

УДК 616.649:616.594.171.2:611.623:577.214.3

УРОГЕНИТАЛЬНЫЙ КАНДИДОЗ И БИОЦЕНОЗ УРЕТРЫ У МУЖЧИН – ИЗУЧЕНИЕ И ОЦЕНКА С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ПЦР

¹Игнатовский А.В. (ассистент кафедры)*,

¹Соколовский Е.В. (зав. кафедрой),

²Щипицына Е.В. (с.н.с.), ²Савичева А.М.
(руководитель лаборатории)

¹Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет им. акад. И.П.Павлова
(кафедра дерматовенерологии с клиникой); ²НИИ
акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта, Россия

© Коллектив авторов, 2012

*В статье обсуждены возможности оценки микробиоценоза уретры у мужчин с помощью метода амплификации нуклеиновых кислот в норме и при кандидозной инфекции урогенитального тракта. При исследовании микробиоценоза уретры выявили преобладание представителей анаэробной микробиоты уретры у мужчин. В ряде случаев у здоровых лиц представители аэробной микробиоты отсутствовали, а подавляющее большинство составили представители анаэробов. У здоровых мужчин могут быть обнаружены микроорганизмы, ассоциирующиеся у женщин с дисбиозом влагалища (*Atopobium vaginae*), не вызывая при этом воспалительной реакции. Достоверных различий в количестве *Candida* spp. между группой здоровых лиц и пациентов с кандидозным баланопоститом не наблюдали. Установили, что у здоровых мужчин при уменьшении количества анаэробной микробиоты в составе биоценоза уретры преобладали *Candida* spp. и *Ureaplasma* spp. в низких титрах.*

Ключевые слова: кандидозный баланопостит, микробиоценоз, полимеразная цепная реакция в реальном времени

UROGENITAL CANDIDOSIS AND BIOCENOSIS OF URETHRAS AT MEN – STUDYING AND ESTIMATION BY PCR

**Ignatovskij A.V. (assistant lecture of the
chair), Sokolovskij E.V. (head of the chair),
Shchipsynina E.V. (senior scientific collaborator),
Savicheva A.M. (head of the laboratory)**

St. Petersburg State Medical University named after
acad. I.P.Pavlov, Scientific Research Institute of Obstetrics
and Gynecology named after D.O. Otta, Russia

© Collective of authors, 2012

The possibility of assessing the urethral microbial landscape using the nucleic acid amplification test in healthy males and those with Candida infection of urogenital tract has been discussed. We have dem-

* Контактное лицо: Игнатовский Андрей Викторович
Тел.: 8-921-914-52-65

*onstrated that anaerobic microorganisms prevail in male urethra. In some healthy individuals aerobic microbiota lacked, and anaerobes overwhelmingly predominated. *Atopobium vaginae* associated with vaginal dysbiosis in women can be also identified in healthy males; however, it does not cause inflammatory reaction. No significant quantitative difference in *Candida* prevalence in urethra was found between healthy individuals and patients with candidal balanoposthitis. It was ascertained that in healthy males with the decreased anaerobes quantity in urethra, *Candida* spp. and *Ureaplasma* spp. in low titers dominate in the microbial population.*

Key words: candidal balanopostitis, microbocenosis, real time PCR

ВВЕДЕНИЕ

В наружной части уретры как у мужчин, так и у женщин находятся в небольшом количестве, в основном, те же микроорганизмы, которые обнаруживают на коже и в промежности, такие как: коринебактерии, грамотрицательные бактерии фекального происхождения, неспорообразующие анаэробы (пептококки, пептострептококки, бактероиды). Эти микроорганизмы обычно выявляют в нормальной моче в количестве 10^2 - 10^4 КОЕ/мл.

Постоянное совершенствование методов микробиологической детекции привело в последние десятилетия к обнаружению большого количества ранее неизвестных патогенных и условно-патогенных микроорганизмов урогенитального тракта. При этом микроорганизмы, выделенные с помощью высокочувствительных методов, таких как, например, методы амплификации нуклеиновых кислот (МАНК), далеко не всегда являются патогенными и часто не требуют назначения пациенту антибактериальной терапии. При неспецифическом воспалительном процессе необходимо оценить роль идентифицированной микробиоты в составе микробиоценоза [1]. С этих позиций большое внимание в последнее время уделяют изучению состава, оценке и совершенствованию методов детекции микроорганизмов, входящих в состав микробиоценоза влагалища. С помощью подобных исследований смогли установить динамические изменения состава микробиоценоза влагалища не только в разные возрастные периоды жизни женщины, но также проследить его изменения во время беременности, что особенно важно при неблагоприятном течении беременности и ряде других состояний [2]. В целом же, благодаря подобным исследованиям в понимании медицинского сообщества окончательно сформировалось и закрепилось отношение к составу микроорганизмов репродуктивного тракта у женщин как к микробиоценозу, где каждый представитель имеет свои роль, значение и определенные количественные характеристики. Такое представление позволяет лучше понять роль и значение этих микроорганизмов в составе микробиоценоза, избежать необоснованного применения системной антибактериальной терапии, отдавая, в ряде случаев, предпочтение топическим антимикробным препаратам.

Не нуждается в обсуждении тот факт, что лишь выявление «абсолютных» патогенов урогенитально-

го тракта из группы инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), требует обязательного назначения антибактериальной терапии обоим партнерам. В то же время неоднозначные мнения в отношении ряда микроорганизмов (*Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*), отнесенных в настоящее время к условно-патогенной микробиоте урогенитального тракта, приводят порой к назначению антибактериальной терапии женщине лишь по факту их выявления методом ПЦР, с проведением аналогичного лечения полового партнера. Вместе с тем, чтобы правильно оценивать роль выявленных микроорганизмов требуется сформулировать представление о нормальной микробиоте урогенитального тракта у мужчин. Прежние представления о составе микробиоты уретры в норме базировались на методах культурального исследования, однако известные трудности культивирования целого ряда микроорганизмов существенно ограничивали представление о видовом составе микробиоты уретры у мужчин. Так, И.И.Ильин (1991) отмечал, что нередко в посевах из уретры выделяют 2-3 сапротрофных микроорганизмов или более, в том числе к сапротрофам следует отнести и *Mycoplasma hominis*.

Основным видом уретральных сапробов, по мнению большинства исследователей, является *Staphylococcus epidermidis*. Другие авторы (Овчинников Н.М., 1952) указывали, что микробная биота здоровой слизистой оболочки уретры может содержать от 10 до 26 видов бактерий, представленных преимущественно аэробными микроорганизмами. Cohen M.S. (1984) отмечал, что в уретре у мужчин содержится немного видов микроорганизмов, среди которых доминируют *S. epidermidis* и *Corynebacterium* sp. Совершенствование методов лабораторной диагностики и, прежде всего, методов амплификации нуклеиновых кислот, позволяет вернуться к вопросу о составе микробиоценоза уретры, что необходимо для установления возможной роли различных микроорганизмов в генезе уретрита. Так, например, нередко поводом для назначения системной терапии антибиотиками / антимикотиками мужчине становится рецидивирующий вульвовагинальный кандидоз у женщины или бактериальный вагиноз. По данным разных авторов, в зависимости от группы обследованных женщин, частота встречаемости вульвовагинального кандидоза составляет от 7 до 25%, а частота бактериального вагиноза – от 5 до 80% [2, 3]. Несомненно, что перечисленные дисбиотические состояния могут возникать вследствие большого количества разных причин и не относятся к ИППП. Однако в связи с высокой распространенностью перечисленных нозологий, а также широко обсуждаемым возможным влиянием микробиоты партнера на микробиоценоз влагалища, необходимо проведение исследований по оценке микробиоценоза уретры у мужчин.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В первую группу были включены мужчины (n=50) репродуктивного возраста от 18 до 40 лет, с отсутствием жалоб со стороны урогенитального тракта. Клинический материал из уретры получали, если последний половой контакт был не ранее 3 суток, чтобы исключить случайное обнаружение представителей микробиоты из влагалища. Критериями исключения были: выявление при обследовании ИППП и/или воспалительного процесса в нижних и/или верхних отделах урогенитального тракта. Вторую группу составили мужчины (n=16) с кандидозным баланопоститом, при исключении у этих пациентов другой патологии урогенитального тракта.

Учитывая, что в настоящее время отсутствуют специальные тест-системы, с помощью которых можно было бы избирательно проводить оценку микробиоты уретры у мужчин, для нашего исследования мы применяли Фемофлор-тест, позволяющий проанализировать состав микробиоценоза. ДНК выделяли из 100 мкл пробы с использованием набора реагентов проба-ГС (ООО НПО «ДНК-технология», Москва), согласно инструкции производителя, способного определить общую бактериальную массу, а также следующие микроорганизмы / группы микроорганизмов: *Lactobacillus* spp., *Enterobacterium* spp., *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas* spp., *Eubacterium* spp., *Sneathia* spp. / *Leptotrichia* spp. / *Fusobacterium* spp., *Megasphaera* spp. / *Veillonella* spp. / *Dialister* spp., *Lachnobacterium* spp. / *Clostridium* spp., *Mobiluncus* spp. / *Corynebacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Atopobium vaginae*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma (urealyticum + parvum)*, *Candida* spp. ПЦР проводили в амплификаторе с детекцией результатов в режиме реального времени ДТ-96 (ООО «ДНК-Технология»). После амплификации определяли общее количество бактериальной массы и каждого из условно-патогенных микроорганизмов, автоматически рассчитываемые программным приложением к тесту (в геном-эквивалентах).

РЕЗУЛЬТАТЫ

При анализе общей бактериальной массы выявили значительную вариабельность от $10^{3.7}$ до $10^{6.9}$ г/мл как в группе здоровых лиц, так и мужчин с кандидозом. Количественные соотношения аэробных и анаэробных микроорганизмов были смещены в обеих группах в сторону преобладания анаэробов, которые были представлены в подавляющем большинстве исследованных образцов (89% случаев), достоверных различий между двумя исследуемыми группами не обнаружили (p=0,05). Наиболее высоких значений достигали несколько групп микроорганизмов: *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas* spp., *Eubacterium* spp., *Sneathia* spp. / *Leptotrichia* spp. / *Fusobacterium* spp., *Megasphaera* spp. / *Veillonella* spp. / *Dialister* spp., *Mobiluncus* spp. /

Corynebacterium spp., *Peptostreptococcus* spp. У обследованных лиц количество выявленных микроорганизмов варьировало от 10^3 до 10^6 г/мл, составляя у абсолютного большинства мужчин 10^4 г/мл. Лишь у 4% пациентов количество *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas* spp. превышало 10^5 г/мл, а у 1% количество *Eubacterium* spp. было больше 10^5 г/мл. У 38% мужчин *Sneathia* spp. / *Leptotrichia* spp. / *Fusobacterium* spp., *Megasphaera* spp. / *Veilonella* spp. / *Dialister* spp., *Mobiluncus* spp. / *Corynebacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp. присутствовали в количестве более 10^5 г/мл. Представители и группы остальных анаэробных микроорганизмов имели место у 21% обследованных лиц в количестве равном или превышающем 10^5 г/мл, в остальных случаях их цифры не превышали 10^4 г/мл. Особый интерес представляло обнаружение у мужчин *Atopobium vaginae* – микроорганизма, который, в совокупности с другими лабораторными тестами, рассматривают у женщин как маркер бактериального вагиноза. У 1,5% обследованных мужчин был идентифицирован *Atopobium vaginae* в количестве от 10^2 до 10^4 г/мл, присутствие которого не вызывало воспалительных явлений у всех пациентов.

Наибольший интерес представляла оценка количества *Candida* spp. в составе микробиоценоза уретры. У 28% здоровых мужчин обнаружили *Candida* spp. в количестве 10^3 г/мл, причем эта цифра была неизменной у всех обследованных в обеих группах. В группе пациентов с кандидозным баланопоститом *Candida* spp. идентифицировали у 5 из 16 человек в количестве 10^3 г/мл, не превышавшем показатели в группе лиц без кандидозной инфекции. *Candida* spp. выявляли с одинаковой частотой и в одинаковых количествах у здоровых лиц и у пациентов с кандидозом ($p=0,05$). Интересно, что в группе здоровых мужчин *Candida* spp. достоверно чаще ($p<0,05$) ассоциировались с присутствием уреоплазм. У больных с кандидозным баланопоститом такой зависимости не наблюдали. Вместе с тем, у пациентов обеих групп выявили зависимость количества анаэробной микробиоты и соотношения *Candida* spp. – *Ureaplasma* spp. У мужчин с большим количеством представителей анаэробов (5 и более видов) и в количестве 10^4 – 10^5 г/мл достоверно реже обнаруживали *Candida* spp. и *Ureaplasma* spp. и, наоборот, если количество анаэробов было незначительным (до 5 видов), то у этих лиц чаще выявляли *Candida* spp. и *Ureaplasma* spp. ($p<0,05$).

Состав аэробной биоты был крайне вариabельным, а в 2% полученных тестов в группе здоровых лиц представители аэробной микробиоты (*Enterobacterium* spp., *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp.) и вовсе отсутствовали, что не согласуется с прежними данными исследователей, где различных представителей *Staphylococcus* spp. считали облигатными, а порой единственными обитателями слизистой оболочки уретры у мужчин. *Streptococcus* spp. доминировали среди других пред-

ставителей аэробной микробиоты и присутствовали в 72% образцов в группе здоровых лиц, из них в 40% количество превышало 10^5 г/мл. В группе пациентов с кандидозом *Streptococcus* spp. также выявляли в большинстве образцов (у 11 пациентов), при этом у 4 – титр составлял 10^5 г/мл.

Второе по частоте встречаемости место занимали *Staphylococcus* spp. – 38% от общего числа исследованных проб; количественные показатели были достаточно однородны и составили 10^3 г/мл. В группе пациентов с кандидозом *Staphylococcus* spp. также был редкой находкой – его идентифицировали только у 3 из 16 пациентов в количестве от 10^3 до 10^4 г/мл.

Представители *Enterobacterium* spp. в группе здоровых мужчин, относительно других аэробов, обнаруживали реже – в 34%, их количество также не отличалось большой вариabельностью, составляя 10^3 г/мл. У пациентов с кандидозом *Enterobacterium* spp. выявляли всего у 2 пациентов в титре, не превышающем 10^4 г/мл.

Ureaplasma spp. были выделены в группе здоровых лиц в 18% случаев в количестве от 10^2 до 10^4 г/мл. При этом у подавляющего большинства обследованных лиц эти цифры не превышали 10^2 г/мл. У пациентов с кандидозом, напротив, уреоплазмы встречались значительно чаще – у 11 человек, однако их количественные показатели не превышали цифры в группе здоровых лиц.

Mycoplasma spp. у здоровых мужчин наблюдали сравнительно реже – в 10% случаев. Количество микроорганизмов в этой группе было стабильным и составляло 10^2 г/мл. У пациентов с кандидозным баланопоститом *Mycoplasma* spp. обнаружили лишь у 3 человек в титре 10^2 г/мл.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате проведенного исследования выявили, что микробиота уретры у мужчин вариabельна и представлена одновременно несколькими видами микроорганизмов (от 2 до 15). Если у женщин доминирующим видом признано наличие *Lactobacillus* spp., то у мужчин трудно выделить таких доминирующих представителей. У подавляющего большинства как здоровых мужчин, так и пациентов с кандидозным баланопоститом микробиота была широко представлена не только аэробными видами, но и значительным количеством анаэробов. Так, наиболее часто обнаруживали *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas* spp., *Eubacterium* spp., *Sneathia* spp. / *Leptotrichia* spp. / *Fusobacterium* spp., *Megasphaera* spp. / *Veilonella* spp. / *Dialister* spp., *Mobiluncus* spp. / *Corynebacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp. В ряде случаев у здоровых лиц представители аэробной микробиоты отсутствовали вовсе, а подавляющее большинство составляли представители именно анаэробов. У здоровых мужчин могут выявляться микроорганизмы, ассоциирующиеся у

женщин с дисбиозом влагалища (*Atopobium vaginae*), не вызывая при этом воспалительной реакции. Достоверных различий в количестве *Candida* spp. между группой здоровых лиц и пациентов кандидозным баланопоститом не наблюдали. Установили, что у здоровых мужчин при уменьшении количества анаэробной микробиоты в составе биоценоза преобладали *Candida* spp. и *Ureaplasma* spp. в низких титрах.

Таким образом, в настоящее время благодаря возрастающим возможностям лабораторной диагностики можно расширить ранее существовавшее представление о микробиоте уретры у мужчин. Длительное время микроорганизмы, населяющие слизистую оболочку урогенитального тракта у мужчин, рассматривали как немногочисленный по видам и количеству состав. В результате проведенного исследования по оценке видового и количественного состава микробиоты уретры, выполненного на небольшой группе здоровых мужчин и пациентов с кандидозным баланопоститом, можно говорить о составе микроорганизмов как о микробиоценозе, представленном не только аэробами, но, в большей степени, анаэробами. В структуре этого микробиоценоза устанавливаются равновесные взаимодействия между различными представителями микробиоты. При этом воспалительные явления на коже гениталий у мужчин, обусловленные *Candida* spp., не приводят к изменению состава микробиоценоза и/или увеличению количества *Candida* spp. на слизистой оболочке уретры.

Несомненно, что дальнейшими исследованиями в сфере микробиоценоза урогенитального тракта возможно изменить, в ряде случаев, представление о роли отдельных микроорганизмов, как это произошло с *Gardnerella vaginalis*. Долгое время именно гарднереллы считали этиологическим агентом бактериального вагиноза, а лечение полового партнера женщины с таким диагнозом являлось широко

распространенной практикой. В настоящее время установили, что гарднереллы могут выявляться у женщин и в норме, тогда как вновь обнаруженный микроорганизм *Atopobium vaginae*, по данным некоторых исследователей, достоверно чаще ассоциируется с бактериальным вагинозом [4]. Отметим, что оценка видового и количественного состава микробиоты уретры у мужчин с применением высокочувствительных методов представляет интерес с научной точки зрения, но не должна приводить к назначению фармакотерапии только на основании обнаружения того или иного микроорганизма. Вместе с тем, изучение особенностей нормальной микробиоты уретры у мужчин позволит в перспективе более полно оценить вклад различных микроорганизмов при развитии осложнений, протекающих с поражением верхних отделов урогенитального тракта.

ВЫВОДЫ

1. Проявления кандидозного баланопостита не сопровождаются увеличением количества *Candida* spp. на слизистой оболочке уретры у мужчин.
2. В составе микробиоценоза уретры у здоровых мужчин доминируют представители анаэробной микробиоты.
3. Необходима разработка современных молекулярно-биологических методов (ПЦР-РТ), способных дополнить представления о видовом и количественном составе микробиоты урогенитального тракта у мужчин.
4. Расширение представлений о составе микробиоты уретры у мужчин позволит более взвешенно относиться к целому ряду ее представителей и, вероятно, избежать необоснованного проведения антибактериальной / антимикотической терапии с целью элиминации нормальных представителей микробиоценоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рахматулина М.Р., К.И. Плахова и соавт. Роль условно-патогенных микроорганизмов в развитии воспалительных процессов урогенитальной системы // Вестник последипломного медицинского образования. – 2008. – №1. – С. 18-19.
2. Тумбинская А.В., Ворошилина Е.С. и соавт. Особенности микробиоценоза влагалища у женщин с нормальным и промежуточным типом мазка по результатам полимеразной цепной реакции в режиме реального времени // Акушерство и гинекология. – 2011. – № 1. – С. 66-70.
3. Щипицына Е.В., Мартикайнен З.М. и соавт. Применение теста Фемофлор для оценки микробиоценоза влагалища // Журнал акушерства и женских болезней. – 2009. – Т. LVIII, №3. – С. 44-50.
4. Болдырева М.Н., Липова Е.В. и соавт. Характеристика биоты урогенитального тракта у женщин репродуктивного возраста методом ПЦР в реальном времени // Журнал акушерства и женских болезней. – 2009. – Т. LVIII, № 6. – С. 36-42.

Поступила в редакцию журнала 14.01.2011

Рецензент: М.А. Шевяков

