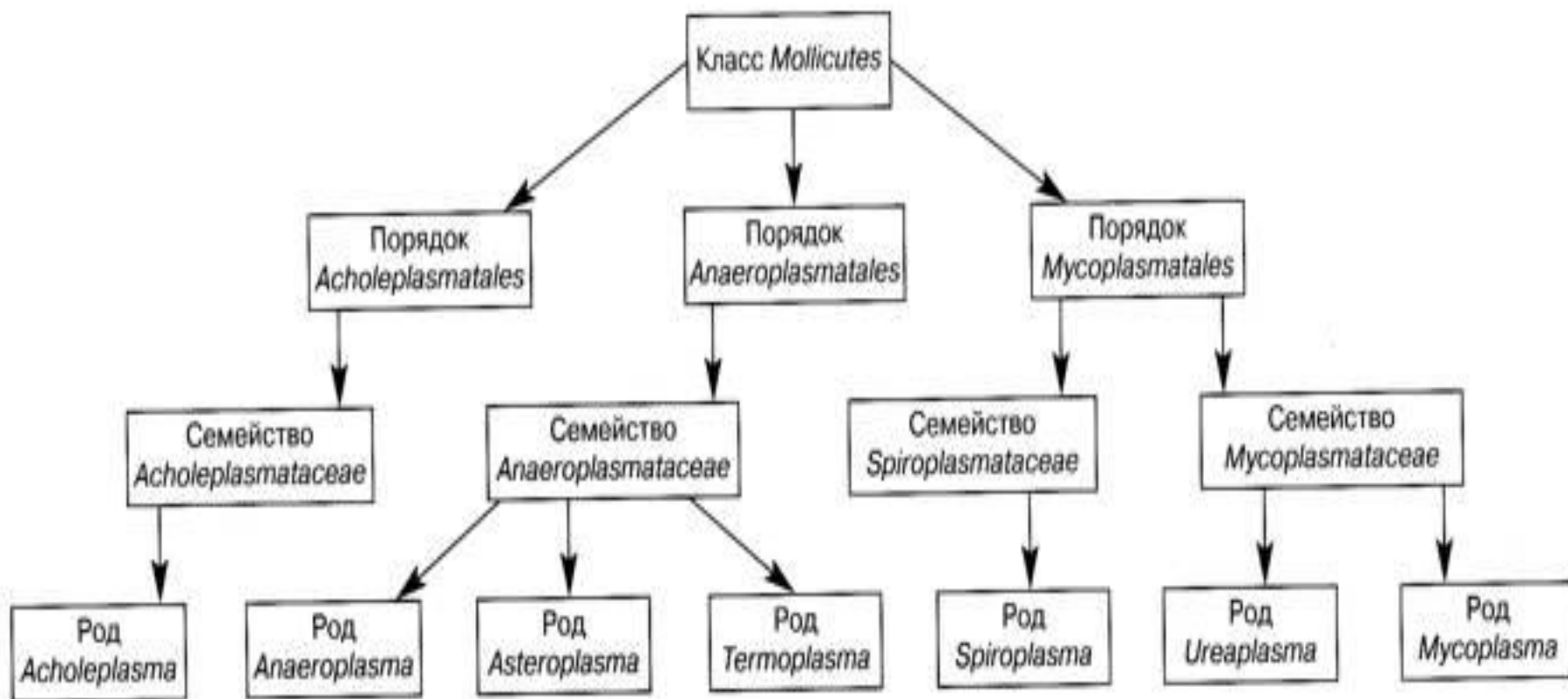



# МИКОПЛАЗМЫ И УРЕАПЛАЗМЫ



---

# Таксономическая схема





Микоплазмы  
человека

Респираторный тракт

Урогенитальный тракт

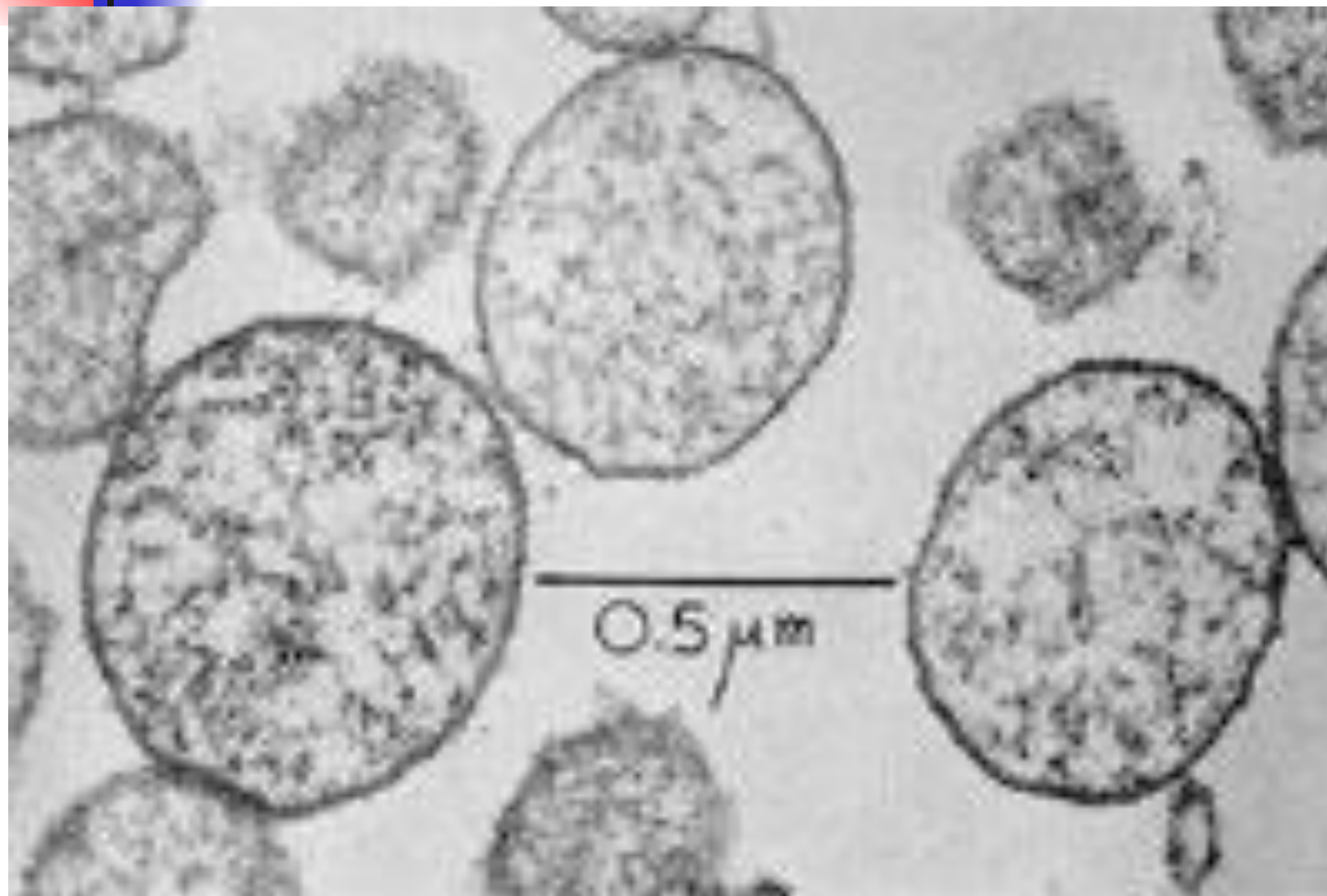
Другие органы человека

*M. pneumoniae*  
*M. orale*

*M. hominis*  
*U. urealyticum*  
*M. fermentas*  
*M. genitalium*

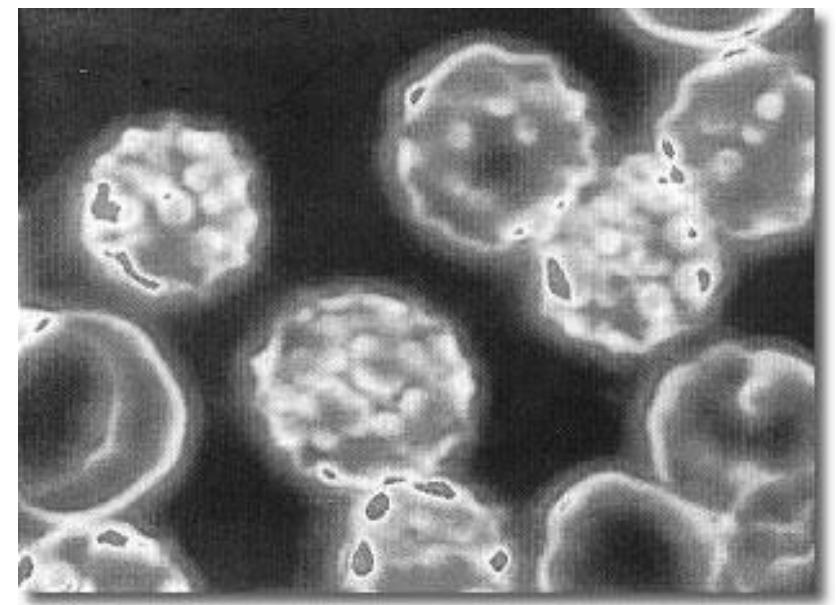
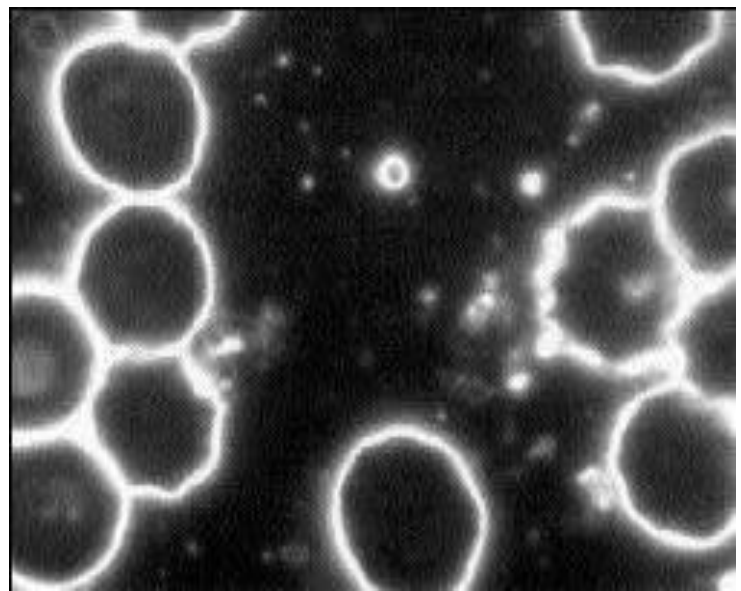
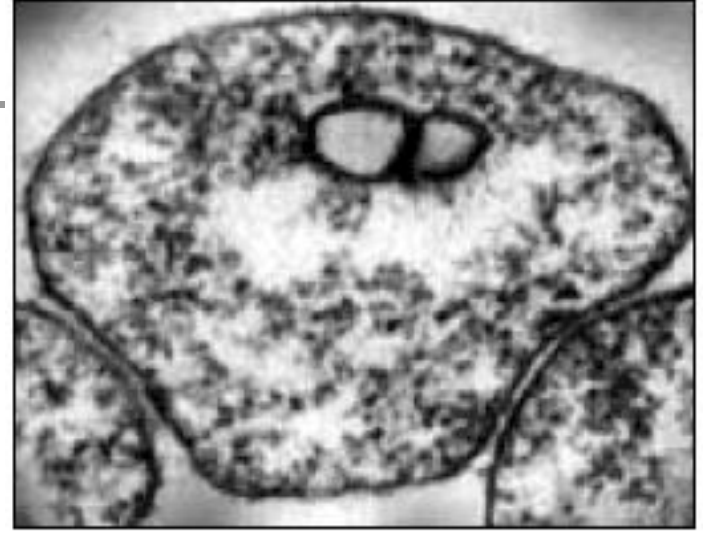
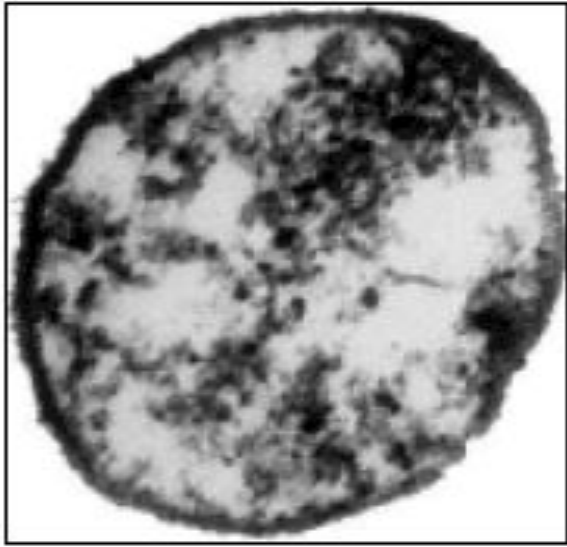
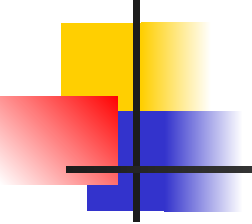
*M. penetrans*  
*M. faucium*  
*M. lipophilium*  
*M. artritidis*  
*M. buccale*  
*M. salivarium*

# Морфология *Mycoplasma* sp.



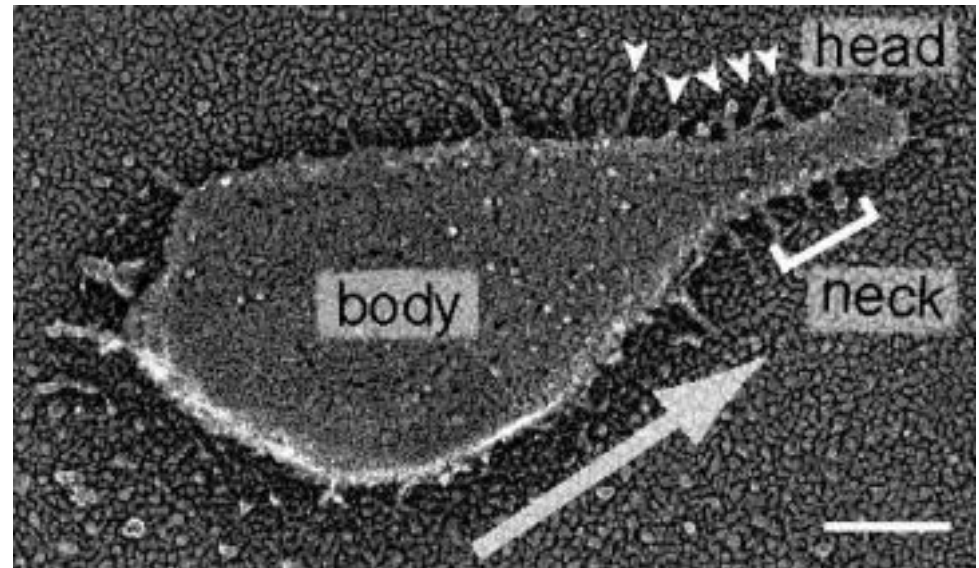
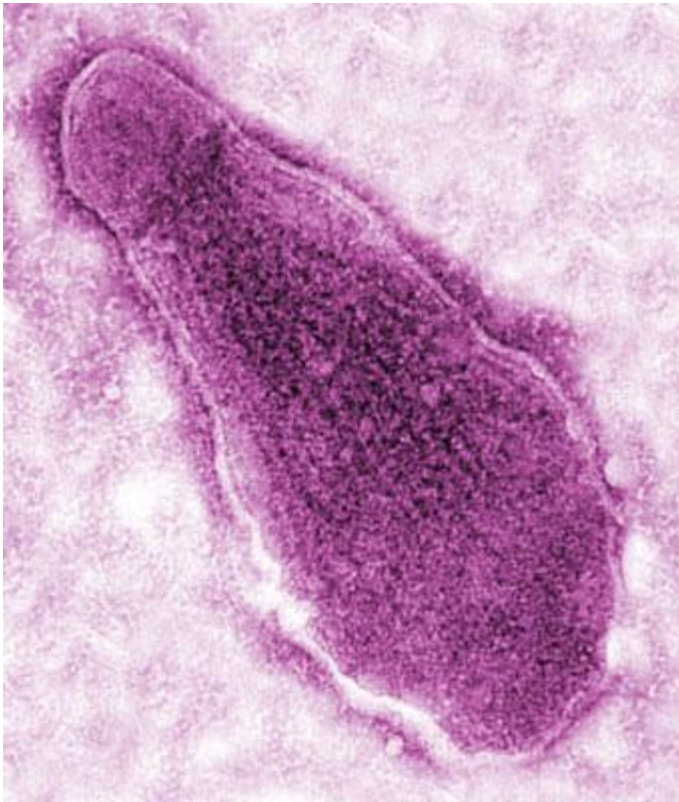
**0,15-0,7 мкм**

# Морфология *Mycoplasma sp.*

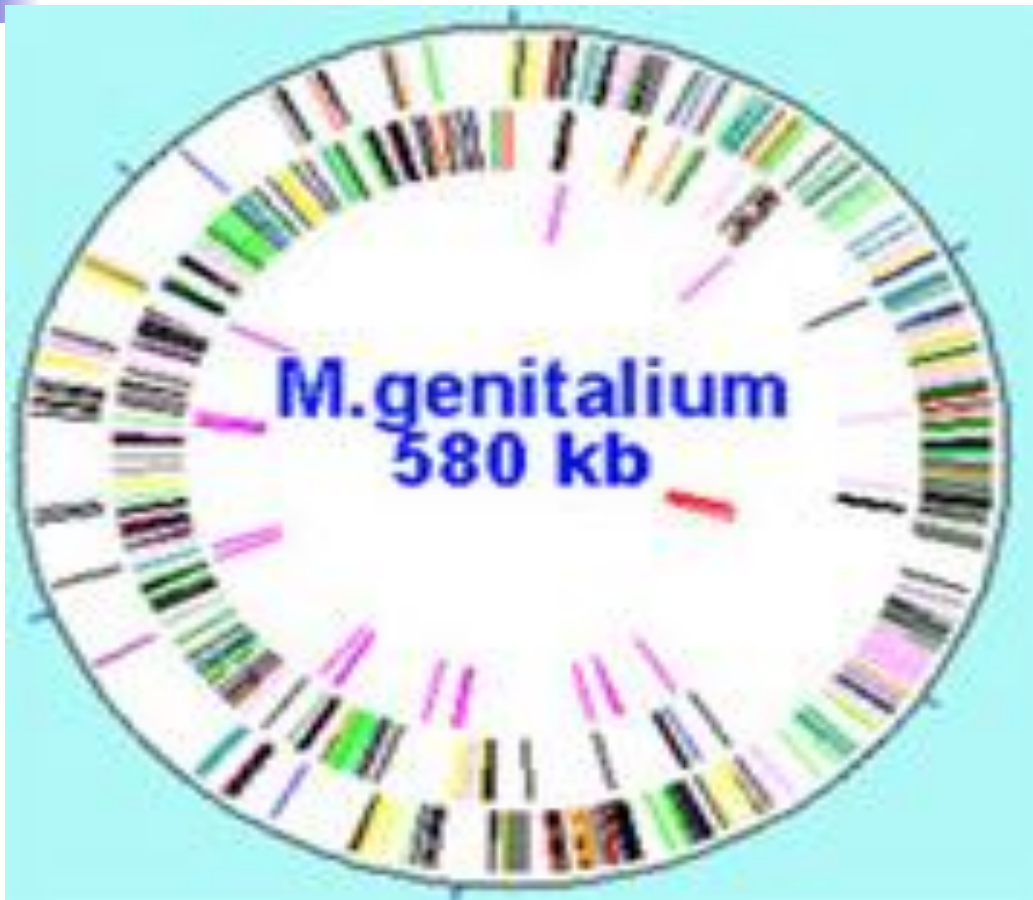




# Морфология клеток *M.mobile*

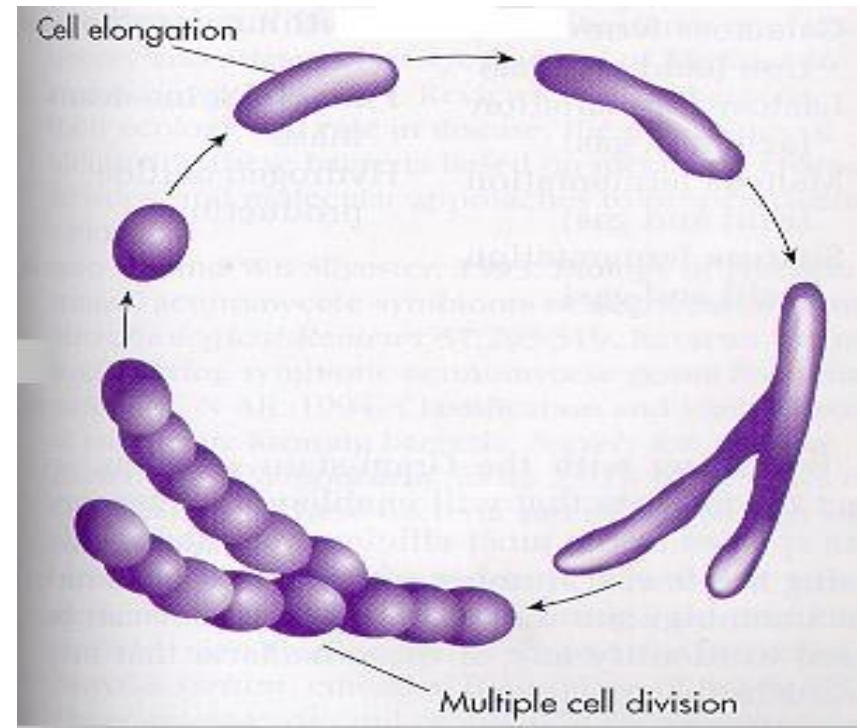
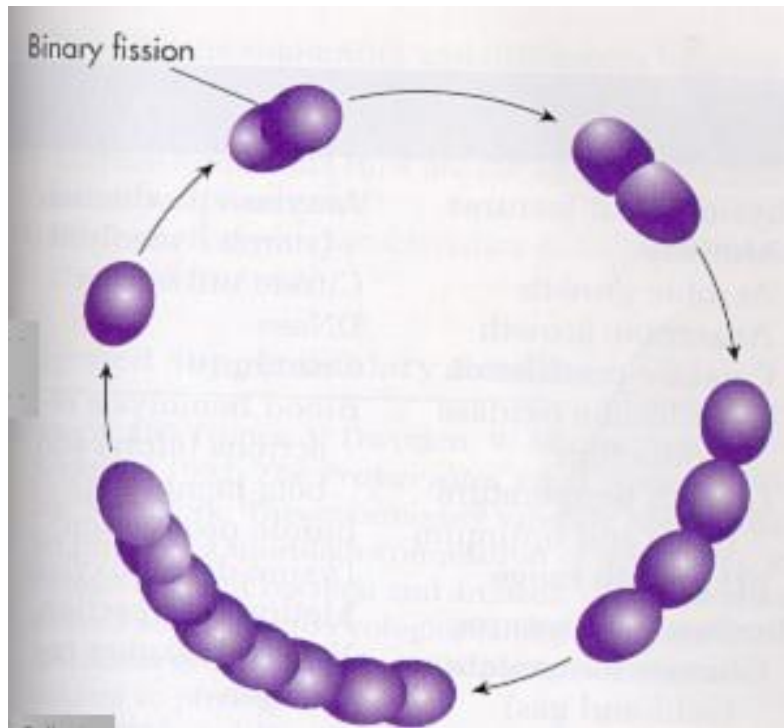


# Геном *M. genitalium*



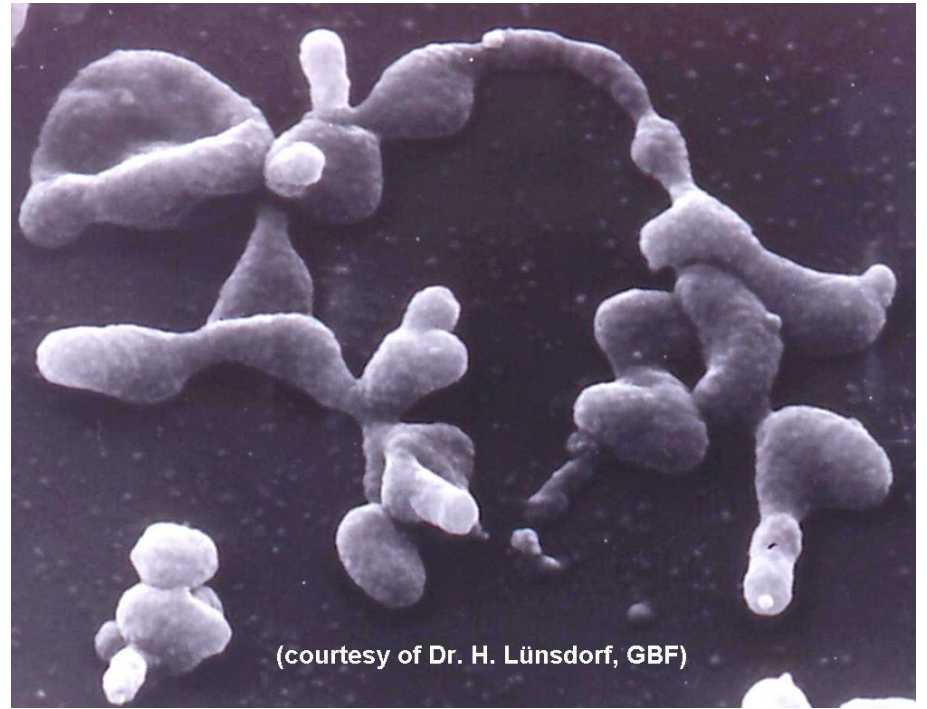
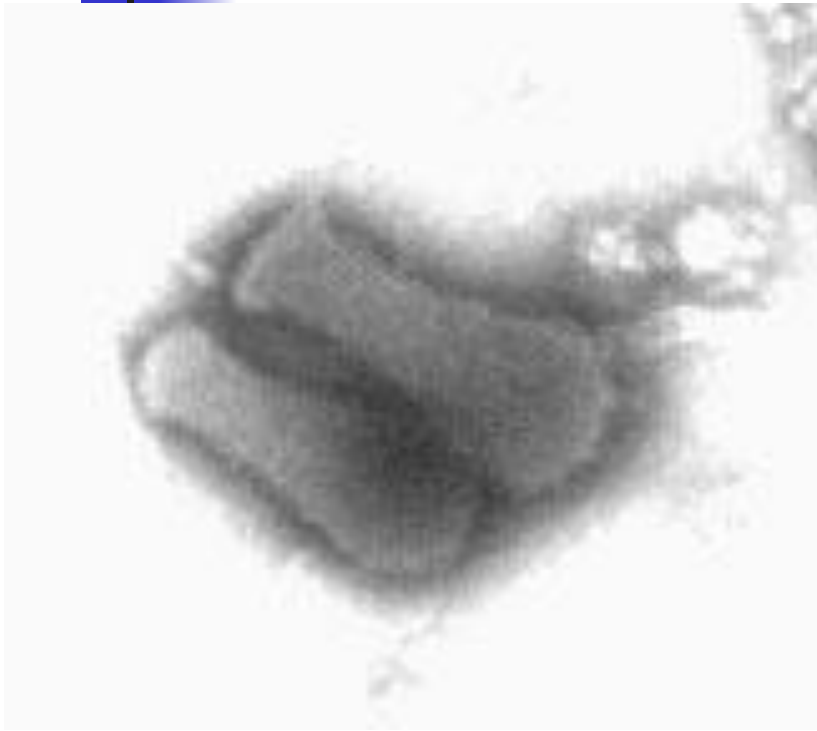
**500-1000 миллион  
пар оснований**

# Морфоварианты клеток МИКОПЛАЗМ

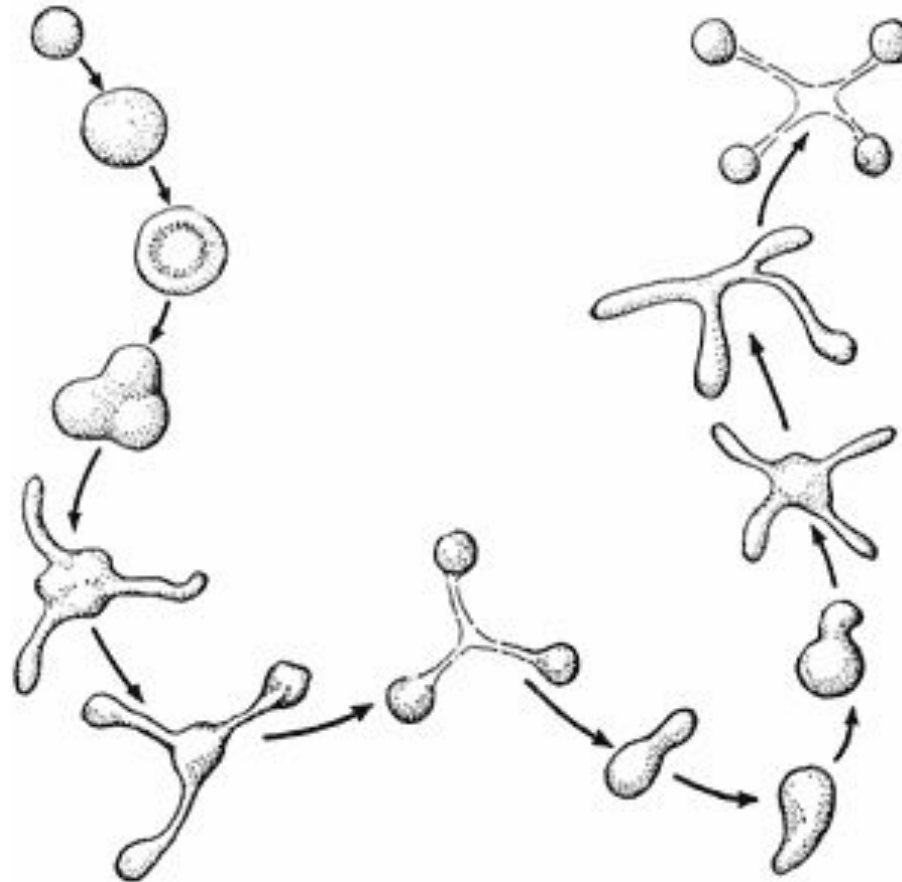




# Полиморфизм клеток *Mycoplasma sp.*

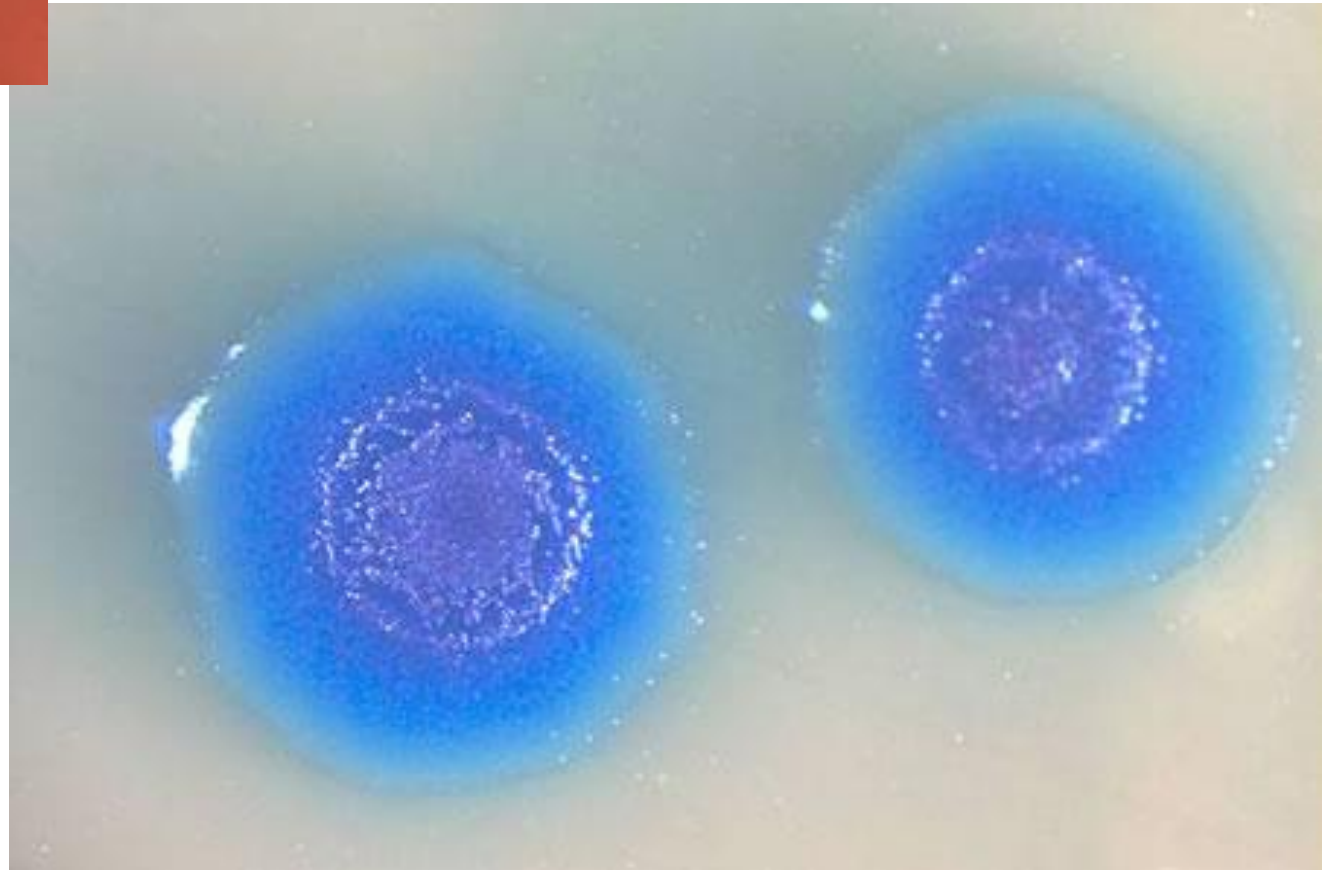


# Схема деления микоплазм в жидкой среде

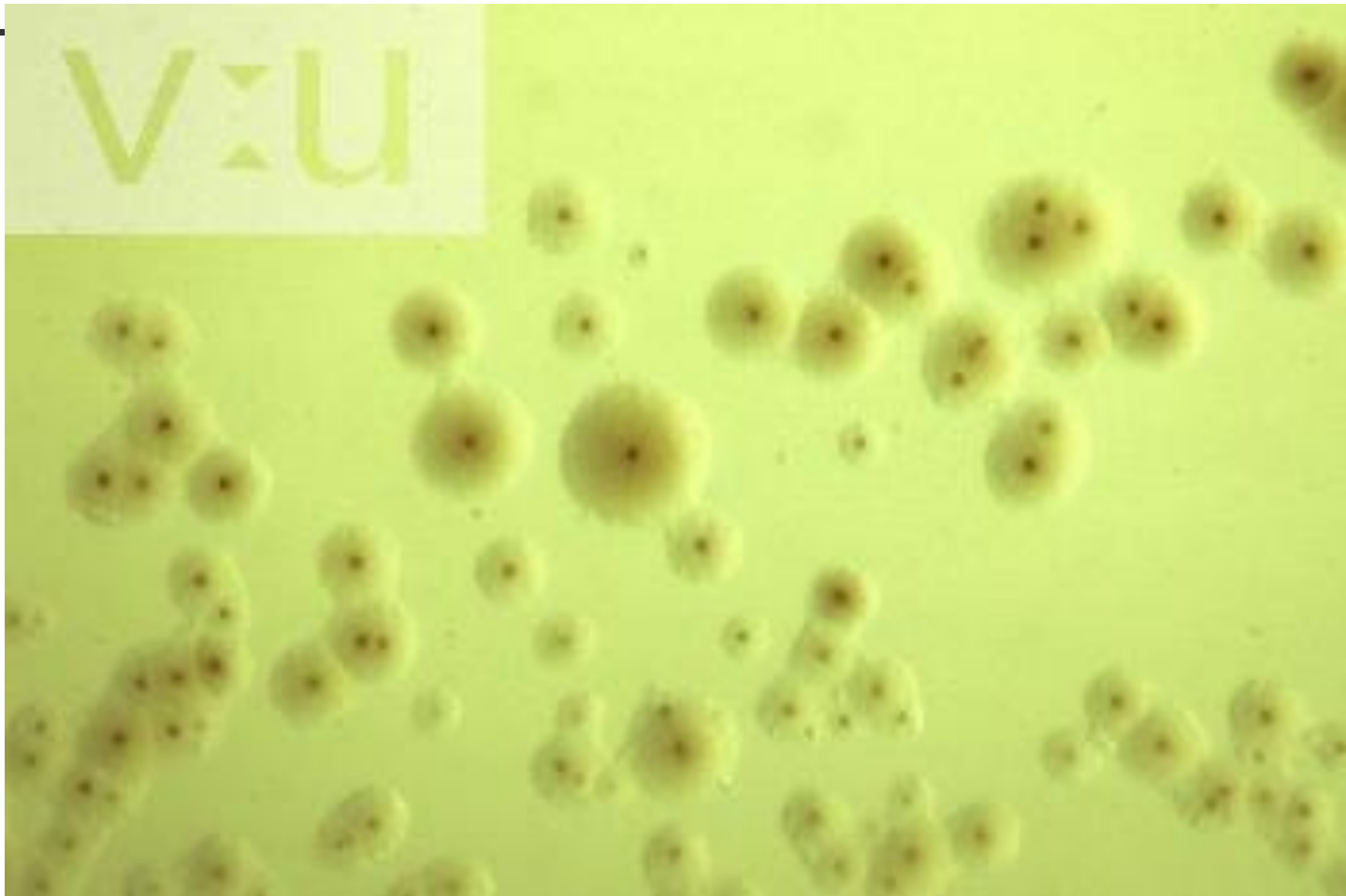


# Морфология колоний *Mycoplasma sp.*

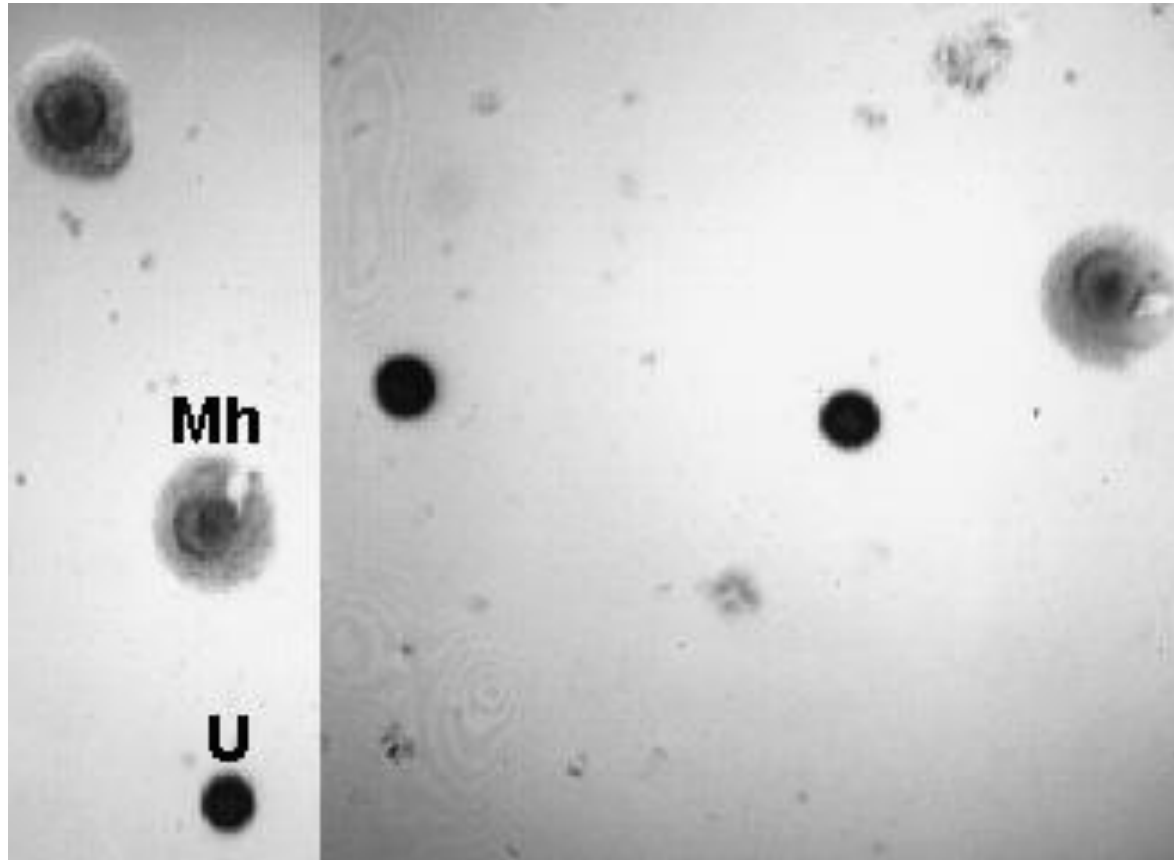
---



# Рост на плотной среде

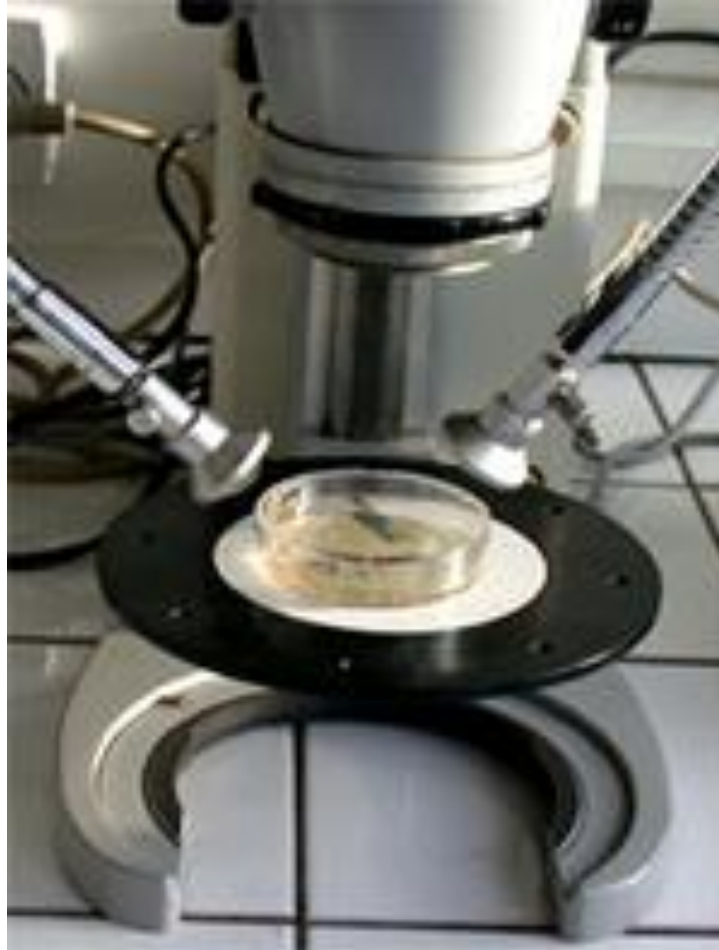


# Морфология колоний микоплазм и уреоплазм

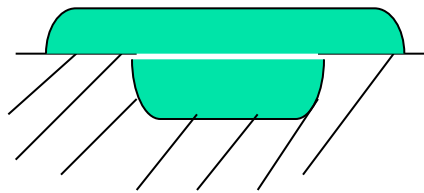
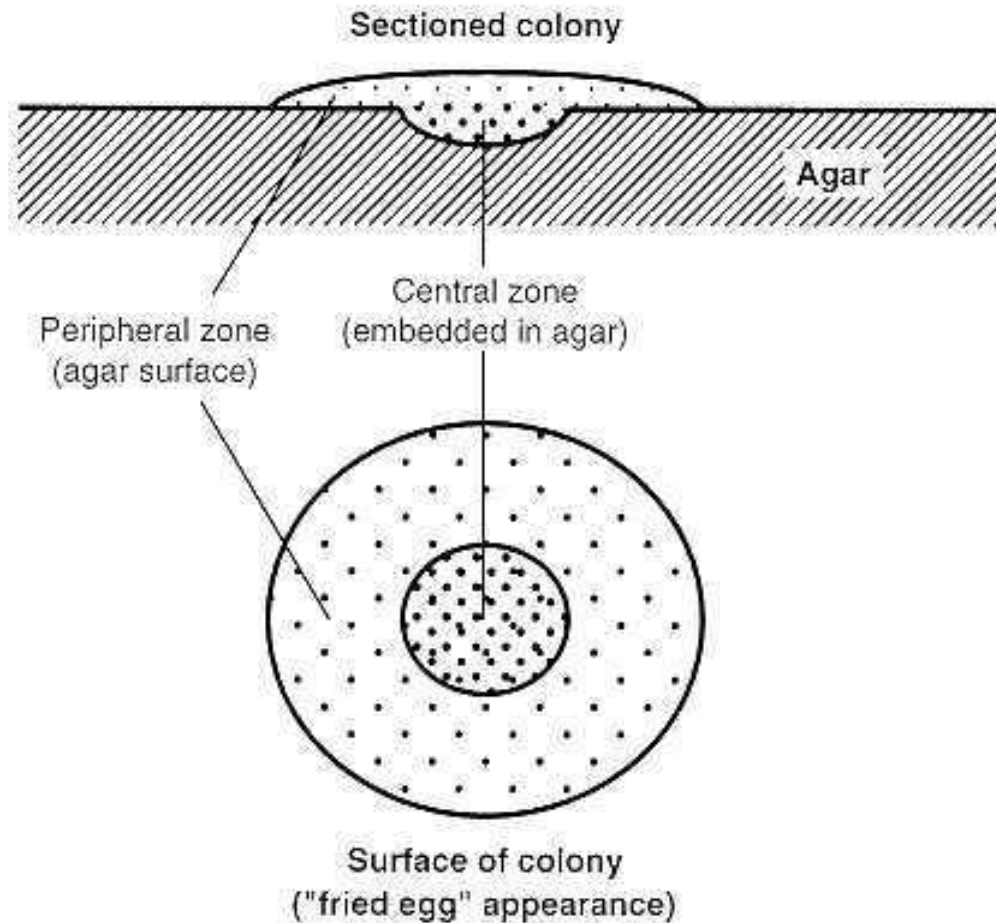
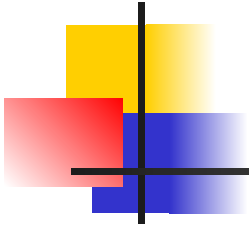




# Световая микроскопия морфологии колоний



# Морфология колоний *Mycoplasma sp.*



# Биохимические свойства микоплазм

Факторы	<i>M.hominis</i>	<i>M.genitalium</i>	<i>U.urealyticum</i>	<i>M.pneumoniae</i>
Гидролиз аргинина	+	-	-	-
Уреазная активность	-	-	+	-
Протеолитическая Активность относительно IgA	-	-	+	-
Фосфолипазная активность	-	-	+	-
Ферментация глюкозы	-	+	-	+
Гемадсорбция	-	+	-	+



# АГ структура микоплазм

---

- Фосфолипиды
- Гликолипиды
- Полисахариды
- Белки
- Комплексы из вышеперечисленных компонентов



# Антигенный состав исключительно гетерогенный

---

## *M.hominis*

- Варьируют 9 гидрофобных мембранных белков. У всех штаммов постоянно -**ТОЛЬКО 2**
- Гидрофильные белки 30000 - 200000 Да легко вымываются при изменении рН и ионной силы
- набор АГ цитоплазмы постоянный

## *U.urealyticum*

- Различают 16 сероваров,
  - группы А и В
- АГ-детерминанты: полипептиды мембраны
- Типировать невозможно - многие серовары реагируют перекрестно,
- **У одного пациента - несколько сероваров**



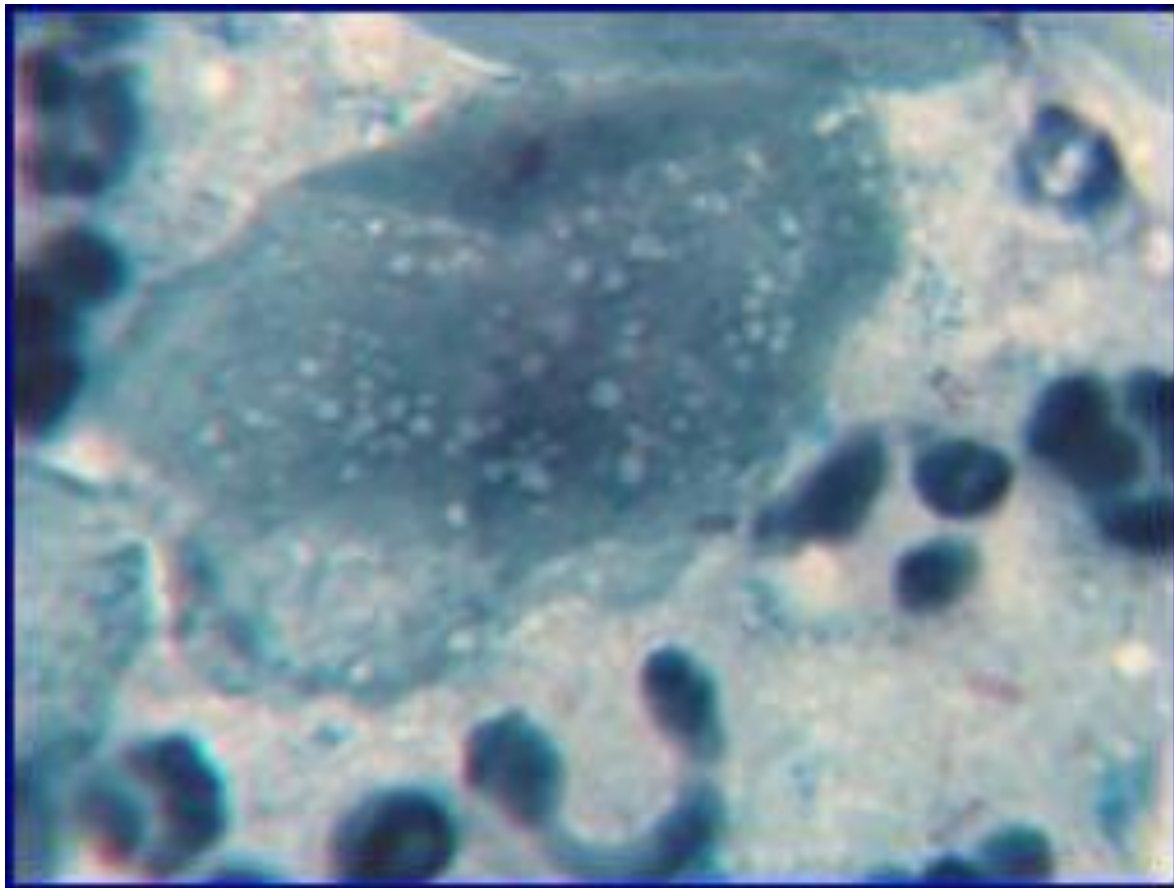


# Факторы патогенности

---

- Адгезины
- Цитотоксин (АДФ рибозилтрансфераза – вакуолизация клеток)
- Гемолизины
- Аргинин
- Уреаза
- Протеаза IgA человека
- Фосфолипаза
- РНКазы, ДНКазы
- Нейроменидаза

# Клетка инфицированная *Mycoplasma* sp. - ЦПД



# Процесс инфицирования микоплазмами эпителия

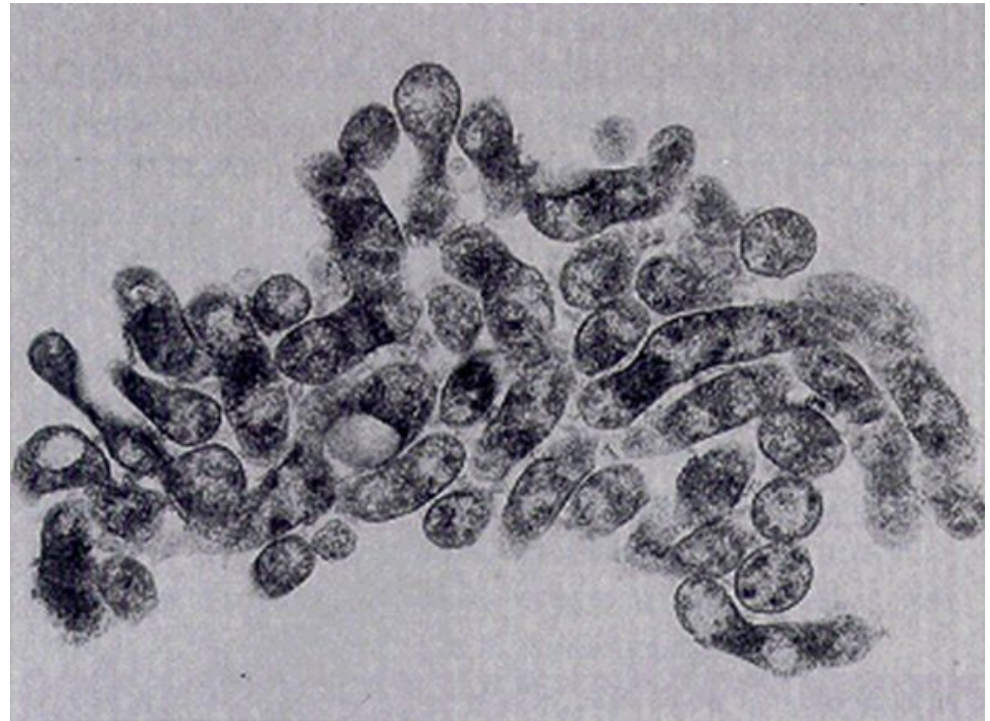
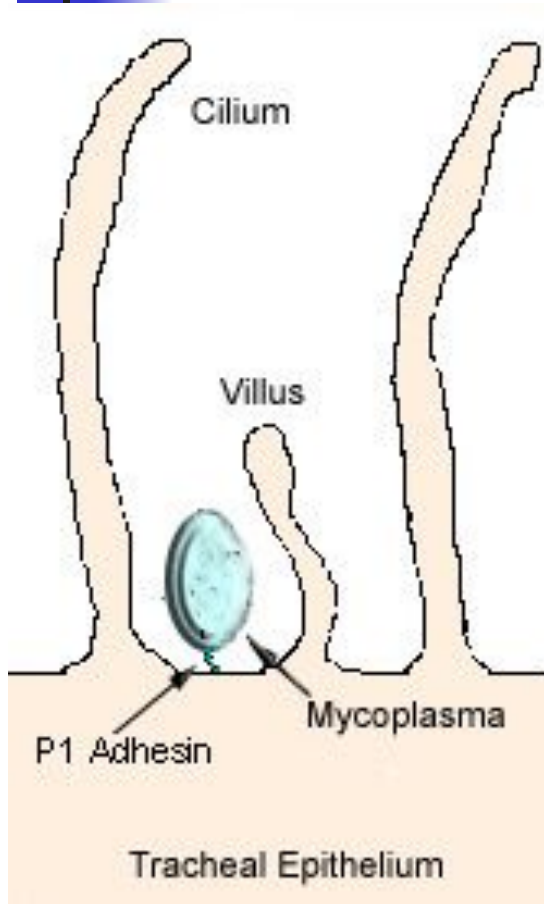


# Процесс инфицирования эпителия *Mycoplasma* sp.





# Патогенез пневмонии, вызванной *Mycoplasma pneumoniae*



Микроколония *M. pneumoniae*

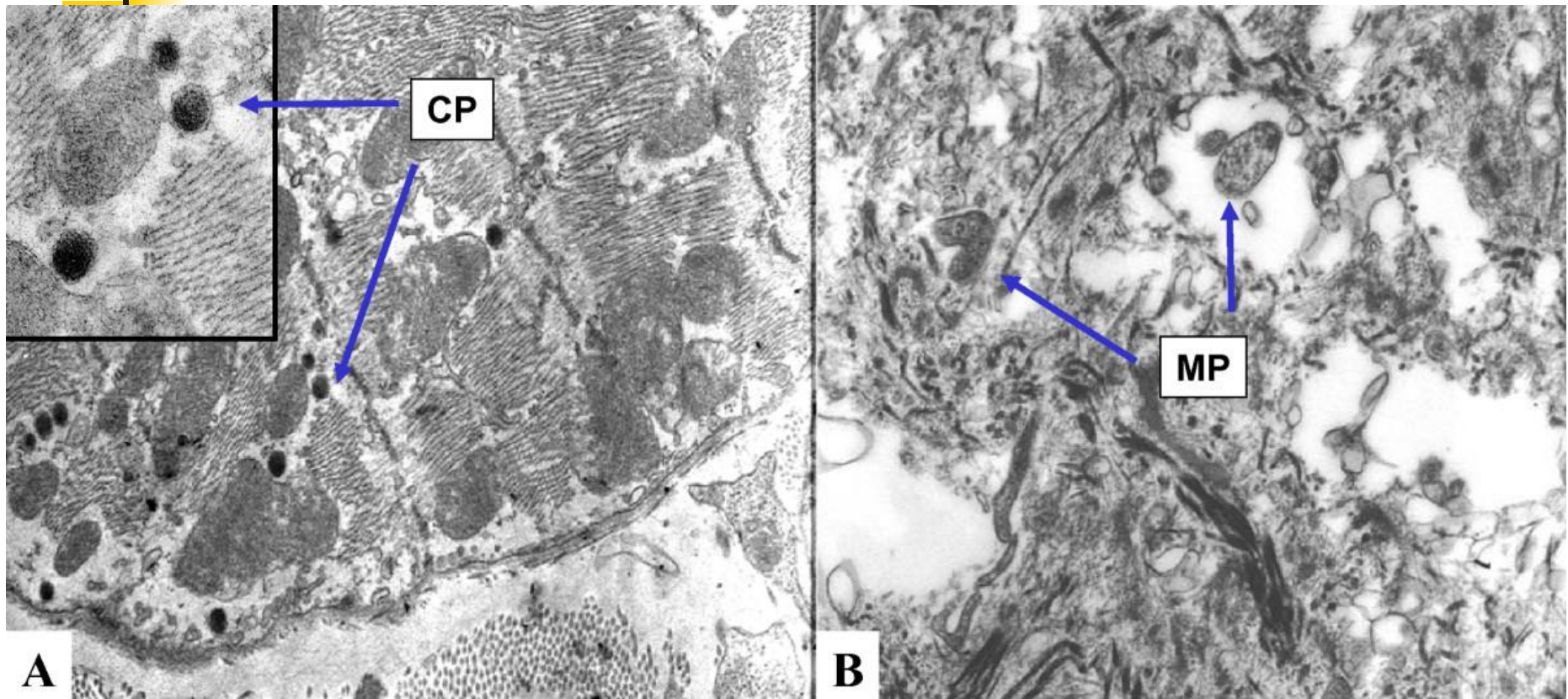


# *Mycoplasma pneumoniae* (M)



<http://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php?title=File:Mycoplasma-pneumoniae.jpg>

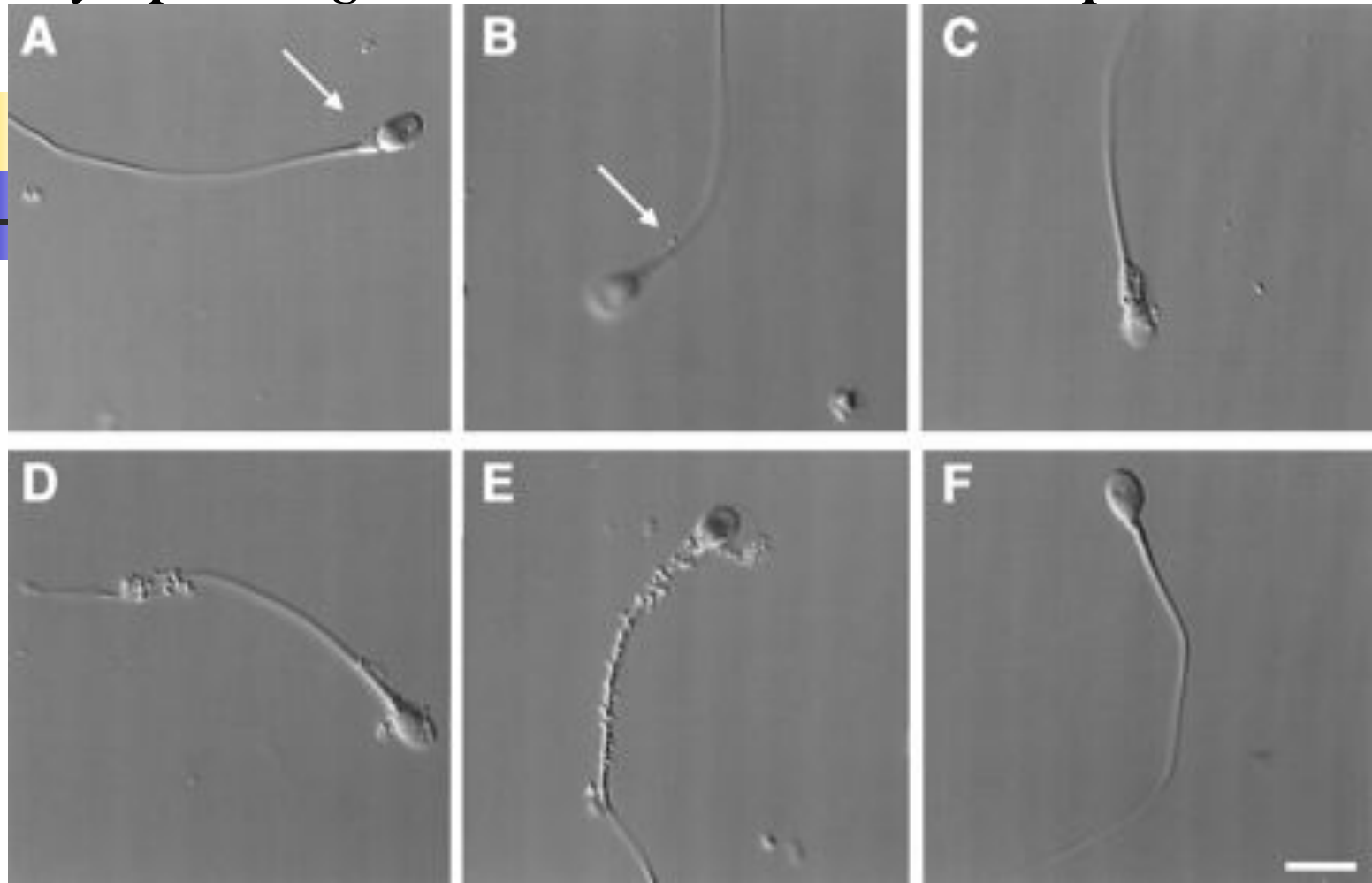
## *Mycoplasma pneumoniae* (MP) and *Chlamydia pneumoniae* (CP) bodies



**Electron microscopic views of *Mycoplasma pneumoniae* (MP) and *Chlamydia pneumoniae* (CP) bodies.** Elementary bodies in the myocardial fiber from a mouse of the MP + CP infected group. The close view on the left side shows the double membrane of CP elementary bodies (1A). An intimal plaque from a mouse of the MP infected group, exhibiting two rounded mycoplasma bodies, characterized by only one envelopment membrane (1B).

Damy *et al.* *BMC Microbiology* 2009 **9**:194 doi:10.1186/1471-2180-9-194

# *Mycoplasma genitalium* attaches to human spermatozoa



Nomarski microscopy ( $\times 100$  objective) of sperm incubated *in vitro* with *M. genitalium*. A single cell of *M. genitalium* is attached to (A) the midpiece region (arrow) and (B) the tail (arrow) of spermatozoa. (C) Several cells of *M. genitalium* attached to the head and midpiece. Note the swollen midpiece, which was not a general observation when spermatozoa with adhering mycoplasmas were studied. (D) Microcolonies of *M. genitalium* attached to the distal tail, mid-tail, midpiece and head of the spermatozoon. (E) A massive colonization of the spermatozoon. Note that *M. genitalium* is also attached to the invisible head-vesicle of the spermatozoon. (F) A negative control of sperm incubated without mycoplasmas. Bar = 5  $\mu\text{m}$ .

# Human Spermatozoa Vacuolated Morphology

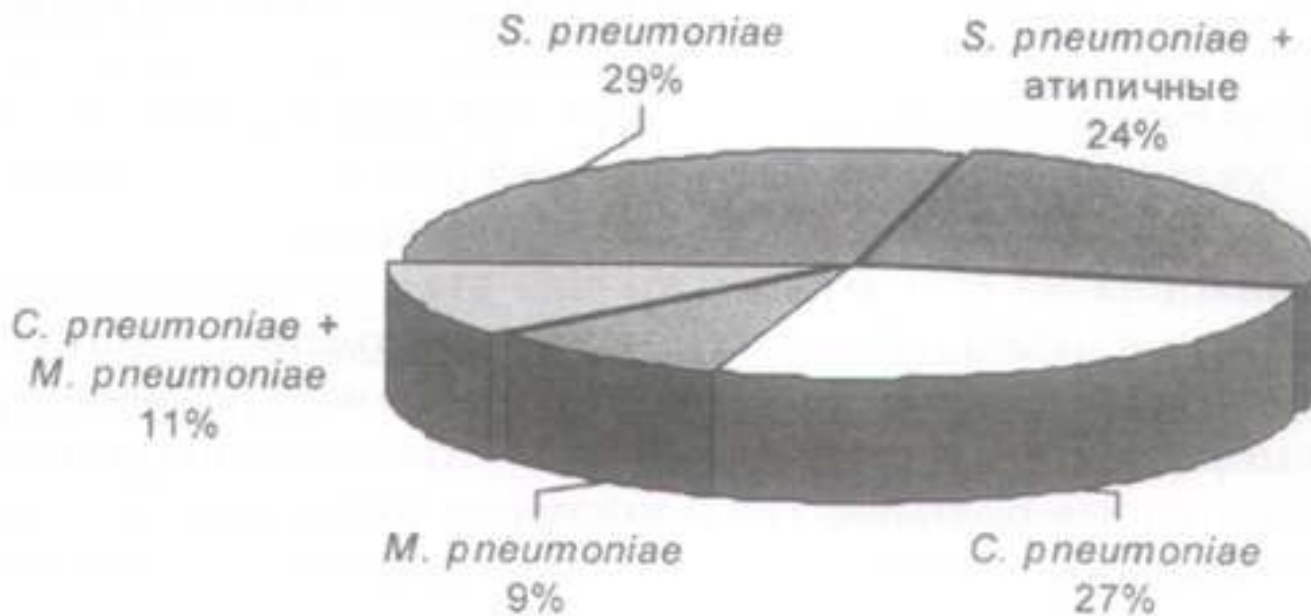


Spermatozoa with large nuclear vacuoles observed at high magnification ( $\geq 8400\times$ ).

Spermatozoa were analyzed at greater than or equal to 8400x magnification by inverted microscope equipped with DIC/Nomarski differential interference contrast optics. At least 200 motile spermatozoa per semen sample were evaluated and percentages of normal spermatozoa and spermatozoa with large nuclear vacuoles (LNV/one or more vacuoles occupying  $>50\%$  of the sperm nuclear area) were determined. A spermatozoon was classified as morphologically normal when it exhibited a normal nucleus (smooth, symmetric and oval nucleus, width  $3.28\pm 0.20$  microm, length  $4.75\pm 0.20$  microm/absence of vacuoles occupying  $>4\%$  of nuclear area) as well as acrosome, post-acrosomal lamina, neck and tail, besides not presenting cytoplasm around the head. One examiner, blinded to subject identity, performed the entire study.



Этиология пневмонии в группе микробиологически обследованных пациентов с установленным этиологическим диагнозом (n=100)



# Микоплазменная пневмония



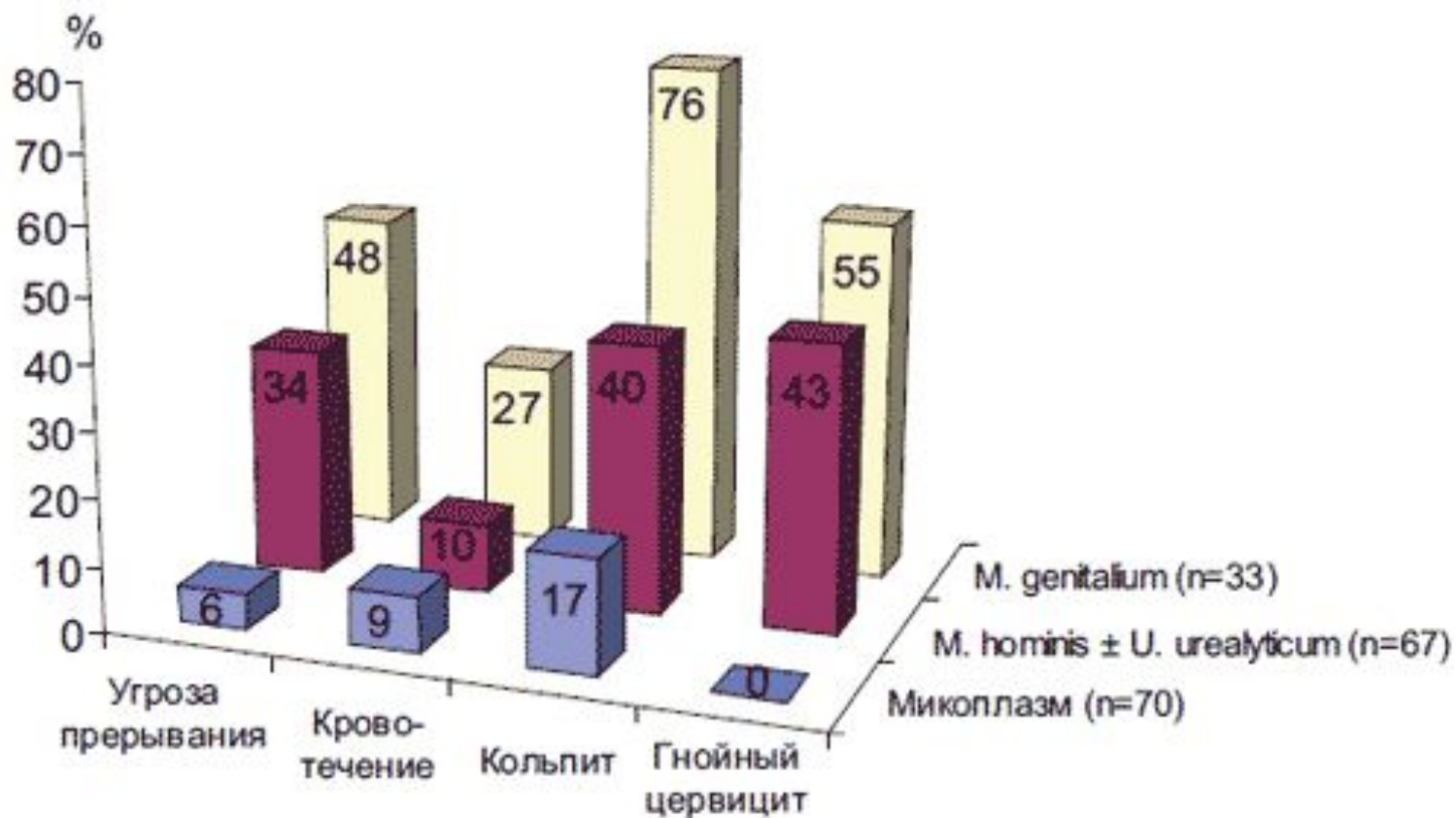
*Mycoplasma pneumoniae* Infections  
Red Book.; 2006: 468-470.



# Микоплазменный КОНЪЮНКТИВИТ



# Особенности течения I триместра беременности у женщин в зависимости от наличия и вида генитальных микоплазм





## Частота встречаемости (%) сочетанных с микоплазмозом ИППП

Сочетанная инфекция	%
<i>Candida sp.</i>	25,1
<i>Chlamydia trachomatis</i>	18,7
<i>Trichomonas vaginalis</i>	6,9

# Методы лабораторной диагностики ИППП



**Микроскопические**



**Культуральные**



**Иммунологические**



**Молекулярно-  
биологические**

# Микроскопические методы в диагностике ИППП

<i>T.pallidum</i>	Нативные препараты (в темном поле)
<i>S.trachomatis</i>	Окрашенные препараты по Романовскому-Гимзе; прямая иммунофлюоресценция (ПИФ)
<i>N.gonorrhoeae</i>	Окрашенные препараты метиленовым синим, по Граму
<i>T.vaginalis</i>	Нативные препараты, окрашенные препараты (метиленовым синим, по Граму), фазово-контрастная и люминесцентная микроскопия
<i>Mycoplasma/ Ureaplasma</i>	Не используют

# Культуральные методы в диагностике ИППП

<i>T.pallidum</i>	Не культивируется
<i>C.trachomatis</i>	В культуре эукариотических клеток с иммунофлюоресцентной идентификацией
<i>N.gonorrhoeae</i>	На твердых средах с последующей морфологической и биохимической идентификацией
<i>T.vaginalis</i>	В ЖПС с микроскопической идентификацией возбудителя
<i>Mycoplasma/ Ureaplasma</i>	В ЖПС с идентификацией по изменению окраски индикатора. <b>M.genitalium не культивируется</b>



# Требования к условиям транспортировки для последующего культивирования

<i>C.trachomatis</i>	При +4°C до 2 сут.	При комн. Т до 5 час.
<i>M.hominis</i> , <i>Ureaplasma spp.</i>	При +4°C до 3 сут.	При комн. Т до 5 час.
<i>N.gonorrhoeae</i>	При +30°C, в атмосфере CO <sub>2</sub>	При комн. Т 2-3 час.
<i>T.vaginalis</i>	Не желательно охлаждать	При комн. Т несколько час.

# Иммунологические (серологические) методы в диагностике ИППП



<i>T.pallidum</i>	РСК, РИФ, РИБТ, ИФА, РПГА
<i>C.trachomatis</i>	ИФА (АТ), ИФА (АГ)
<i>N.gonorrhoeae</i>	РСК, ИФА (АГ)
<i>T.vaginalis</i>	ИФА, РИФ
<i>Mycoplasma/ Ureaplasma</i>	РСК, РПГА, ИФА

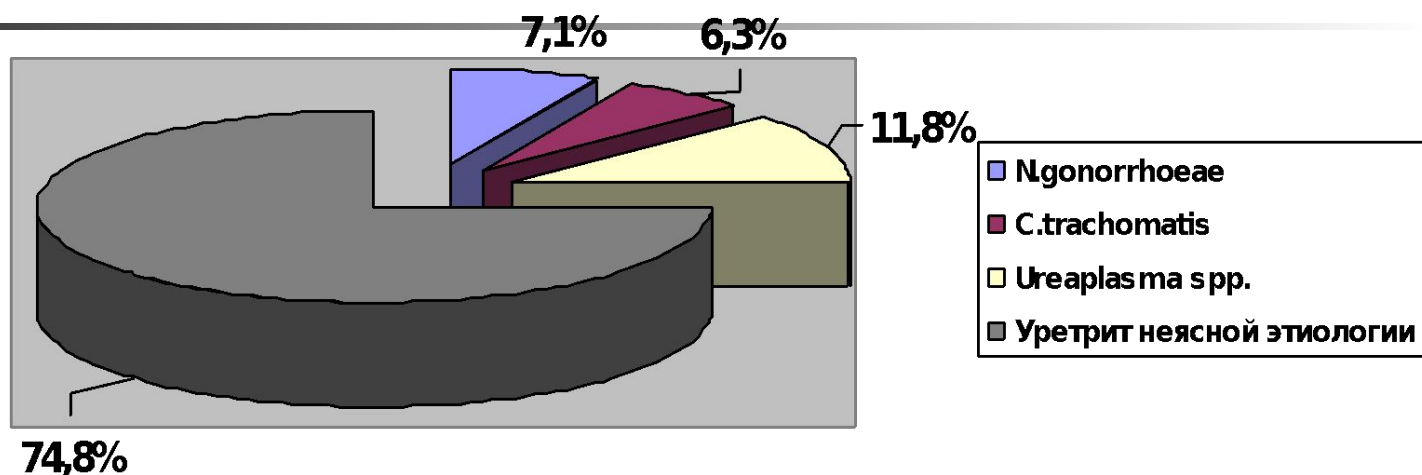
## Методы лабораторного выявления возбудителей ИППП

- ***T.pallidum***. ТПМ, серологические методы;
- ***N.gonorrhoeae***. Микроскопия окрашенных препаратов, бак. посев;
- ***C.trachomatis***. РИФ, серологический анализ, бак.посев;
- ***T.vaginalis***. Микроскопия нативных и окрашенных перпараты, микробиол. посев;
- ***Mycoplasma genitalium*** - отсутствуют

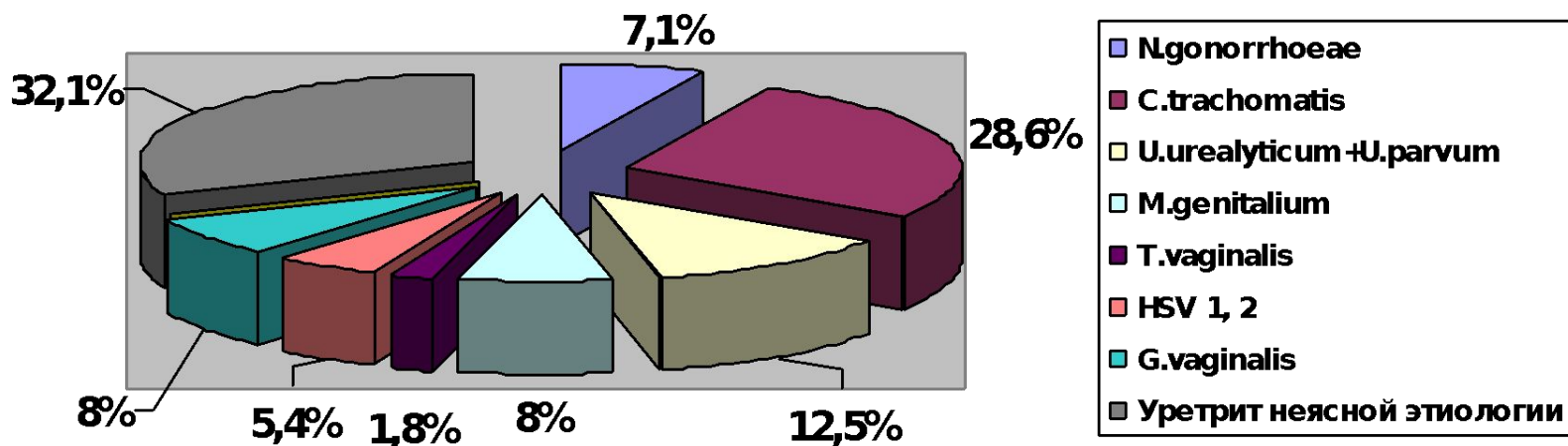
При этом, чувствительность рутинных методов ниже, чем ПЦР, в результате чего в большинстве случаев этиология инфекции остается неустановленной.

Пример – пациенты с уретритом:

«не-ПЦР»



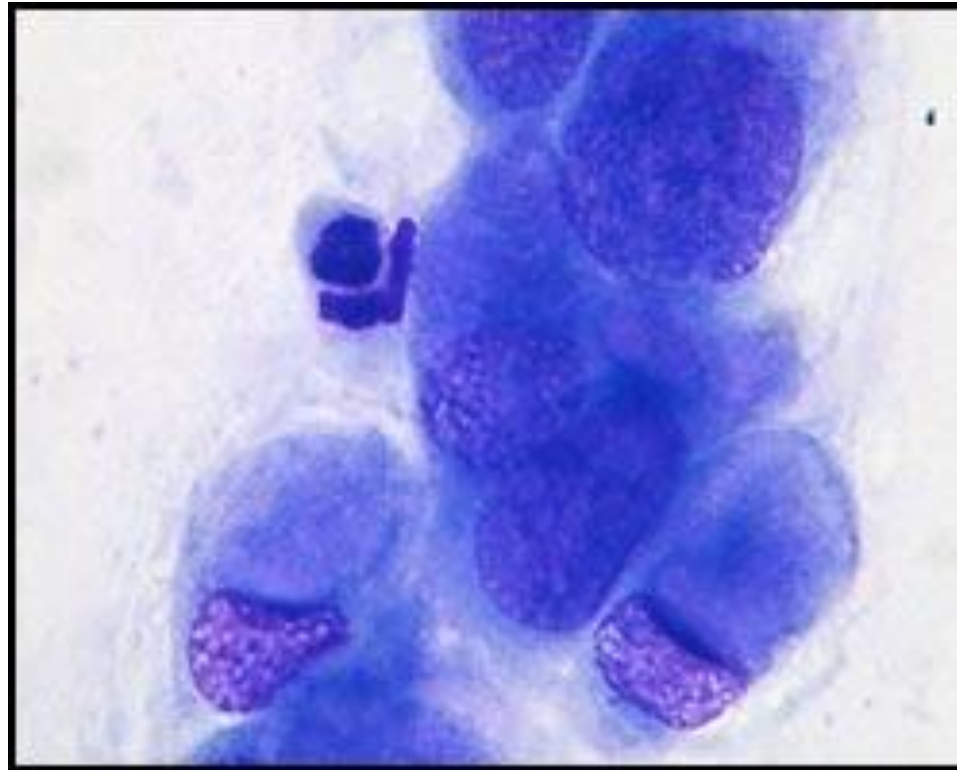
«ПЦР»



Ширшова Е.В., Кисина В.И., Гуцин А.Е., 2007

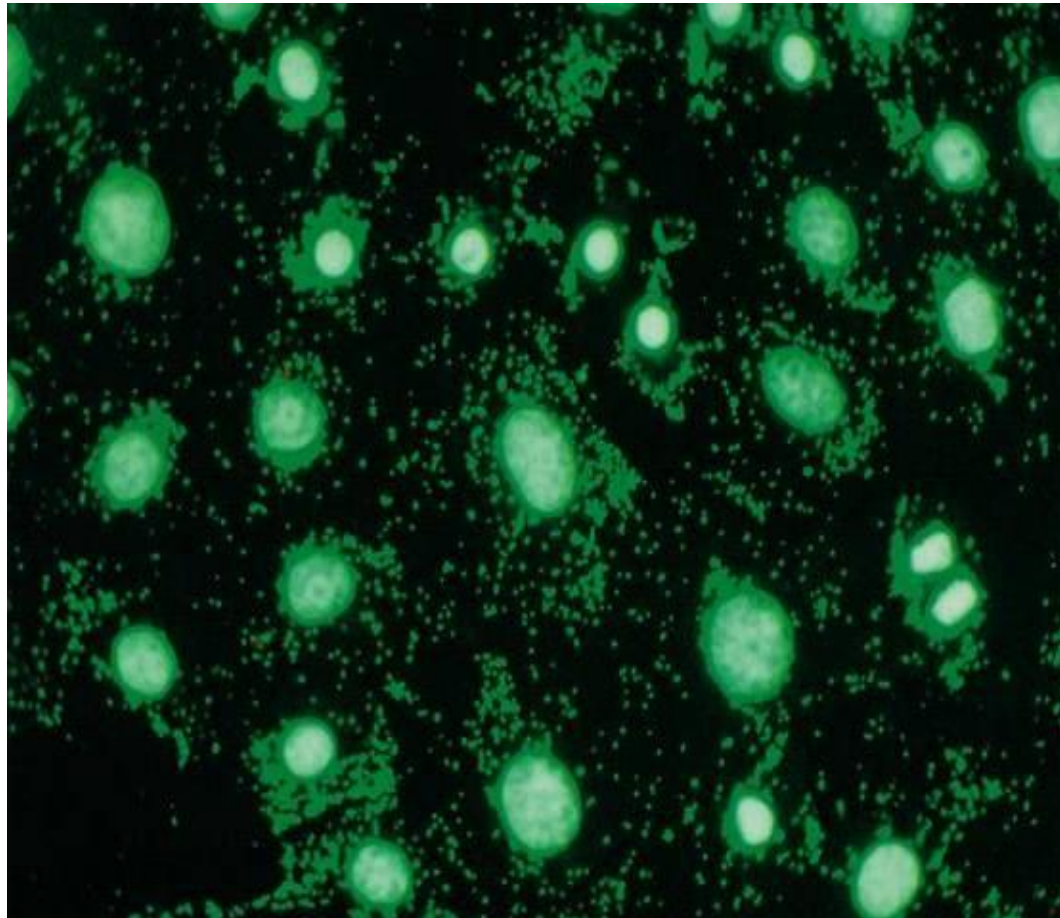
Клетки эпителия

пораженные *M. genitalium*



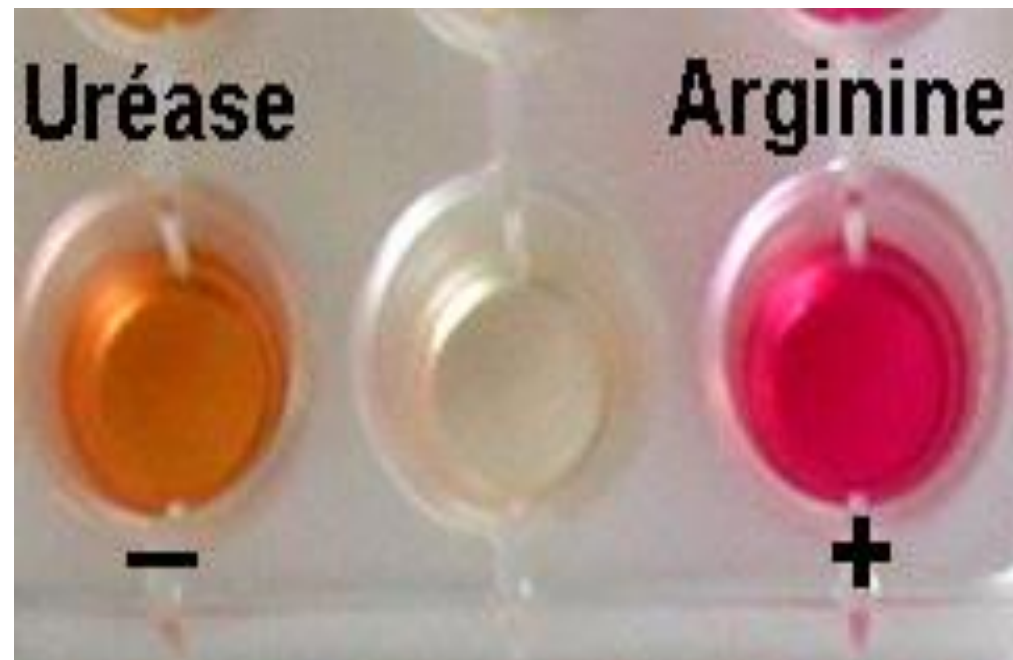
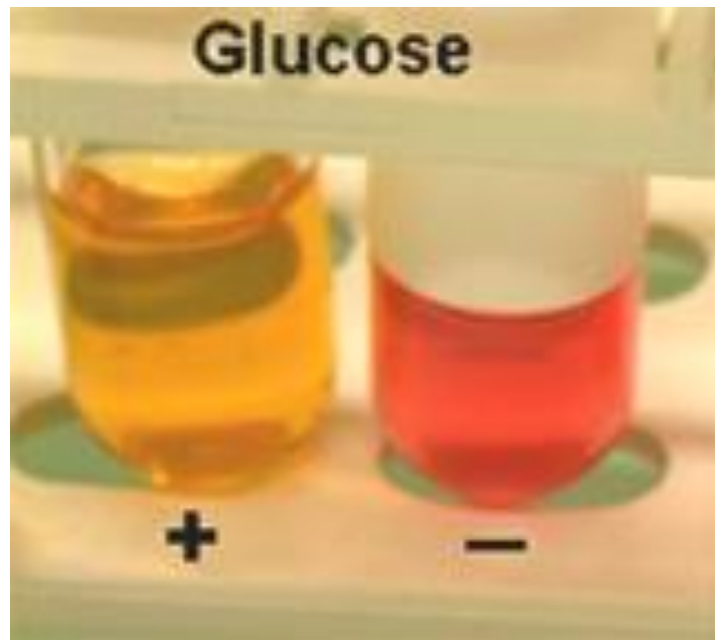
# Метод РИФ для определения микоплазм

---





# Тест-система для выявления микоплазм



# Микоплазма-Уреаплазма Агар



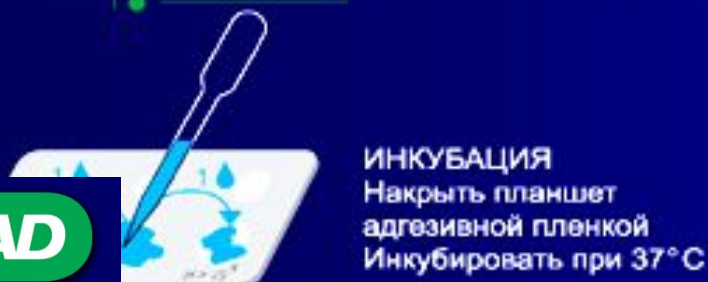
# МИКОПЛАЗМА ДУО (1)

Культуральный рост  
Идентификация  
Количественное определение  
урогенитальных микоплазм



# МИКОПЛАЗМА ДУО (2)

## Посев



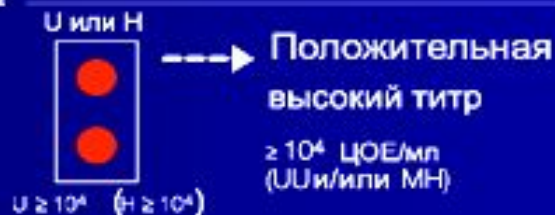
## Чтение и интерпретация

U или H

*Ureaplasma urealyticum* : DUO U  
*Mycoplasma hominis* : DUO H

● Положительная  
● Отрицательная

24 часа

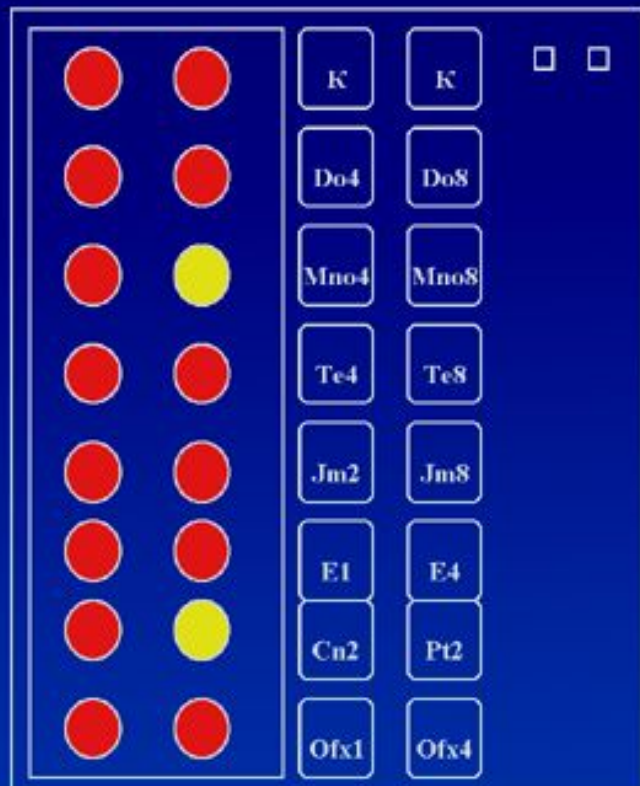


48 часов



**BIO-RAD**

# Антибиотики, ингибирующие рост микоплазм в тесте Mycoplasma SIR



Группы антибиотиков	Название препарата	Кол-во (мг\л)
Тетрациклины	Доксициклин	2 и 8
	Тетрациклин	4 и 8
	Миноциклин	4 и 8
Макролиды	Эритромицин	1 и 4
	Джосамицин (вильпрафен)	2 и 8
Фторхинолоны	Офлоксацин (таривид)	1 и 4
Линкозамины	Клиндамицин (далацин)	2

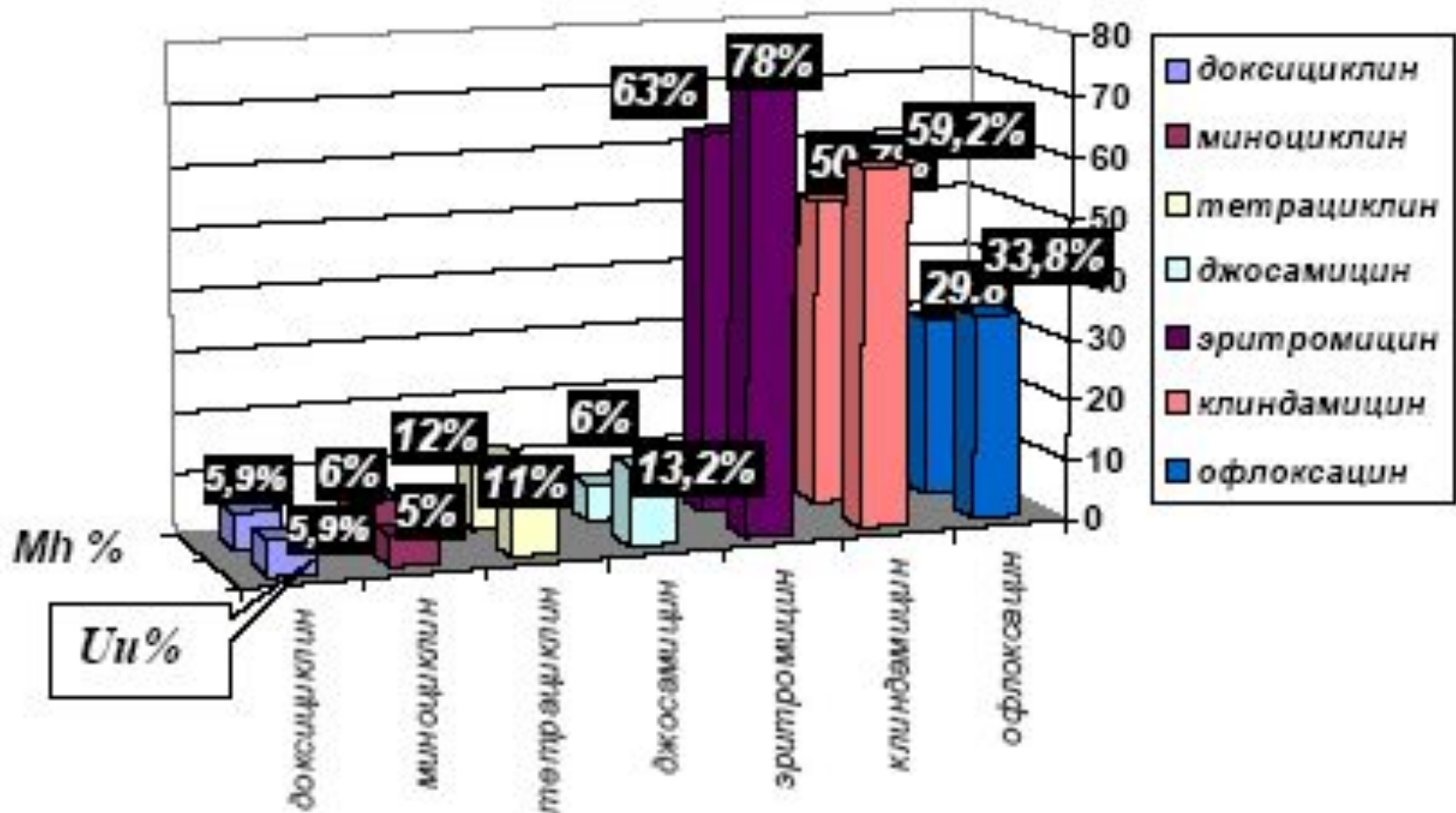


# Пример тест-системы на определение микоплазменной и уреаплазменной инфекций





# Резистентность(%) *Mh* и *Uu*



# Сравнение резистентности *Uu* к антибиотикам при микстинфекции

## *Mh-Uu* и моноинфекции *Uu*

