

## ПРЕВАЛЕНЦИЈА И АНТИМИКРОБНА ОСЕТЉИВОСТ MYCOPLASMA HOMINIS И UREAPLASMA UREALYTICUM КОД ЖЕНА СА ПРИМАРНИМ СТЕРИЛИТЕТОМ

Никола Инђић<sup>1</sup>, Слађана Вучковић<sup>2</sup>, Жаклина Анђелковић<sup>3</sup>, Јасна Веиновић<sup>4</sup>, Сандра Живуловић<sup>5</sup>,  
Милица Јовановић<sup>6</sup>

## PREVALENCE AND ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF MYCOPLASMA HOMINIS AND UREAPLASMA UREALYTICUM IN FEMALE INFERTILITY

Nikola Indić, Slađana Vučković, Žaklina Anđelković, Jasna Veinović, Sandra Živulović,  
Milica Jovanović

### Сажетак

*Увод.* *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* спадају међу најчешће узрочнике сексуално преносивих болести у свету. Инфекције које изазивају могу довести до стерилитета.

*Циљ овог рада је да се утврди њихова преваленција и антимикуробна осетљивост код жена са примарним стерилитетом нишке регије и упореди са налазом код здравих жена.*

*Метод:* Комерцијалним тестом *Mycoplasma System Plus (Liofilchem, Italia)* испитивани су узорци цервикалних брисева код 73 жене, старости између 21 и 42 године које су биле у поступку испитивања узрока стерилитета. Контролну групу чинило је 57 здравих жена, старости између 24 и 53 године, без симптома гинеколошког обољења а које су се јавиле на редован гинеколошки преглед. Добијени резултати обрађени су статистички помоћу  $\chi^2$  теста.

### Summary

*Objective:* *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* are the commonly reported sexually transmitted bacteria organisms worldwide. Untreated genital infection can cause pelvic inflammatory disease as an important risk factor for infertility in women.

*The aim of this study was to determinate the prevalence and antibiotic susceptibility of the genital micoplasmas in Nisava District, among healthy women and women suffering from infertility.*

*Method:* Genital micoplasmas were detected by *Mycoplasma System Plus (Liofilchem, Italia)* test. Our study was carried out on the case group who included 73 women with an unknown cause of infertility, aged between 21 and 42 years, and the control group considered of 57 healthy women, aged between 24 and 53. Statistical significance was determined by *Chi-squared analysis.*

<sup>1</sup> Спец. др мед. Никола Инђић, специјалиста микробиологије са паразитологијом, Војска Србије, Центар за превентивно-медицинску заштиту Београд, Београд (Center of Preventive Medical Care Belgrade, Belgrade, Serbia).

<sup>2</sup> Спец. биол. Слађана Вучковић, специјалиста медицинске биохемије, Поликлиника за лабораторијску дијагностику „Неолаб“, Ниш (Policlinic for Laboratory Diagnostic „Neolab“, Nis, Serbia).

<sup>3</sup> Спец. др мед. Жаклина Анђелковић, специјалиста медицинске биохемије, Поликлиника за лабораторијску дијагностику „Неолаб“, Ниш (Policlinic for Laboratory Diagnostic „Neolab“, Nis, Serbia).

<sup>4</sup> Спец. др мед. Јасна Веиновић, специјалиста гинекологије и акушерства, Поликлиника „Еуромедик“, Београд (Policlinic „Euromedic“, Belgrade, Serbia).

<sup>5</sup> Спец. др мед. Сандра Живуловић, специјалиста гинекологије и акушерства, Дом здравља Гроцка, Београд (Health Centre Grocka, Belgrade, Serbia).

<sup>6</sup> Др сци. мед. Милица Јовановић, специјалиста микробиологије са паразитологијом Клинички центар Србије, Служба за микробиологију, Београд (Clinical Center of Serbia, Department of Microbiology, Belgrade, Serbia).

*Резултат:* У групи са примарним стерилитетом *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* детектоване су код 14 (19,2%) жена, а у контролној групи код 3 (5,3%) жене. Највећу осетљивост гениталне микоплазме показале су на тетрациклине.

*Закључак:* Утврђено је да постоји статистички значајна разлика у детекцији ових микроорганизама код жена са примарним стерилитетом и здравих жена, што указује на њихову улогу у настанку примарног стерилитета. Коришћење презерватива при сексуалним односима битно је за превенцију, а скрининг тест на гениталне микоплазме битан је за што раније откривање и лечење примарног стерилитета.

*Кључне речи:* преваленција, антимикробна осетљивост, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, примарни стерилитет, жене.

*Results:* *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* were detected in 14 specimens (19.2%) of the infertile women and 3 (5.3%) in control group. The highest susceptibility were to antibiotics from the group of tetracycline.

*Conclusion:* There was a significant difference detected genital mycoplasmas between healthy and infertility women. That indicating their role in the development of infertility. Sex with a condom and screening of women for the presence of genital mycoplasmas is strongly recommended to allow early therapeutic interventions and prevention of infertility.

**Key words:** prevalence; antibiotic susceptibility; *Mycoplasma hominis*; *Ureaplasma urealyticum*; infertility; women.

## УВОД

Колоквијалним називом „Гениталне микоплазме“ обухваћене су *Mycoplasma hominis* (*M. hominis*) из рода *Mycoplasma* и *Ureaplasma urealyticum* (*U. urealyticum*) из рода *Ureaplasma*, које припадају фамилији *Mycoplasmataceae*. Припадају комензалној флори урогениталног тракта код сексуално активних особа, а степен њихове колонизације зависи од учесталости мењања полних партнера. Гениталне микоплазме, поред *Chlamydia trachomatis* и *Neisseria gonorrhoeae*, спадају у најчешће узрочнике сексуално преносивих болести у свету.<sup>(1)</sup> У стањима ослабљене одбрамбене способности слузокоже могу изазвати опортунистичке инфекције горњег дела репродуктивног тракта које имају улогу у настанку примарног стерилитета.<sup>(2)</sup> Примарни стерилитет је изостанак трудноће код парова у плодном делу живота уз

редовне и незаштићене односе у периоду од једне године. Бактериолошка дијагностика се базира на изолацији микроорганизама у пилећем ембриону и на Hauflick подлози а серолошка дијагностика на доказивању антитела техникама ИФ (индиректне имуофлуоресценце) и ELISA (имуноензимским тестом).<sup>(3, 4)</sup> Детекција генома техником амплификације нуклеинских киселина (PCR) је неприкосновена, али скупа и захтевна метода. Дијагностика је унапређена новим комерцијалним тестовима који истовремено идентификују, квантификују и тестирају антимикробну осетљивост. Због специфичне грађе гениталне микоплазме урођено су резистентне на бета-лактамске антибиотике, сулфонамиде и ванкомицину.<sup>(3,4)</sup> *M. hominis* је поред овога резистентна на еритромицин, а *U. urealyticum* на клиндамицин и линкомицин.<sup>(5)</sup>

## ЦИЉ РАДА

Пошто постоје опречни налази и мишљења о улози гениталних микоплазми у настанку примарног стерилитета<sup>(6, 7)</sup> циљ је био да се утврди преваленција ових микроорганизама код жена са овим проблемом на подручју нишке регије, да се резултати упореде са налазом код здравих жена и испита антимикуробна осетљивост.

## МЕТОДЕ

Испитивану групу чиниле су 73 жене, старосне доби између 21 и 42 године које су биле у поступку испитивања узрока примарног стерилитета, а контролну групу чинило је 57 жена, које су раније рађале, старости између 24 и 53 године, на редовном гинеколошком прегледу и без симптома гинеколошког обољења.

Рађена је бактериолошка дијагностика, методом хидролизе аргинина и резистенције на еритромицин за *M. hominis* и хидролизе урее и резистенције на клиндамицин за *U. urealyticum*, применом комерцијалног теста Mycoplasma System Plus (Liofilchem, Italia), који је идентификовао, квантификовао и тестирао антимикуробну осетљивост детектованих гениталних микоплазми. Брисом од дракона узиман је ендоцервикални узорак на анализу. Припрема реагенса комерцијалног теста, инокулисање у подлогу, као и припрема за термостатирање рађена је према упутству произвођача. Узорак је термостатиран 24 часа на 37°C. Клиничку значајност имао је налаз  $\geq 10^4$  CCU/mL (Colour Changing Unit) у узорку.

Испитивање осетљивости на антибиотике вршено је еритромицином, тетрациклином, пефлоксацином, азитромицином, кларитромицином, доксициклином, миноциклином, клиндамицином и офлоксацином.

Програм Epi info version 5.0.0. коришћен је за статистичку обраду података. Процена значајности утврђених разлика између група вршена је  $\chi^2$  тестом.  $P \leq 0,05$  је разматрана као статистички значајна разлика.

## РЕЗУЛТАТИ

Код 14 (19,2%) жена у групи пацијенткиња са примарним стерилитетом детектовано је 15 гениталних микоплазми у концентрацији  $\geq 10^4$  CCU/mL у узорку. Од тога као моноинфекција у 13 (17,8%) случајева, а код једне жене (1,4%) као удружена инфекција *M. hominis* и *U. urealyticum*.

*U. urealyticum* је детектована код 10 (13,7%) жена, као моноинфекција у 9 (12,3%) случајева, а у једном узорку (1,4%) као удружена инфекција са *M. hominis*. *M. hominis* је детектована код 5 (6,9%) жена, као моноинфекција код 4 (5,5%) жене, а у једном (1,4%) узорку као удружена инфекција са *U. urealyticum*.

У контролној групи, гениталне микоплазме у концентрацији  $\geq 10^4$  CCU/mL у узорку детектоване су код 3 (5,3%) жене. *U. urealyticum* је детектована код 2 (3,5%) жене, а *M. hominis* код једне (1,8%). Удружене инфекције није било.

Табела 1. Преваленција гениталних микоплазми код испитиваних група.

	Примарни стерилитет		Контролна група		P
	Број	%	Број	%	
<i>M. hominis</i>	4	5,5	1	1,8	0,273
<i>U. urealyticum</i>	9	12,3	2	3,5	0,072
<i>M. hominis</i> + <i>U. urealyticum</i>	1	1,4	0	0	0,375
Укупно	14	19,2	3	5,3	0,019

Највећи број жена обе испитне групе код којих су детектоване гениталне микоплазме био је у старосној добној групи између 20 и 34 године (88,2%). Гениталне микоплазме нису детектоване код жена са примарним стерилитетом изнад 40 година, а у контролној групи изнад 34 године.

Табела 2. Преваленција гениталних микоплазми код старосних добних група.

	Жене са примарним стерилитетом					
	20 - 24	25 - 30	31 - 34	35 - 40	41 - 45	46 - 53
Старосне добне групе	20 - 24	25 - 30	31 - 34	35 - 40	41 - 45	46 - 53
Број тестираних / позитивни	5 / 4	15 / 5	27 / 3	16 / 2	10 / 0	0
Процент позитивних	80	33,3	11,1	12,5	0	0
	Контролна група					
Старосне добне групе	20 - 24	25 - 30	31 - 34	35 - 40	41 - 45	46 - 53
Број тестираних / позитивни	6 / 1	7 / 1	12 / 1	19 / 0	9 / 0	4 / 0
Процент позитивних	16,7	14,3	8,3	0	0	0

Резултат теста антимикуробне осетљивости показује да су гениталне микоплазме највећу осетљивост на антибиотике показале према антибиотцима из групе тетрациклина, нешто мању осетљивост на пefлоксацин из групе флуорохинолона, а најмању осетљивост према антибиотцима из групе макролида. Валидност детекције ових микроорганизама потврђена је налазом

	Примарни стерилитет		Контролна група	
	<i>M. hominis</i> (%)	<i>U. urealyticum</i> (%)	<i>M. hominis</i> (%)	<i>U. urealyticum</i> (%)
Тетрациклин	80	100	100	100
Доксициклин	100	100	100	100
Миноциклин	100	100	100	100
Пефлосацин	100	80	100	50
Офлоксацин	100	80	0	50
Азитромицин	40	70	0	50
Кларитромицин	40	70	0	50
Еритромицин	0	100	0	100
Клиндамицин	80	0	100	0

резистенције *M. hominis* на еритромицин, а *U. Urealyticum* на клиндамицин.

**Табела 3.** Резултати теста антимикуробне осетљивости гениталних микоплазми.

## ДИСКУСИЈА

С обзиром на то да 72,4 милиона жена у свету има проблем са стерилитетом<sup>(8)</sup> и због сумње да гениталне микоплазме имају улогу у његовом настанку, бројни истраживачи у свету су се бавили овом проблематиком испитујући преваленцију гениталних микоплазми. Истраживања су вршена различитим дијагностичким методама.<sup>(6, 9)</sup> У Србији и земљама у окружењу, сем Румуније<sup>(10)</sup>, нема публикованих података о преваленцији ових микроорганизама код жена са примарним стерилитетом. Резултати нашег истраживања показују да постоји статистички значајна разлика у укупној детекцији гениталних микоплазми између испитиваних група ( $P \leq 0,05$ ), док поређењем детекције по врстама микроорганизама код испитиваних група не постоји статистички значајна разлика ( $P \geq 0,05$ ).

У већини случајева радило се о инфекцији само са једним од испитиваних микроорганизама, тј. о моноинфекцији.

Детектоване су у свим групама животне доби до 40. године, када је и сексуална активност највећа. Изнад 40 година гениталне микоплазме нису детектоване, а основни разлог може бити смањење промискуитета које доноси зрелије доба. Такође, томе може допринети слободна продаја и често неконтролисана примена антибиотика у лечењу разних инфекција које су учесталије у овој доби, када истовремено долази и до ерадикације гениталних микоплазми.

Према најновијим истраживањима детекције гениталних микоплазми код жена са примарним стерилитетом у Европи, Tomasiak и сар. (2013) у Пољској добили су сличне резултате детектујући *M. hominis* код 4% и *U. urealyticum* код 9%.<sup>(9)</sup> Mareş и сар. (2011) у Румунији детектовали су *M. hominis* код 7,5%, а *U. urealyticum* код 34,8%.<sup>(10)</sup> Док су Casari и сар. (2010) у Италији *M. hominis* детектовали код 0,25%, а *U. realyticum* код 3,79%.<sup>(11)</sup> Gupta и сар. (2009) у Индији, *M. hominis* детектовали су код 6%, а *U. realyticum* код 32% жена са примарним стерилитетом,<sup>(12)</sup> док су на америчком континенту у USA, Imudia и сар. (2008) детектовали *M. hominis* код 1,3%, а *U. urealyticum* код 20,1%.<sup>(13)</sup> Без обзира што су сви наведени истраживачи нашли већу заступљеност гениталних микоплазми у групи са примарним стерилитетом у односу на заступљеност у категорији здравих жена, није доказана статистички значајна разлика у детекцији ових микроорганизама у односу на испитиване групе.

За разлику од њих, као и ми у нашем истраживању, Rodriguez и сар. (2001) са детекцијом *M. hominis* од 4,8% и *U. urealyticum* од 23,5%<sup>(6)</sup> добили су статистички значајну разлику у односу на контролну групу.

Наше испитивање показало је највећу осетљивост гениталних микоплазми на антибиотике из групе тетрациклина. У склопу свог истраживања, Mareş и сар. (2011), такође, вршили су испитивање антибиотске осетљивости и такође добили

највећу осетљивост гениталних микоплазми на тетрациклине.<sup>(10)</sup>

## ЗАКЉУЧАК

Утврђено је да постоји статистички значајна разлика у детекцији *M. hominis* и *U. urealyticum* код жена са примарним стерилитетом и здравих жена нишког региона, што указује на њихову могућу улогу у настанку примарног стерилитета. Жене животне доби између 20 и 34 године биле су најподложније

овим инфекцијама. Антибиотици из групе тетрациклина показали су се као најделотворнији у терапији ових инфекција. Коришћење презерватива при сексуалним односима битно је за превенцију, док је скрининг тест на гениталне микоплазме користан за што раније откривање и лечење инфекције и превенцију примарног стерилитета. С обзиром на опречне налазе истраживача у свету, и детекције ових микроорганизама у значајном проценту код жена са примарним стерилитетом, истраживање ове повезаности треба наставити.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Baveja G, Saini S, Sangwan K, Arora D. A study of bacterial pathogens in acute pelvic inflammatory disease. *J Commun Dis.* 2001 Jun; 33(2): 121–5.
2. Reroń A, Trojnar-Podleśny M. Pelvic inflammatory disease (PID). *Gin Prakt.* 2004; 12,4: 30–4.
3. Randelović G. Infekcija genitalnim mikoplazmama. Randelović G. Mikrobiološka dijagnoza infekcija genitalnih puteva žena. Studentski kulturni centar Niš; 2001. p.37–42.
4. Nedeljković M. Mikoplazme. Specijalna bakteriologija. Berger-Jekić O i sar. Savremena administracija; 1997. p.135–7.
5. Kayser F.H. Mycoplasma. In Kayser F.H., Bienz K.A., Eckert J., Zinkernagel R.M., editors. *Medical Microbiology*. 10<sup>th</sup> German edition. New York, Thieme Stuttgart; 2005. p. 340–2.
6. Rodriguez R, Hernandez R, Fuster F, Torres A, Prieto P, Alberto J. Genital infection and infertility. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2001; 19: 261–6.
7. Fenkci V, Yilmazer M, Aktepe OC. Have *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* infections any significant effect on women fertility? *Infez Med.* 2002 Dec; 10(4): 220–3.
8. Boivin J, Bunting L, Collins J.A, Nygren K.G. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Hum Reprod.* 2007 Jun; 22 (6): 1506–12.
9. Tomusiak A, Heczko PB, Janeczko J, Adamski P, Pilarczyk-Zurek M, Strus M. Bacterial infections of the lower genital tract in fertile and infertile women from the southeastern Poland. *Ginekolog Pol.* 2013 May; 84 (5): 352–8.
10. Mareş M, Năstasă V, Doroftei B, Chifiriuc CM, Bleotu C, Socolov D. Antibiotic susceptibility profiles of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* isolated during a population-based study concerning women infertility in northeast Romania. *Braz J Microbiol.* 2011 Jan; 42(1): 256–60.
11. Casari E, Ferrario A, Morengi E, Montanelli A. Gardnerella. *Trichomonas vaginalis*, *Candida*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in the genital discharge of symptomatic fertile and asymptomatic infertile women. *New Microbiologica.* 2010 Jan; 33(1): 69–76.
12. Gupta A, Gupta A, Gupta S, Mittal A, Chandra P, Gill AK. Correlation of mycoplasma with unexplained infertility. *Arch Gynecol Obstet.* 2009 Dec; 280(6): 981–5.
13. Imudia AN, Detti L, Puscheck EE, Yelian FD, Diamond MP. The prevalence of ureaplasma urealyticum, mycoplasma hominis, chlamydia trachomatis and neisseria gonorrhoeae infections, and the rubella status of patients undergoing an initial infertility evaluation. *J Assist Reprod Genet.* 2008 Jan; 25(1): 43–6.

Контакт: Никола Инђић, Војска Србије, Центар за превентивно-медицинску заштиту Београд, ВП 5131/2 Београд, телефон: 064 2289955, e-mail: indjicnikola@gmail.com (Correspondence to: Nikola Indić, Center of Preventive Medical Care Belgrade, VP 5131/2 Belgrade, Serbia, Phone: +381642289955, e-mail: indjicnikola@gmail.com)