

<https://doi.org/10.25208/0042-4609-2018-94-4-55-59>

Клинический случай неуспеха терапии джозамицином у пациента с уретритом, вызванным *Mycoplasma genitalium*

Зубарева Л. М.^{1*}, Эйдельштейн И. А.², Романов А. В.², Евстафьев В. В.¹, Козлов Р. С.²

¹ Смоленский кожно-венерологический диспансер

214031, Российская Федерация, г. Смоленск, ул. Рыленкова, д. 16а

² Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии Смоленского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации

214019, Российская Федерация, г. Смоленск, ул. Крупской, д. 28

Mycoplasma genitalium является одним из облигатных патогенов, вызывающих заболевания, передающиеся половым путем. Для идентификации данного возбудителя в рутинной практике применимы только молекулярно-генетические методы, которые также используются для выявления резистентности *MGE* к антибактериальным препаратам. Препаратами первой линии для лечения заболеваний, вызванных *MGE*, являются тетрациклины и макролиды. За последние годы во многих странах все чаще регистрируются случаи неуспешной терапии макролидами. Преимущественной причиной развития устойчивости возбудителя к макролидам служит появление специфических нуклеотидных замен в V домене пептидилтрансферазной петли 23S рРНК *MGE*. Недостаточные знания статуса макролидорезистентности инфекционного агента могут стать причиной развития персистирующей инфекции. Впервые в Смоленске был выявлен случай неуспешной терапии джозамицином у пациента с уретритом, вызванным *MGE*. Причиной устойчивости к антибиотику явилась мутация в 23S рРНК *MGE* в виде нуклеотидной замены в позиции A2058G.

Ключевые слова: *Mycoplasma genitalium*, макролидорезистентность, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (ПЦР-РВ), 23S рРНК, мутации, джозамицин

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Для цитирования: Зубарева Л. М., Эйдельштейн И. А., Романов А. В., Евстафьев В. В., Козлов Р. С. Клинический случай неуспеха терапии джозамицином у пациента с уретритом, вызванным *Mycoplasma genitalium*. Вестник дерматологии и венерологии. 2018;94(4):55–59. <https://doi.org/10.25208/0042-4609-2018-94-4-55-59>



Clinical case of failure of josamycin in a patient with urethritis caused by *Mycoplasma genitalium*

Lyudmila M. Zubareva^{1*}, Inna A. Eydel'shteyn², Andrey V. Romanov², Vladimir V. Evstaf'ev¹, Roman S. Kozlov²

¹ Smolensk Dermatovenerologic Dispensary

Rylenkova str., 16a, Smolensk, 214031, Russian Federation

² Scientific Research Institute of Antimicrobial Chemotherapy of the Smolensk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

Krupskoy str., 28, Smolensk, 214019, Russian Federation

Mycoplasma genitalium is one of the obligate pathogens that cause sexually transmitted diseases. To detect this pathogen in routine practice, only molecular genetic methods are used that are also used to identify the resistance of MGE to antibiotics. The first-line drugs for the treatment of diseases caused by MGE, are tetracycline and macrolides. In recent years, many countries have increasingly recorded cases of unsuccessful therapy macrolides. Mutations that confer antibiotic resistance to macrolides for *Mycoplasma genitalium* are concentrated in nucleotide positions 2058 and 2059 in region V of the 23S rRNA gene. Unknown status of macrolide resistance *M. genitalium* can lead to the development of a persistent infection. We describe the first reported cases of clinical josamycin treatment failure from patient with urethritis. The reason for antibiotic resistance was a mutation in the 23S rRNA of MGE as a nucleotide substitution in position A2058G.

Keywords: *Mycoplasma genital*, macrolide resistance, polymerase chain reaction in real time (PCR-PT), 23S rRNA, mutations, josamycin

Conflict of interest: the authors state that there is no potential conflict of interest requiring disclosure in this article.

For citation: Zubareva L. M., Eydel'shteyn I. A., Romanov A. V., Evstaf'ev V. V., Kozlov R. S. Clinical case of failure of josamycin in a patient with urethritis caused by *Mycoplasma genitalium*. Vestnik Dermatologii i Venerologii. 2018;94(4):55–59. <https://doi.org/10.25208/0042-4609-2018-94-4-55-59>

Введение

Mycoplasma genitalium (*MGE*) — наименьший из способных к саморепликации микроорганизмов [1–6]. В 1980 г. она впервые была выделена как новый вид микоплазм из образцов соскобов слизистой оболочки уретры у мужчин с негонококковыми формами уретритов (НГУ) [7]. В настоящее время благодаря появлению молекулярно-генетических методов исследования геном *MGE* полностью изучен.

MGE является облигатным патогеном и доказанно вызывает уретриты у мужчин, цервициты и эндометриты у женщин, а также осложняет течение беременности и родов. В качестве этиологического агента НГУ *MGE* занимает второе место по частоте после *Chlamydia trachomatis*: выявляется у мужчин с негонококковыми нехламидийными уретритами в 10–35 % случаев. Распространенность в общей популяции среди лиц обоего пола составляет приблизительно 1–3 % [2–5].

Ввиду неспецифичности клинических проявлений урогенитальной микоплазменной инфекции (дизурия, зуд и болезненность в области мочеполювых органов, патологические выделения) результаты лабораторных исследований имеют важнейшее значение при установлении диагноза. Для идентификации данного возбудителя в рутинной практике применимы только молекулярно-генетические методы, которые также используются для выявления резистентности *MGE* к антибактериальным препаратам, что отражено в российских и зарубежных руководствах [2–4]. В силу своих биологических особенностей *MGE* проявляет природную чувствительность к антибиотикам группы макролидов, тетрациклинам и фторхинолонам. Препаратами первой линии для лечения заболеваний, вызванных *MGE*, являются тетрациклины и макролиды [4]. За последние годы во многих странах все чаще регистрируются случаи неуспешной терапии макролидами [8–10]. Преимущественной причиной формирования резистентности *MGE* к этим препаратам является приобретение мутаций, обусловленных нуклеотидными заменами в V домене пептидилтрансферазной петли 23S рРНК *MGE* [2, 3, 11]. Это приводит к нарушению связывания антибиотика с мишенью его действия и формированию клинически значимой устойчивости. В Европейском руководстве по ведению заболеваний, вызванных *MGE*, изданном в 2016 году, указано, что «в связи с широким распространением в Европе резистентности *M. genitalium* к макролидам настоятельно рекомендуется определять чувствительность к ним всех положительных образцов исследовательскими или коммерческими тестами, которые представлены на рынке. Право выбора тестов определяется референтной лабораторией» [2]. В зарубежной литературе широко представлены результаты исследования распространенности макролидорезистентных штаммов *MGE* [12–16], российские публикации данной информации ограничиваются единичными статьями [8, 17, 18].

В качестве аргумента в пользу значимости определения статуса макролидорезистентности мы представляем данный клинический случай. Он демонстрирует, что недостаточные знания некоторых особенностей инфекционного агента могут стать причиной развития персистирующей инфекции. *MGE*, заключающая в себе специфическую нуклеотидную замену, послужила патогенным фактором, вызвавшим воспалитель-

ный процесс в уретре. По поводу данного заболевания пациент неоднократно в течение нескольких месяцев обращался за медицинской помощью в областное государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Смоленский кожно-венерологический диспансер» (ОГБУЗ СКВД), выполнял все врачебные назначения, но эрадикации возбудителя не наблюдалось. Применение специально разработанного метода выявления мутаций к макролидным антибиотикам у *MGE* на основе мультиплексной ПЦР-РВ [19] помогло выявить причину неуспеха антибактериальной терапии у пациента с негонококковым уретритом.

Материалы и методы

Пациент Б., 34 года, обратился к врачу-дерматовенерологу в ОГБУЗ СКВД 30.11.2015 с жалобами на зуд, жжение в области уретры и болезненность при мочеиспускании. Из анамнеза заболевания известно, что мужчина имел незащищенный половой контакт за 2 недели до обращения. При объективном осмотре: кожные покровы наружных половых органов чистые, высыпаний нет; отделяемое из уретры скудное, светлое. Врач назначил пациенту стандартный комплекс лабораторных исследований, в результате которых было выявлено наличие специфического воспаления:

Анализ мочи на лейкоцитурию: лейкоциты в большом количестве, слизь в большом количестве.

Исследование мазка из уретры методом световой микроскопии с окраской метиленовым синим: полиморфноядерные лейкоциты (ПМЯЛ) — 15–20 в поле зрения, эпителиальные клетки 6–8 в поле зрения; микрофлора смешанная, внутриклеточно расположенные диплококки и простейшие не обнаружены.

Молекулярно-генетическое исследование соскоба из уретры: методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) были выявлены ДНК *Chlamydia trachomatis* и ДНК *Mycoplasma genitalium*. Выделение ДНК проводили набором реагентов «РеалБест ДНК-экспресс». Выявление ДНК проводили наборами «РеалБест ДНК *Chlamydia trachomatis* / *Mycoplasma genitalium*».

На основании результатов обследования врач установил диагноз: А56.0 Хламидиоз, А63.8 Уретрит, вызванный *M. genitalium*, Уретрит смешанной этиологии — и назначил антибактериальную терапию: доксициклин по 100 мг 2 раза в день 10 дней [4].

Пациент обратился за медицинской помощью повторно 26.01.2016 с аналогичными жалобами на зуд, жжение и болезненность в уретре. Из анамнеза заболевания известно, что половой покой, рекомендованный врачом при первом посещении, мужчина соблюдал. Общеклинические лабораторные исследования подтвердили наличие воспаления в урогенитальном тракте: в анализе мочи обнаружены лейкоциты в количестве до 25 в поле зрения, при микроскопии окрашенного мазка из уретры — лейкоциты 15–20 в поле зрения. Методом ПЦР-РВ в соскобе из уретры выявлена ДНК *Mycoplasma genitalium*. Врач установил диагноз: А63.8 Уретрит, вызванный *M. genitalium* (микоплазменный уретрит) — и изменил терапию: препарат джозамицин был назначен в дозировке 500 мг кратностью 3 раза в день, длительность курса 10 дней.

При повторном визите к врачу через 1,5 месяца жалобы оставались прежними, воспаление в уретре

сохранялось: в моче — лейкоцитурия (15–20 лейкоцитов в поле зрения), в мазке из уретры — ПМЯЛ 10–15 в п/зр., метод ПЦР-РВ подтвердил наличие ДНК *Mycoplasma genitalium* в урогенитальном соскобе, следовательно, клинический эффект терапии отсутствовал.

Результаты

Все три образца соскобов эпителия уретры данного пациента хранились в архиве лаборатории ОГБУЗ СКВД и были переданы в лабораторию молекулярной диагностики НИИАХ ФГБОУ ВО СГМУ. Поскольку при смене терапии не наблюдалась эрадикация *MGE*, материал был проанализирован на наличие мутаций устойчивости к макролидам. С использованием специально разработанного метода на основе мультиплексной ПЦР-РВ с эффектом гашения флуоресценции зонда праймером [19] было выявлено наличие мутации в виде нуклеотидной замены в позиции A2058G 23S рРНК *MGE* (нумерация по *E. coli*) во всех трех образцах. Для подтверждения нуклеотидных замен применили метод секвенирования.

Обсуждение

Очевидно, что выбранный в качестве стартовой терапии доксициклин оказался неэффективным по отношению к *MGE*, но *Chlamydia trachomatis* была элими-

нирована. Согласно литературным данным, эрадикация *MGE* при назначении препаратов тетрациклинового ряда происходит только в 30–40 % случаев [2, 3]. Смена антибактериального препарата на джозамицин не привела к элиминации *MGE*, т. к. нуклеотидная замена в позиции A2058G 23S рРНК *MGE* фенотипически проявилась клинически значимой устойчивостью возбудителя к антибиотику. По литературным данным такая мутация встречается наиболее часто и характеризуется высокими значениями минимальной подавляющей концентрации антибиотика [2, 3, 12]. Унифицированный подход при выборе лекарственной терапии и отсутствие сведений у лечащего врача о статусе резистентности *MGE* к макролидам обусловили персистенцию инфекционного агента и развитие рецидивирующего воспалительного процесса в урогенитальном тракте.

Выводы

Впервые в Смоленске был выявлен случай неуспешной терапии джозамицином у пациента с уретритом, вызванным *MGE*. Причиной устойчивости к антибиотику явилась мутация в 23S рРНК *MGE* в виде нуклеотидной замены в позиции A2058G. Предварительное исследование статуса макролидорезистентности *MGE* может изменить стратегию выбора антибиотика и оптимизирует сроки и стоимость лечения. ■

Литература/References

1. Борхсениус С. Н., Чернова О. А., Чернов В. М., Вишняков И. Е. Микоплазмы в биологии и медицине начала XXI века. СПб: Наука, 2016. Гл. 1. [Borkhsenius S. N., Chernova O. A., Chernov V. M., Vishnyakov I. E. *Mycoplasma* in biology and medicine the beginning of the XXI century. Sankt-Peterburg: Nauka, 2016. Chapter 1. (In Russ.)]
2. Jensen J. S., Cusini M., Gombert M., Moi H. 2016 European guideline on *Mycoplasma genitalium* infections. *J Eur Acad Dermatol.* 2016;30:1650–1656.
3. Unemo M., Ballard R., Ison C., Francis D.S., Peeling R. World Health Organization Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus. 2013. ISBN 978-92-4-150584-0. Chapter 3.
4. Российское общество дерматовенерологов и косметологов. Федеральные клинические рекомендации. Дерматовенерология 2015: Болезни кожи. Инфекции, передаваемые половым путем. 5-е изд., перераб. и доп. М.: Деловой экспресс, 2016: 721–729. [Russian society of dermatovenerologists and cosmetologists. Federal clinical recommendations. *Dermatovenerology 2015: Diseases of the skin. Sexually transmitted infections.* Moscow: Delovoy ekspress, 2016: 721–729. (In Russ.)]
5. Taylor-Robinson D., Jensen J. S. *Mycoplasma genitalium*: from Chrysalis to multicolored butterfly. *Clin Microbiol Rev.* 2011;24(3):498–514.
6. Раковская И. В. Микоплазмы человека и микоплазменные инфекции. Лекция. Часть 1. Клиническая лабораторная диагностика. 2005;(2):25–32. [Rakovskaya I. V. *Mycoplasma* and *Mycoplasma* human infections. Lecture. Part 1. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2005;2:25–32. (In Russ.)]
7. Tully J. G., Taylor-Robinson D., Cole R. M., Rose D. L. A newly discovered *Mycoplasma* in the human urogenital tract. *Lancet.* 1981;1(8233):1288–1291.
8. Guschin A., Ryzhikh P., Rummyantseva T., Gombert M., Unemo M. Treatment efficacy, treatment failures and selection of macrolide resistance in patients with high load of *Mycoplasma genitalium* during treatment of male urethritis with josamycin. *BMC Infect Dis.* 2015 Feb;(3):15–40.
9. Trembizki E., Buckley C., Bletchly C., Nimmo G. R. High levels of macrolide-resistant *Mycoplasma genitalium* in Queensland, Australia. *J Med Microbiol.* 2017;(66):1451–1453.
10. Braam J. F., van Dommelen L., Henquert C. J. M., van de Bovenkamp J. H. V., Kusters J. G. Multidrug-resistant *Mycoplasma genitalium* infections in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2017;36:1565–1567.
11. Jensen J. S., Bradshaw C. S., Tabrizi S. N., Fairley C. K., Hama-suma R. Azithromycin treatment failure in *Mycoplasma genitalium*-positive patients with nongonococcal urethritis is associated with induced macrolide resistance. *Clin Infect Dis.* 2008 Dec 15;47(12):1546–1553.
12. Hay B., Dubbink J. H., Ouburg S., Le Roy C., Pereyre S., van der Eem L., Morré S. A., Bébéar C., Peters R.P. Prevalence and macrolide resistance of *Mycoplasma genitalium* in South African women. *Sex Transm Dis.* 2015 Mar;42(3):140–142.
13. Le Roy C., Hénin N., Pereyre S., Bebear C. Fluoroquinolone-Resistant *Mycoplasma genitalium*, Southwestern France. *Emerg Infect Dis.* 2016 Sep;22(9):1677–1679.
14. Pond M. J., Nori A. V., Witney A. A., Lopeman R. C., Butcher P. D., Sadiq S. T. High prevalence of antibiotic-resistant *Mycoplasma genitalium* in nongonococcal urethritis: the need for routine testing and the inadequacy of current treatment options. *Clin Infect Dis.* 2014;(58):631–637.
15. Deguchi T., Yasuda M., Horie K., Seike K., Kikuchi M., Mizutani K. et al. Drug resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium* in female sex workers, Japan. *Emerg Infect Dis.* 2015;(21):1062–1064.

16. Getman D., Jiang A., O'Donnell M., Cohen S. *Mycoplasma genitalium* prevalence, coinfection, and macrolide antibiotic resistance frequency in a multicenter clinical study cohort in the United States. *J Clin Microbiol.* 2016;(54):2278–2283.

17. Shipitsyna E., Rumyantseva T., Golpar D., Khayrullina G., Lagos A. C., Edelstein I. et al. Prevalence of macrolide and fluoroquinolone resistance-mediating mutations in *Mycoplasma genitalium* in five cities in Russia and Estonia. *PLoS One.* 2017 Apr 13;12(4):e0175763.

18. Зубарева Л. М., Ковнерева Н. А., Эйдельштейн И. А., Евстафьев В. В., Козлов Р. С. Распространение штаммов *Mycoplasma genitalium*, устойчивых к препаратам группы макролидов, среди пациентов с негонококковыми формами инфекций, передаваемых поло-

вым путем, в Смоленске и Смоленской области. *Лабораторная служба.* 2017;6(3):96. [Zubareva L. M., Kovnereva N. A., Eydel'shteyn I. A., Evstaf'ev V. V., Kozlov R. S. The spread of *Mycoplasma genitalium* strains resistant to drugs of macrolides, among patients with non-gonococcal forms of sexually transmitted infections, in Smolensk and Smolensk region. *Laboratornaya Sluzhba.* 2017;6(3):96. (In Russ.)]

19. Edelstein I., Romanov A., Edelstein M. Development and application of real-time PCR assay for detection of mutations associated with macrolide resistance in *Mycoplasma genitalium* directly in clinical specimens. 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infection Diseases (ECCMID). Amsterdam, 2016.

Информация об авторах

Людмила Михайловна Зубарева* — врач клинической лабораторной диагностики Смоленского кожно-венерологического диспансера; e-mail: ludmila-zubareva@mail.ru; smolkvd@yandex.ru. ORCID 0000-0001-8761-7852

Инна Александровна Эйдельштейн — к.б.н., зав. лабораторией молекулярной диагностики Научно-исследовательского института антимикробной химиотерапии Смоленского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: InnaEdelstein@antibiotic.ru

Андрей Вячеславович Романов — младший научный сотрудник Научно-исследовательского института антимикробной химиотерапии Смоленского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации

Владимир Викторович Евстафьев — главный врач Смоленского кожно-венерологического диспансера; доцент кафедры кожных и венерологических болезней Смоленского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: smolkvd@yandex.ru

Роман Сергеевич Козлов — д.м.н., профессор, главный внештатный специалист Министерства здравоохранения Российской Федерации по клинической микробиологии и антимикробной резистентности; директор Научно-исследовательского института антимикробной химиотерапии Смоленского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации; президент МАКМАХ; и. о. ректора Смоленского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации

Information about the authors

Lyudmila M. Zubareva* — Clinical Laboratory Diagnostics Doctor, Smolensk Dermatovenerologic Dispensary; e-mail: ludmila-zubareva@mail.ru; smolkvd@yandex.ru. ORCID 0000-0001-8761-7852

Inna A. Eydel'shteyn — Cand. Sci. (Biol.), Laboratory Head, Laboratory of Molecular Diagnostics, Scientific Research Institute of Antimicrobial Chemotherapy of the Smolensk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: InnaEdelstein@antibiotic.ru

Andrey V. Romanov — Junior Researcher, Laboratory of Molecular Diagnostics, Scientific Research Institute of Antimicrobial Chemotherapy of the Smolensk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

Vladimir V. Evstaf'ev — Head Doctor, Smolensk Dermatovenerologic Dispensary; Assoc. Prof., Department of Skin and Venereal Diseases, Smolensk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: smolkvd@yandex.ru

Roman S. Kozlov — Dr. Sci. (Med.), Prof., Chief External Expert, Ministry of Health of Russian Federation on Clinical Microbiology and Antimicrobial Resistance; Director, Scientific Research Institute of Antimicrobial Chemotherapy of the Smolensk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; President of IACMAC; Acting Rector, Smolensk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation