С. В. Медицинская микоплазмология / С. В. Прозоровский, И. В. Раковская, Ю. В. Вульфович. – Москва : Медицина, 1995. – 288 с.
13. Пухнер А. Ф. Вирусные, хламидийные и микоплазменные заболевания гениталий, передаваемые половым путем / А. Ф. Пухнер, В. И. Козлова. – Москва : Предтеча, 2010. – 791 с.
14. Раковская И. В. Микоплазмы человека и микоплазменные инфекции (Лекция. Ч. II) / И. В. Раковская // Клин. лаб. диагност. – 2005. – № 3. – С. 25–32.
15. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / под ред. В. В. Теца. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : Медицина, 2002. – 352 с.
16. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований : учеб. пособие / под ред. А. С. Лабинской, Л. П. Блинковой, А. С. Ещиной. – Москва : ОАО «Издательство медицина», 2005. – 600 с.
17. Конспект лекций.

*Навчальне видання*

## **МІКОПЛАЗМИ**

**Методичні вказівки з дисципліни  
«Мікробіологія, вірусологія та імунологія  
з мікробіологічною діагностикою»  
для студентів-бакалаврів II–IV курсу  
за спеціальністю  
«Технології медичної діагностики та лікування»**

Упорядники      Мішина Марина Митрофанівна  
                            Замазій Тетяна Миколаївна  
                            Коваленко Наталія Іллівна

Відповідальний за випуск      М. М. Мішина



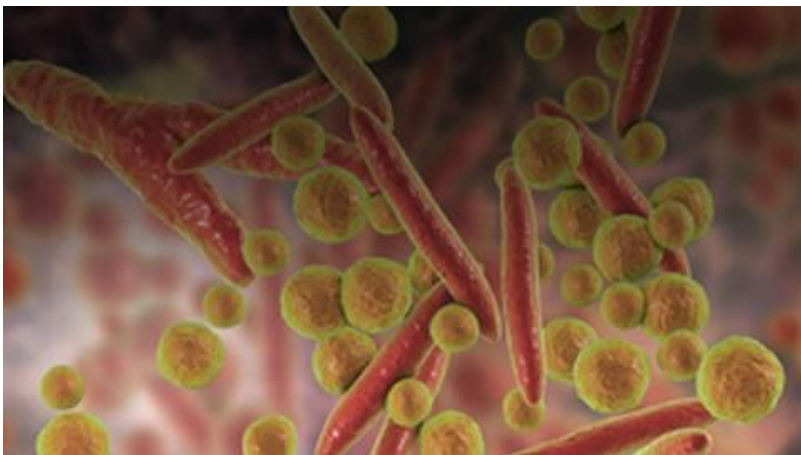
Редактор Є. В. Рубцова  
Комп'ютерна верстка О. Ю. Лавриненко  
Комп'ютерний набір Т. М. Замазій

Формат А5. Ум. друк. арк. .3,3. Зам. № 18-33659.

---

**Редакційно-видавничий відділ  
ХНМУ, пр. Науки, 4, м. Харків, 61022  
izdatknmurio@gmail.com**

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до Державного реєстру видавництва, виготівників і розповсюджувачів видавничої продукції серії ДК № 3242 від 18.07.2008.



# МІКОПЛАЗМИ

*Методичні вказівки з дисципліни  
«Мікробіологія, вірусологія та імунологія  
з мікробіологічною діагностикою»  
для студентів-бакалаврів II–IV курсу  
за спеціальністю  
«Технології медичної діагностики та лікування»*