

О микоплазменной инфекции в современный период

В последние 2–3 года значительно возросло количество инфекций дыхательных путей у детей и у взрослых, вызванных *Mycoplasma pneumoniae*, что определило дополнительный интерес исследователей к этиологии и распространенности данного заболевания.

M. pneumoniae вызывает инфекции верхних и нижних дыхательных путей – трахеобронхиты и пневмонию. Распространяются инфекции эндемично по всему миру вне зависимости от климатических зон, чаще всего регистрируются летом или ранней осенью, установлена положительная корреляция между повышением температуры и возникновением инфекций. Эпидемии имеют циклический характер, происходят каждые несколько лет. Так, с 2010 г. увеличилось число инфекций, вызванных *M. pneumoniae*, в ряде европейских стран, особенно в северных регионах, в тот же период эпидемии были зарегистрированы в Южной Америке и Юго-Восточной Азии.

Выделяемые культуры микоплазм разделяют на 2 основные генетические группы, подтип 1 и подтип 2, на основе различий в гене белка P1. На основе этих данных высказано предположение, что цикличность эпидемий может быть обусловлена переходом от одного подтипа P1 к другому, при утрате популяционного иммунитета к одному из вариантов. Кроме того, часто наблюдаемые смешанные микоплазменные инфекции с бактериями и вирусами, как правило, сопровождаются более тяжелыми формами заболевания.

В связи с внедрением в исследовательскую практику новых методов изучения фено- и генотипических свойств возбудителя, полногеномного секвенирования, оценки биохимических свойств, а также появлением трансгенных животных для моделирования микоплазменной инфекции появилось много новых сведений о возбудителе, которые кратко можно охарактеризовать следующим образом. Одним из основных факторов вирулентности микоплазм является способность к адгезии к эпителиальным клеткам, что позволяет возбудителю повреждать последние и использовать их питательные компоненты для своего размножения, а также дает возможность скользить по поверхности эпителия, распространяясь на другие его участки. Микоплазмы способны образовывать биопленки, защищающие их от внешних воздействий, например, антибиотиков или защитных молекул макроорганизма. Основным адгезином микоплазм является трансмембранный белок P1, а органелла адгезии, обеспечивающая прикрепление, показана на электронной фотографии.

Долгое время считалось, что микоплазмы не имеют токсинов, однако в последнее время был идентифицирован токсин CARDS (community-acquired respiratory distress syndrome), токсин внебольничного синдрома дыхательной недостаточности (дистресс-синдрома), частично схожий с токсином



Waites K.B. et al., 2017

коклюша и являющийся важным фактором вирулентности. CARDS вызывает гиперреактивность дыхательных путей по типу астмы, повреждение клеток эпителия, подавляет врожденный иммунитет хозяина и индуцирует выработку специфических антител. Кроме того, факторами вирулентности микоплазм являются способность к образованию перекиси водорода, синтез липопротеина, обладающего нуклеолитической активностью, и некоторые другие факторы с еще не до конца выясненной функцией.

Лабораторная диагностика строится по стандартному типу, как для всех бактериальных инфекций. Образцами для исследования обычно являются пробирки с назофарингеальными или ротоглоточными тампонами, трахеальные аспираты, биоптат ткани легкого, плевральная жидкость, мокрота и бронхоальвеолярный лаваж; из внелегочных образцов – кровь, ликвор, перикардальная жидкость, смывы с кожи или ткани из любого органа. Наилучшим образцом для выявления микоплазм считается мокрота, в которой может содержаться 10^2 до 10^7 КОЕ/мл, тогда как в тампонах из ротоглотки – до 10^3 . Но мокроты часто бывает мало или ее невозможно взять, например у детей. Необходимо использовать специальную транспортную среду для предотвращения высыхания, сохранения жизнеспособности культуры и поддержания стабильности ДНК для исследования методом ПЦР. Эффективной транспортной средой является бульон SP4.

Культивирование микоплазм – длительный процесс, и нечасто используемый на практике, но он пока является

основным для получения изолятов при тестировании антимикробной чувствительности или типирования, поскольку дает абсолютные доказательства инфицирования этим организмом при положительной реакции. Проведенные в США исследования по сравнению генодиагностического метода и метода ПЦР при выявлении микоплазм у почти 1000 пациентов с пневмонией показали, что ПЦР-метод выявил 6% положительных проб на микоплазмы, а культуральный – 5%. Для нашей страны существует необходимость разработки эффективной современной микоплазменной питательной среды и среды для транспортировки образцов, что является основой для их коллекционирования, исследования гено- и фенотипического разнообразия и распространенности.

Антитела в организме человека в основном образуются против адгезина P1 и токсина CARDS. Антитела в основном представлены IgM и появляются в течение 1-й недели после начала болезни и затем в течение 2 нед, достигая пика через 3–6 нед, с последующим снижением.

Коммерческие серологические тесты на *M. pneumoniae* существуют в виде иммуноферментных методов на плашках для выявления отдельно IgM и IgG, мембранный иммуноферментный метод для выявления отдельно IgM или вместе IgM и IgG, непрямого метода для иммунофлуоресцентной микроскопии, а также агглютинации латексных или желатиновых частиц. Наиболее точный результат серологического тестирования *M. pneumoniae* можно получить при одновременном тестировании парных сывороток, полученных с интервалом не менее 2 нед, как на IgM, так и на IgG, при 4-кратном увеличении титра. Разрабатываются эффективные тест-системы на основе рекомбинантных белков микоплазм.

В последнее время показали высокую эффективность при обнаружении микоплазм иммунохроматографические тесты. Наиболее эффективным и прочно вошедшим в практику лабораторий методом выявления микоплазм является ПЦР-диагностика в различных вариантах – RT-ПЦР, мультиплексная ПЦР, чиповые амплификационные технологии, LAMP-технология, основанная на изотермической амплификации. Последняя является наиболее предпочтительной для использования в лабораториях, так как проводится при постоянной температуре, не требует высокого уровня подготовки персонала, менее затратна, чем ПЦР, с удобной визуализацией и возможностью использования в мультиплексном варианте. Для выявления острой микоплазменной ин-

фекции LAMP-технология в мире считается диагностическим тестом первой линии, обеспечивающим получение результата в течение 1 ч после взятия материала у больного. Предпринимаются попытки подобрать дизайн праймеров для осуществления данной технологии для одновременного выявления возбудителя и определения генов его устойчивости к макролидам.

В настоящее время считается, что один тест не может быть достаточным для достоверной диагностики микоплазменной инфекции, а самым чувствительным подходом для постановки диагноза в ранние сроки развития заболевания является комбинация серологического выявления IgM и метода ПЦР в любом чувствительном варианте.

Что касается диагностической значимости масс-спектрометрии с использованием широко распространенных приборов Bruker Biotyper MALDI-TOF MS, то следует отметить, что применение такого подхода дает важную информацию не только относительно принадлежности исследуемой культуры к микоплазмам, но и позволяет достаточно точно дифференцировать их внутри вида. Это важно для коллекционной деятельности и решения молекулярно-эпидемиологических задач, но требует наличия чистой культуры возбудителя, получение которой занимает достаточно длительное время.

Таким образом, учитывая, что микоплазменная инфекция получает в последние годы все большее распространение среди людей вообще и в частности в России, следует считать необходимым развитие диагностических методологий на основе культуральных методов исследования с целью коллекционирования и определения лекарственной устойчивости штаммов (среды для выделения и транспортировки), генетического анализа для целей ранней диагностики и генотипирования возбудителя (мультиплексная ПЦР, LAMP-технология, полногеномное секвенирование), иммунохимических методов выявления в быстрых тестах антигенов микоплазм и антител к ним (иммунохроматографические и латексные тесты).

*И.А.Дятлов,
директор ФБУН «Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии»
Роспотребнадзора, академик РАН,
доктор медицинских наук, профессор*