

Ежова С.А.<sup>1</sup>, Ворошилина Е.С.<sup>2</sup>, Хаютин Л.В.<sup>3</sup>

## Ассоциация ВИЧ и генитальных микоплазм у беременных женщин на высоко активной антиретровирусной терапии

1 - Отделение дородовой госпитализации, ГБУЗ СО ОДКБ №1 Областной перинатальный центр, г. Екатеринбург; 2 - Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии ГОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Росздрава, г.Екатеринбург; 3 - ООО Медико-фармацевтический центр «Гармония», г. Екатеринбург

Ezhova S.A., Voroshilina E.S., Hayutin L.V.

### The association of HIV and genital mycoplasmas in pregnant women on HAART

#### Резюме

Микоплазменная инфекция наиболее часто связана с заболеваемостью мочеполовой сферы и дыхательных путей и, в большинстве случаев, отличается устойчивым течением. У ВИЧ-инфицированных пациентов распространенность и роль генитальных микоплазм не были хорошо изучены. Это исследование проводилось с использованием полимеразной цепной реакции с детекцией в реальном времени (ПЦР-РВ) для оценки распространенности *Mycoplasma hominis* у 106 ВИЧ инфицированных беременных женщин и 106 здоровых ВИЧ-негативных пациенток. Было показано, что *M.hominis* значительно более распространена у пациенток с ВИЧ / СПИДом. (63 (74,1%), и 10 (47,6%) соответственно,  $p < 0,05$ ) Необходимо дальнейшие исследования, чтобы установить причинно-следственную связь и выявить факторы риска для инфицирования *Mycoplasma spp.* в группе пациентов ВИЧ / СПИДа.

**Ключевые слова:** ВИЧ/СПИД, ВААРТ, *Mycoplasma hominis*, ПЦР в реальном времени

#### Summary

*Mycoplasma* infections are most frequently associated with disease in the urogenital or respiratory tracts and, in most cases, mycoplasmas infect the host persistently. In HIV-infected individuals the prevalence and role of genital mycoplasmas has not been well studied. This study employed polymerase chain reaction (PCR) to examine the prevalence of *Mycoplasma hominis* in 106 HIV/AIDS patients, and 106 healthy volunteers from endocervical swabs for women. *M. hominis* were detected in 63 (74,1%), and 10 (47,6%) patients in the HIV/AIDS group. The patients who refused highly active antiretroviral therapy (HAART) had a much higher risk of *Mycoplasma* infection ( $P < 0,05$ ). This study showed that *M. hominis* were significantly more prevalent in HIV/AIDS patients. Further research will be required to confirm a causal relationship and to identify risk factors for *Mycoplasma* infection in HIV/AIDS populations.

**Key words:** HIV/AIDS, HAART, polymerase chain reaction (PCR) real-time *Mycoplasma hominis*

#### Введение

Микоплазмы составляют особый обширный класс микроорганизмов, отличительными чертами которых являются: малые размеры жизнеспособных частиц, близкие к размерам вирусов; отсутствие ригидной клеточной стенки; содержание в клетках ДНК и РНК, в отличие от вирусов, имеющих одну из кислот; способность расти на бесклеточных питательных средах; размножение путем бинарного деления, как и у бактерий. Перечисленные свойства микоплазм, отличающие их от бактерий, являются основанием для выделения их в особый класс Mollicutes. По месту обитания микоплазмы,

живущие в организме человека, делятся на орофарингеальные и генитальные виды. Наиболее часто из гениталий выделяют *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis*, которые хорошо растут на специальных питательных средах.

*M.hominis* и *U.urealyticum* присутствуют в уретре, влагалище, прямой кишке у 20–75% здоровых людей. [2] Многочисленные клинико-микробиологические исследования не смогли дать ответ на вопрос о роли микоплазм в акушерско-гинекологической и неонатальной инфекционной патологии, во всяком случае, однозначного ответа до настоящего времени нет.

*Mycoplasma hominis* (*M.hominis*) является условно-патогенным микроорганизмом, который может в норме колонизировать генитальный тракт, однако при ряде условий становится причиной инфекционной патологии репродуктивной системы у женщин. Установлено, что инфекции, ассоциированные с генитальными микоплазмами и уреаплазмами являются причиной интраамнио-нального воспаления, развитие которого серьезно ухудшает перинатальный прогноз в случае преждевременных родов. [7]

Частота выявления и роль генитальных микоплазм у ВИЧ-инфицированных до сих пор не была хорошо изучена. Все больше доказательств связи между ВИЧ и микоплазменной инфекцией.

Так было показано, что распространенность бактерий класса *Mycoplasma* среди ВИЧ-инфицированных женщин-работниц секс-индустрии в Уганде составила 14% и была выше, чем среди ВИЧ-негативных. [6]

У ВИЧ-инфицированных мужчин в Китае, практикующих секс и с женщинами, и с мужчинами, так же имеют место более высокие уровни выявления *Mycoplasma* spp., особенно при прогрессировании ВИЧ и отказе от высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ). ( $P < 0,05$ ). [4] Это связано с тем, что более высокий уровень CD4-клеток выступал, как своеобразный защитный фактор против микоплазменной инфекции. [5]

Большинство исследований особенностей влагалищного микробиоценоза среди популяции ВИЧ-инфицированных женщин проводилось в странах Африки южнее Сахары. Изучению данного вопроса среди ВИЧ-позитивных женщин европеоидной расы не уделено должного внимания в мировой научной литературе.

Методы амплификации нуклеиновых кислот, в частности ПЦР, упрощают лабораторную диагностику, однако, при высокой чувствительности ПЦР и других генных методик, они не могут дать ответ о количестве уреаплазм в клиническом образце, а регистрируют лишь факт присутствия генетического материала уреаплазм. Лишь ПЦР в реальном времени обеспечивает количественное определение копий ДНК микоплазм или уреаплазм в материале.

**Цель исследования** - определить частоту встречаемости *M.hominis* у ВИЧ-инфицированных женщин репродуктивного возраста в зависимости от приема ВААРТ.

## Материалы и методы

В исследование были включены 106 ВИЧ-инфицированных беременных женщин в разных сроках гестации в возрасте от 18 до 45 лет (средний возраст  $26,2 \pm 0,29$  года), состоящие на учете в Областном центре по профилактике и лечению ВИЧ-инфекции (г. Екатеринбург) в период с декабря 2009 по март 2010 года. Группа сравнения была набрана из числа ВИЧ-серонегативных женщин, наблюдавшихся по беременности в ООО Медико-фармацевтический центр «Гармония», г. Екатеринбург, по принципу случай-контроль, совпадающие с ВИЧ-инфицированными пациентками по следующим параметрам: возраст, срок гестации на момент обследо-

вания, характер жалоб и клинических проявлений, микроскопическая картина. Все пациентки были жительницами Уральского федерального округа. У всех пациенток было получено информированное добровольное согласие на проведение исследования и обработку персональных данных.

Критерии включения в основную группу: женщины репродуктивного возраста с диагностированной ВИЧ-инфекцией, получающие и не получающие ВААРТ. Критерии исключения: тяжелая экстрагенитальная патология (онкологические заболевания, туберкулез и пр.), присутствие облигатно патогенных возбудителей инфекций, передающихся половым путем (*Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoea*, *Mycoplasma genitalium*), сифилиса, терапия в течение 4 недель до обследования системными или местными антимикробными или антимикотическими препаратами.

В обеих группах 80 (75,5%) женщин были обследованы в I триместре, 21 (19,8%) — во втором триместре и 5 (4,7%) — в третьем триместре. Средний срок беременности в неделях составил -  $14,4 \pm 0,55$ .

У пациенток основной группы на момент обследования у 86 (81,2%) женщин была установлена 3 стадия ВИЧ-инфекции, у 20 (18,8%) — 4 стадия, в том числе у 19 (17,9%) — стадия 4а, и у 1 (0,9%) — стадия 4в.

В группе ВИЧ-инфицированных 21 (19,8%) женщина получала ВААРТ, в том числе 11 (10,4%) с 3 стадией ВИЧ-инфекции, 9 (8,5%) со стадией 4а; 1 (0,9%) со стадией 4в.

Материал для исследования собирали с заднебоковой стенки влагалища в пробирку Эппендорф, содержащую 1 мл физиологического раствора, хранение и транспортировку материала проводили согласно действующим нормативным документам. [3] ДНК выделяли с использованием комплекта реагентов ПРОБА-ГС (ООО «НПО ДНК-Технология»). Исследование биоценоза влагалища проводили методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с использованием реагентов Фемофлор (ООО «НПО ДНК-Технология») в детектирующем амплификаторе ДТ-96 согласно инструкции производителя (ООО «НПО ДНК-Технология»). Интерпретацию результатов ПЦР-РВ проводили в соответствии с ранее разработанными критериями [1]

Для статистической обработки данных использовали программный пакет SPSS Statistics версии 17.0. В качестве меры центральной тенденции количественных признаков была выбрана медиана, а в качестве интервальной оценки — верхний и нижний квартили, т.к. исследуемые выборки не подчиняются закону нормального распределения.

## Результаты и обсуждение

Исследование вагинального биотопа методом ПЦР-РВ у беременных показало, что состояние микробиоценоза влагалища у ВИЧ-инфицированных женщин характеризуется высокой частотой дисбиозов по сравнению с ВИЧ серонегативными женщинами. Только у 22 (19%) ВИЧ-инфицированных беременных основной группы со-

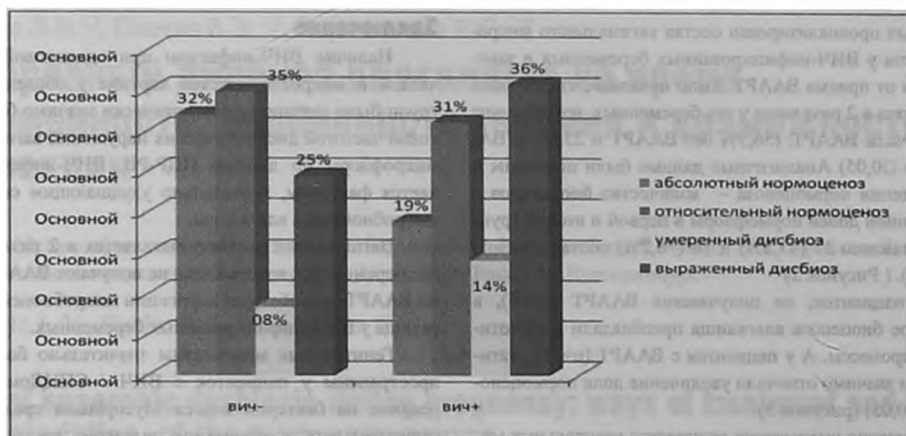


Рисунок 1. Структура микробиоценоза беременных основной и контрольной групп.

стояние микробиоценоза соответствовало критериям абсолютного нормоценоза по результатам ПЦР-РВ. Условный нормоценоз в основной группе выявили у 31 (31%) женщин. Таким образом, варианты микробиоценоза с сохраненной нормофлорой присутствовали у половины пациенток. У второй половины ВИЧ-позитивных беременных выявили дисбиоз, причем на долю умеренного дисбиоза пришлось только 18 (14%) случаев, выраженный дисбиоз встречался значительно чаще – у 35(36%) женщин. (Рисунок 1)

Частота выявления дисбиозов была статистически значимо выше у беременных с ВИЧ-инфекцией ( $p=0,018$ , OR 2,03, 1,17–3,53), как умеренные, так и выраженные дисбиозы чаще обнаруживали у женщин этой группы.

Частота выявления *M.hominis* в клинически значимом количестве (более 104 ГЭ/мл) также была статистически значимо выше в группе ВИЧ-инфицированных и составила 63 (74,1%), и 10 (47,6%) в группе сравнения ( $p=1,4*103$ ).

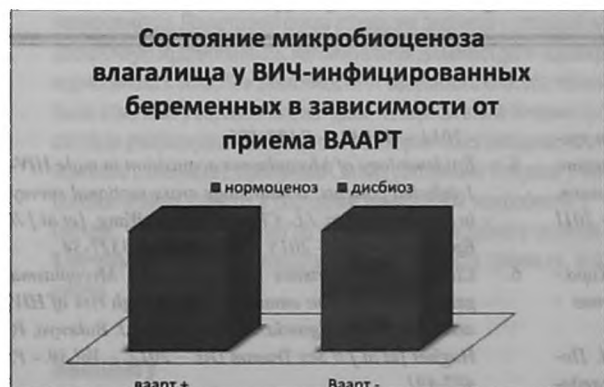


Рисунок 2. Состояние микробиоценоза влагалища ВИЧ-инфицированных беременных в зависимости от приема ВААРТ.

Рисунок 3. Влияние приема ВААРТ на влагалищный биоценоз



Был проанализирован состав вагинального микробиоценоза у ВИЧ-инфицированных беременных в зависимости от приема ВААРТ. Было показано, что дисбиоз выявляется в 2 раза чаще у тех беременных, которые еще не получали ВААРТ. (56,5% без ВААРТ и 23,8% с ВААРТ) ( $p < 0,05$ ) Аналогичные данные были получены и в отношении нормоценоза – количество биоценозов с сохраненной долей нормофлоры в первой и второй группах составляло 37 (43,5%) и 16 (76,2%) соответственно ( $p < 0,05$ ). (Рисунок 2)

У пациенток, не получавших ВААРТ ( $n=85$ ), в структуре биоценоза влагалища преобладали дисбиотические процессы. А у пациенток с ВААРТ ( $n=21$ ) статистически значимо отмечали увеличение доли нормоценозов. ( $p < 0,05$ ) (рисунок 3).

Отмечено уменьшение количества генитальных микоплазм в составе вагинального микробиоценоза на фоне приема ВААРТ. Установлено, что среди беременных, не получавших ВААРТ генитальные микоплазмы в диагностически значимом количестве (более 104 г/мл) выявлялись достоверно чаще, чем среди беременных, получавших ВААРТ (63 (74,1%), и 10 (47,6%) соответственно,  $p=0,026$ ).

Принем ВААРТ коррелирует с увеличением доли нормоценозов в структуре биоценоза влагалища ВИЧ-инфицированных беременных. При приеме ВААРТ снижается количество генитальных микоплазм в структуре биоценоза влагалища ВИЧ-инфицированных беременных.

## Заключение

Наличие ВИЧ-инфекции при одинаковой клинической и микроскопической картине у обследованных групп было связано со статистически значимо более высокой частотой дисбиотических нарушений вагинальной микрофлоры по данным ПЦР-РВ. ВИЧ-инфекция является фактором, значительно ухудшающим состояние микробиоценоза влагалища.

Вагинальный дисбиоз выявляется в 2 раза чаще у тех беременных, которые еще не получают ВААРТ. Прием ВААРТ способствует коррекции микробиоценоза влагалища у ВИЧ-инфицированных беременных.

Генитальные микоплазмы значительно более распространены у пациенток с ВИЧ / СПИДом. Тестирование на бактерии класса *Mycoplasma* среди ВИЧ-отрицательных в популяции высокого риска должно проводиться в качестве стратегии профилактики ВИЧ. Целесообразно введение скрининга на микоплазменную инфекцию среди всех ВИЧ-позитивных женщин. ■

*С.А. Ежова. Отделение дородовой госпитализации, ГБУЗ СО ОДКБ №1 Областной перинатальный центр, г. Екатеринбург; Е.С. Ворошилина, к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Росздрава, г.Екатеринбург; Л.В. Хяютим, заместитель директора, ООО Медико-фармацевтический центр «Гармония», г. Екатеринбург;*

## Литература:

1. Ворошилина Е.С. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной полимеразной цепной реакции: что есть норма? / Е.С. Ворошилина, А.Е. Донников, Е. Э. Плотко // Акушерство и гинекология. – 2011 - №1: 57-65
2. Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз / Е.Ф. Кира.- Спб.- Медицинское информационное агентство - 2012. - 364с.
3. Савичева А.М., Соколовский Е.В., Дамейка М. Порядок проведения микроскопического исследования мазков из урогенитального тракта. Методические рекомендации для лечащих врачей. Санкт-Петербург: Издательство Н-Л; 2007.
4. Alarming incidence of genital mycoplasmas among HIV-1-infected MSM in Jiangsu, China. / J. Wu, B. Wang, L. Chen [et al.] // Eur J Clin Microbiol Infect Dis. - 2014. - Vol.33. – P.189-195.
5. Epidemiology of Mycoplasma acquisition in male HIV-1 infected patients: a multistage cross-sectional survey in Jiangsu, China. / L. Chen, J. Wu, B. Wang, [et al.] // Epidemiol Infect. – 2015. – Vol.143. – P. 3327-34
6. Clinical characteristics associated with Mycoplasma genitalium infection among women at high risk of HIV and other STI in Uganda. / J. Vandepitte, J. Bukonya, P. Hughes [et al.] // Sex Transm Dis. – 2012. - Vol.39. - P. 487-491.
7. Polymicrobial Amniotic Fluid Infection with Mycoplasma/Ureaplasma and Other Bacteria Induces Severe Intra-Amniotic Inflammation Associated with Poor Perinatal Prognosis in Preterm Labor. / N. Yoneda, S. Yoneda, H. Niimi [et al.] // Am J Reprod Immunol. – 2015. – Vol.10. – P.111