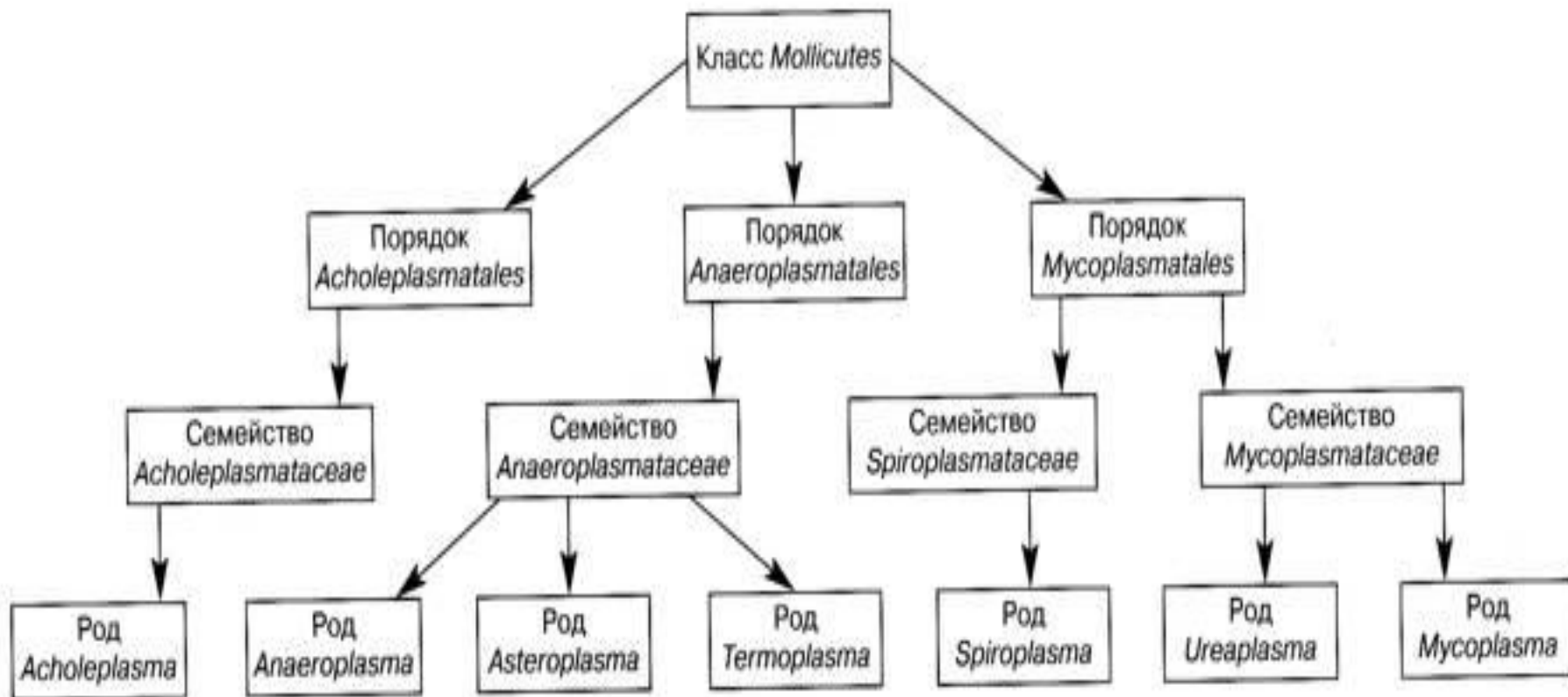


МИКОПЛАЗМЫ И УРЕАПЛАЗМЫ



Таксономическая схема



Микоплазмы
человека

Респираторный тракт

Урогенитальный тракт

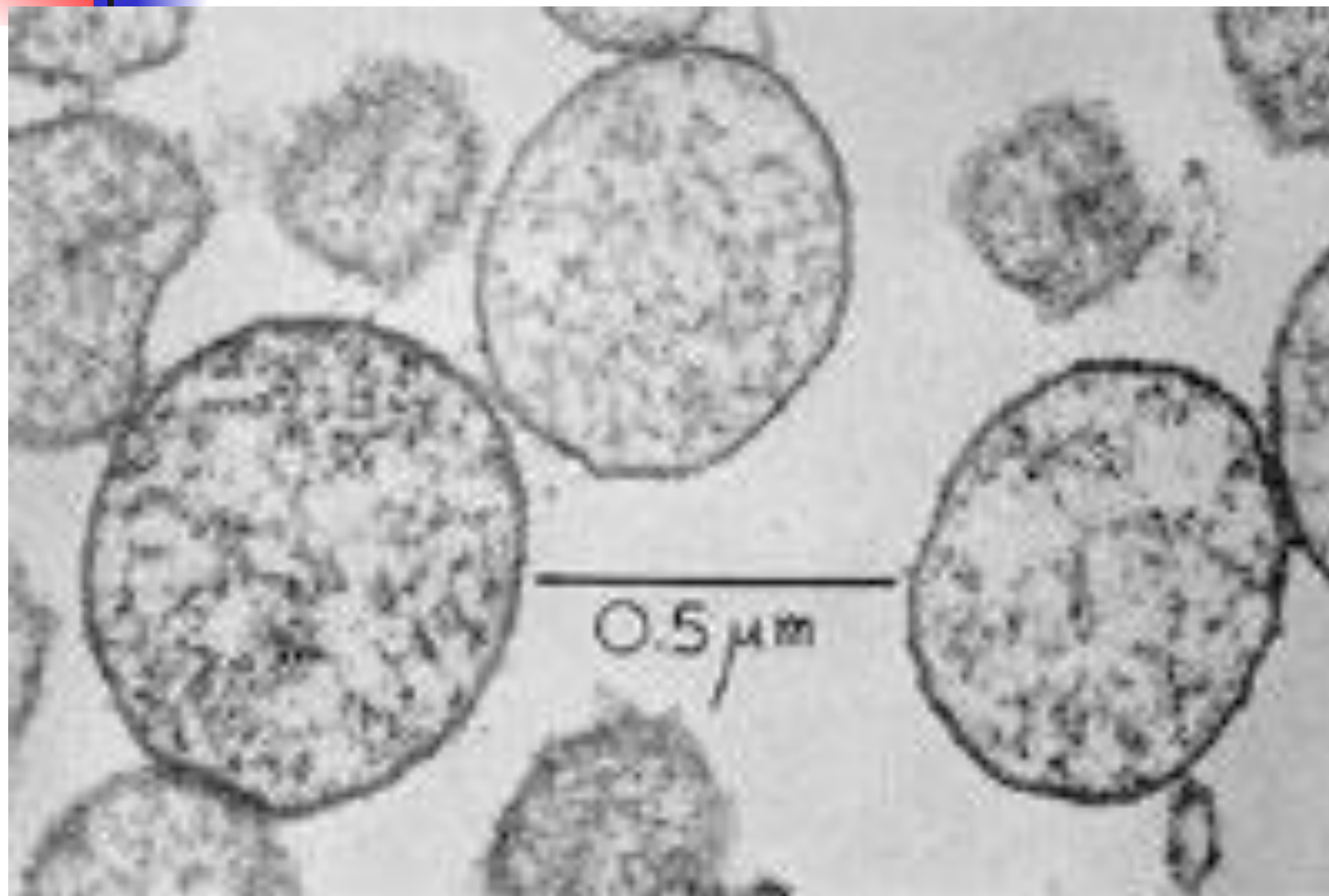
Другие органы человека

M. pneumoniae
M. orale

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

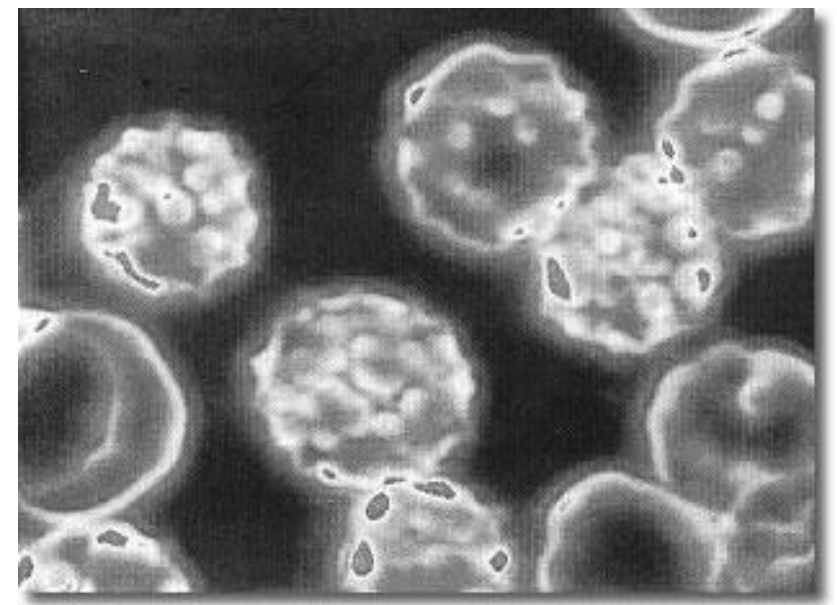
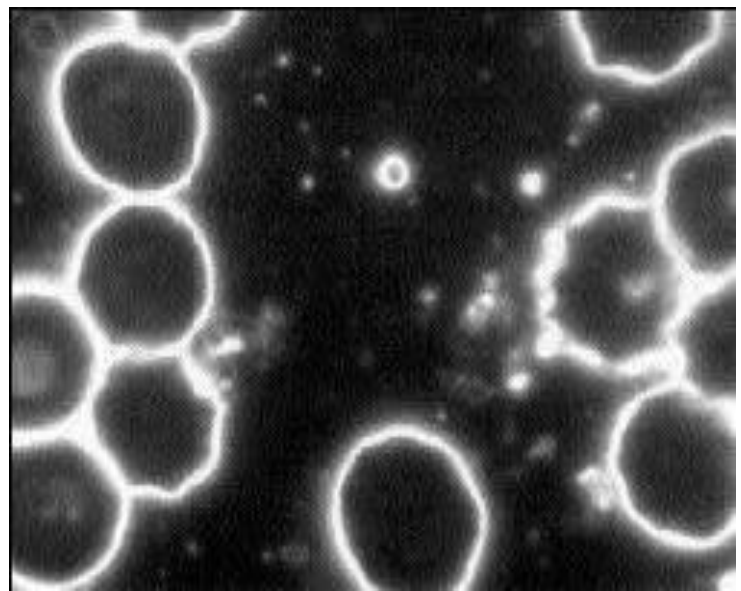
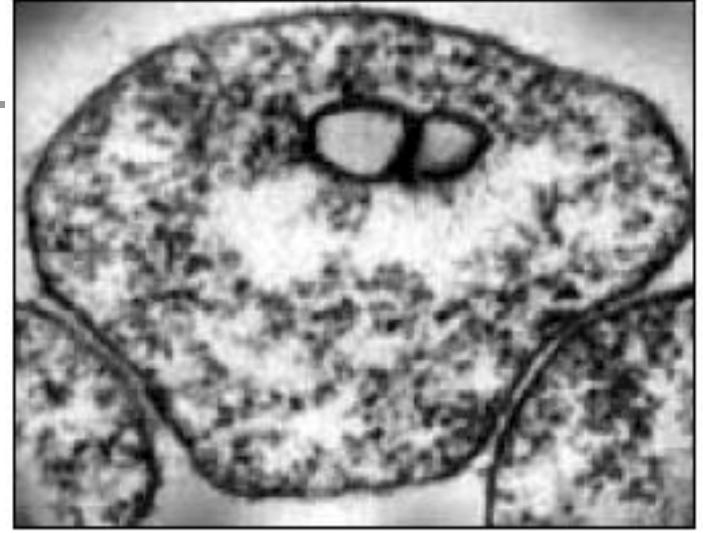
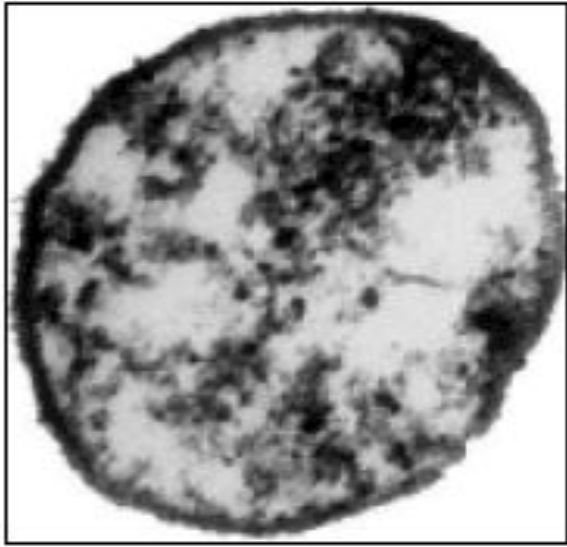
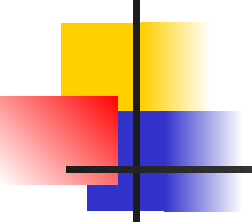
M. penetrans
M. faucium
M. lipophilium
M. artritidis
M. buccale
M. salivarium

Морфология *Mycoplasma* sp.

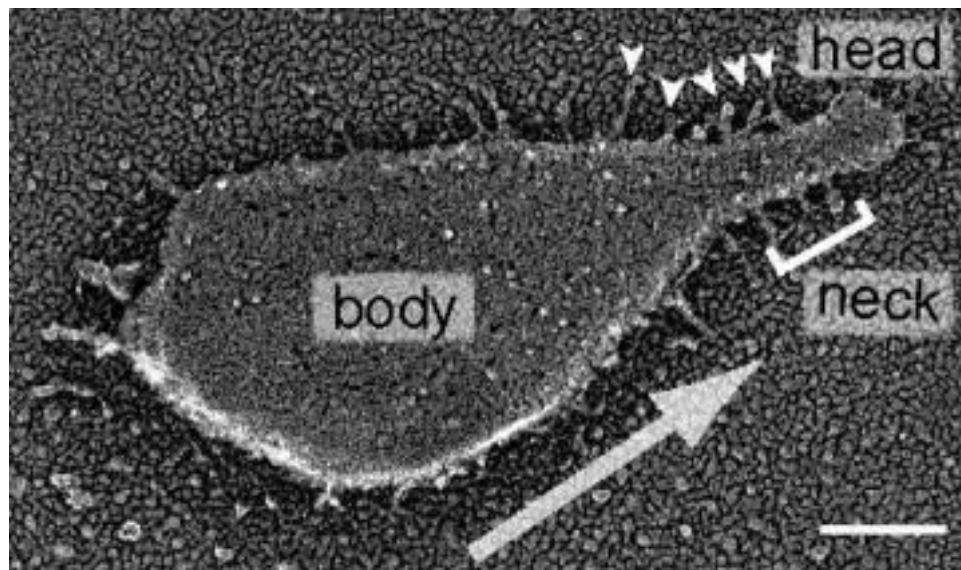
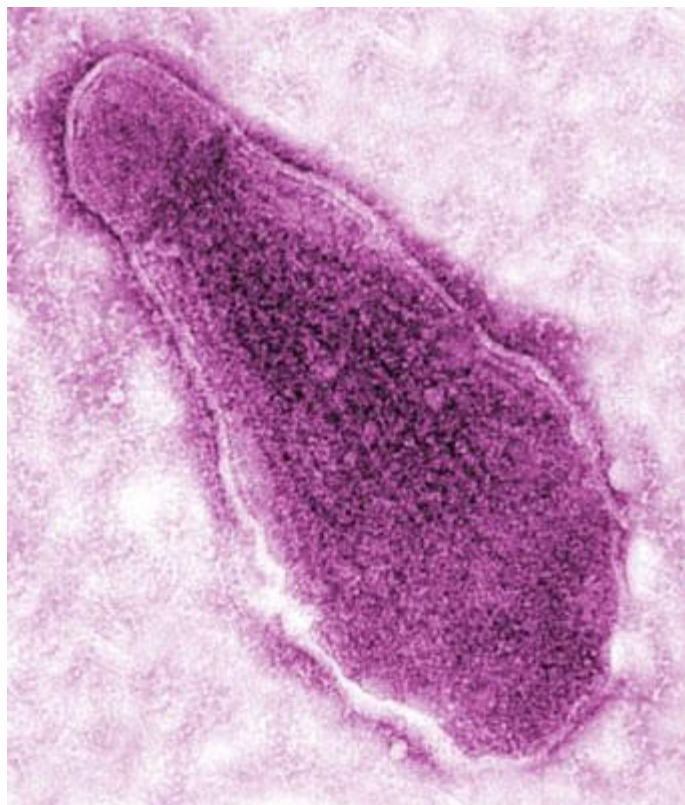


0,15-0,7 мкм

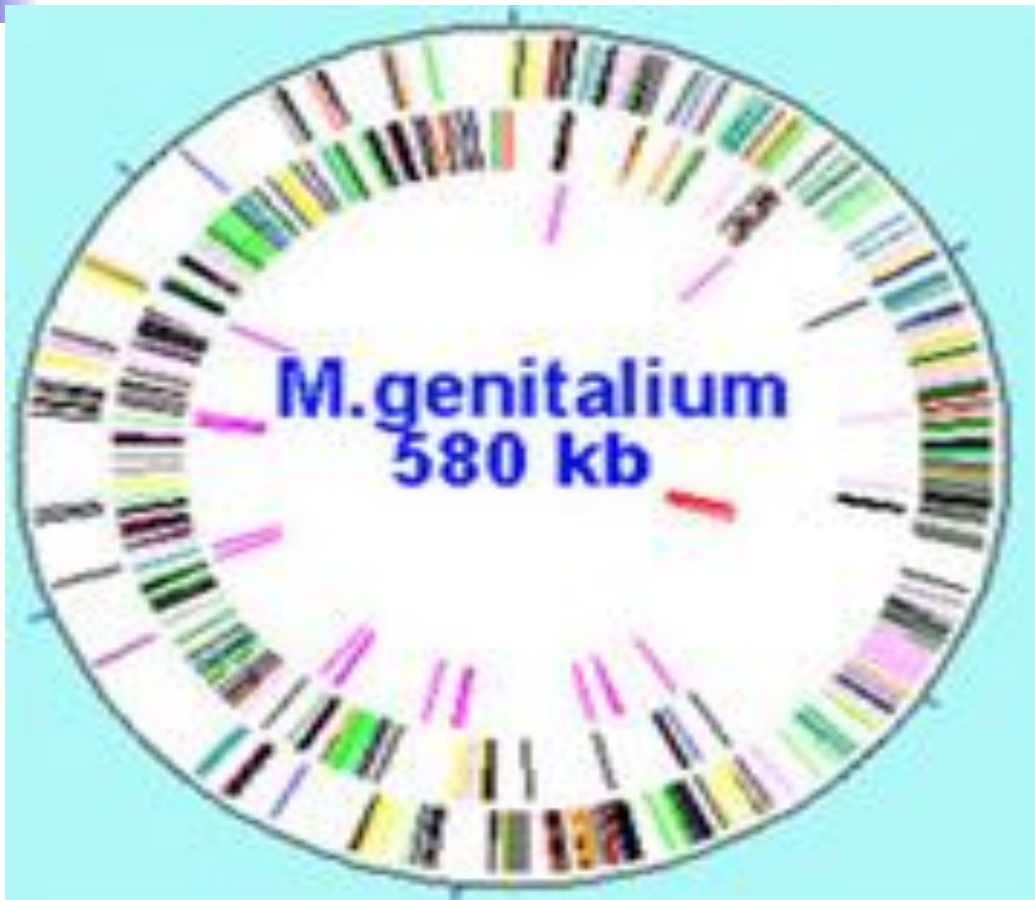
Морфология *Mycoplasma sp.*



Морфология клеток *M.mobile*

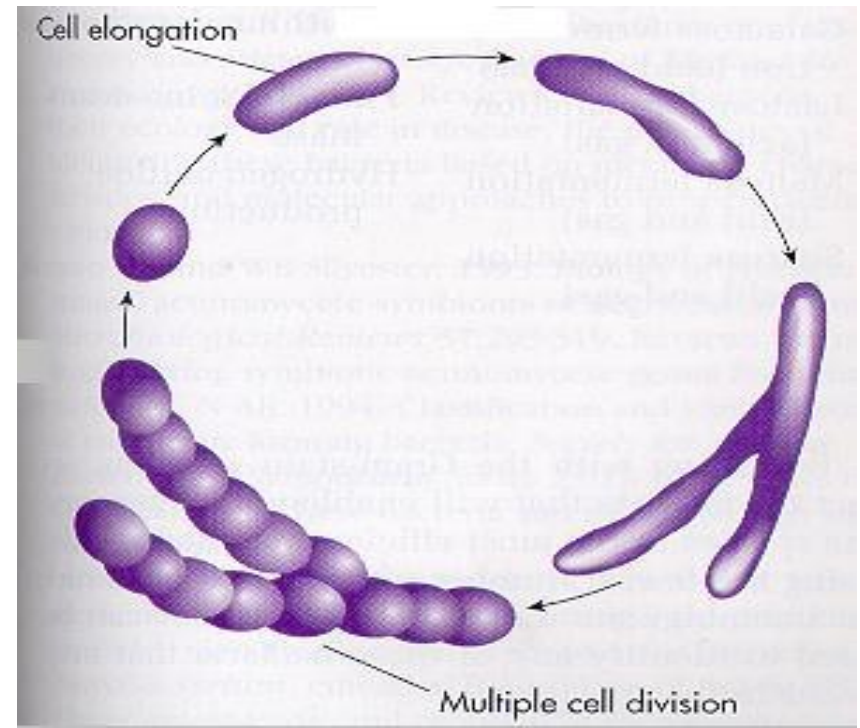
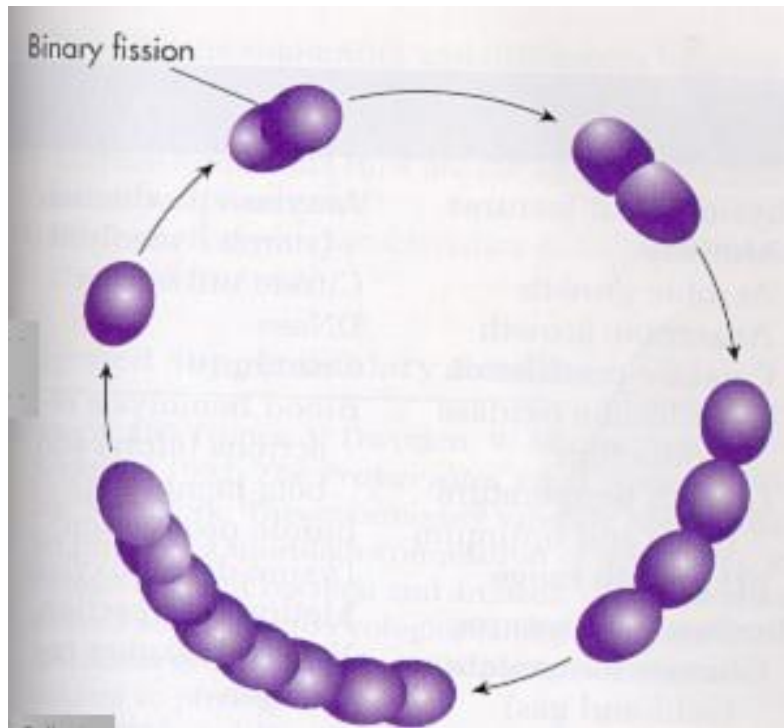


Геном *M. genitalium*



**500-1000 миллион
пар оснований**

Морфоварианты клеток МИКОПЛАЗМ



Полиморфизм клеток *Mycoplasma sp.*

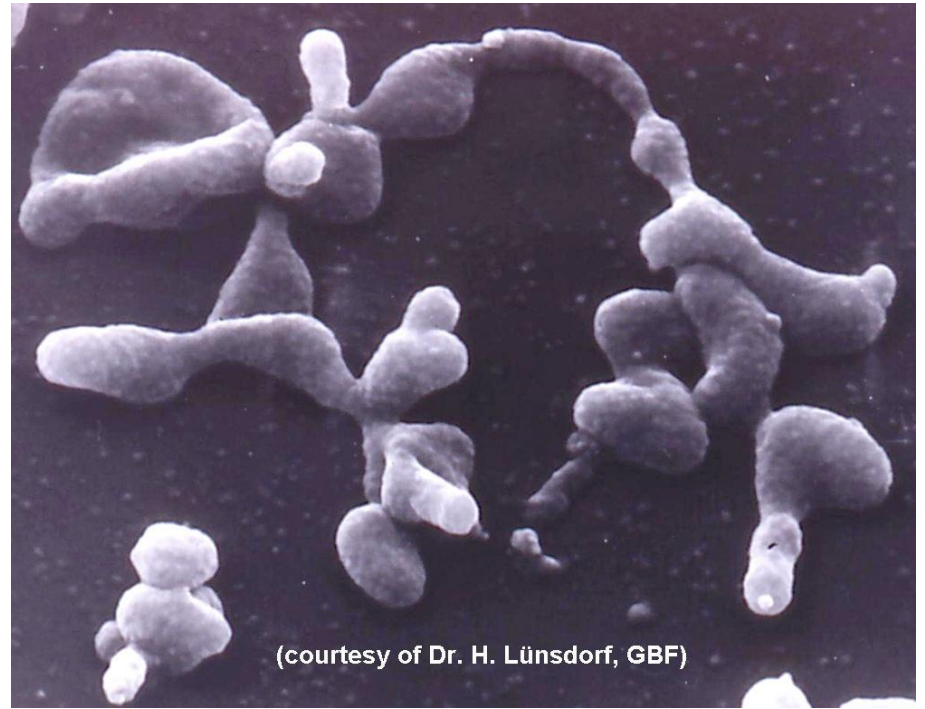
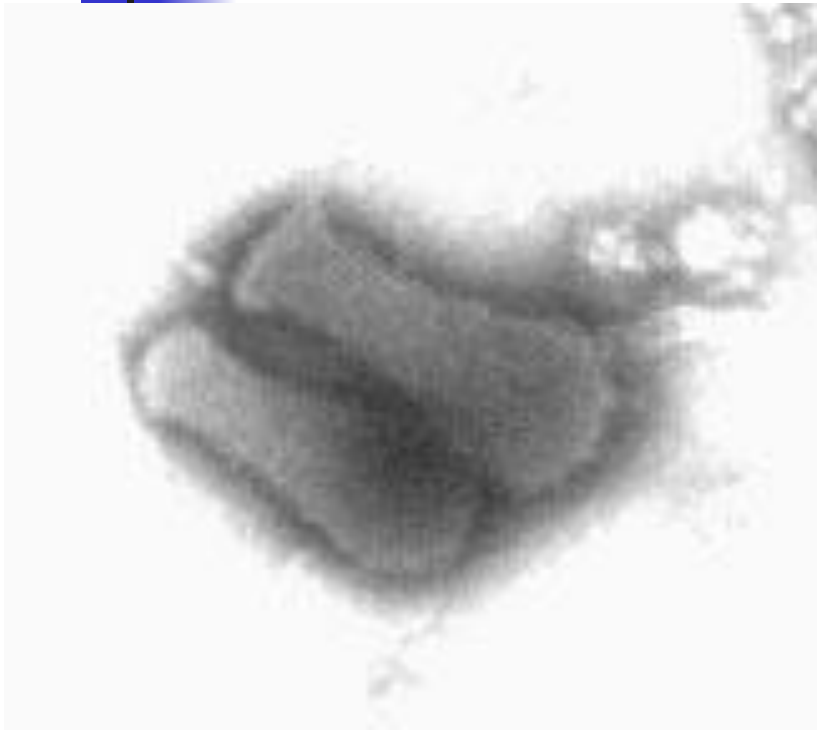
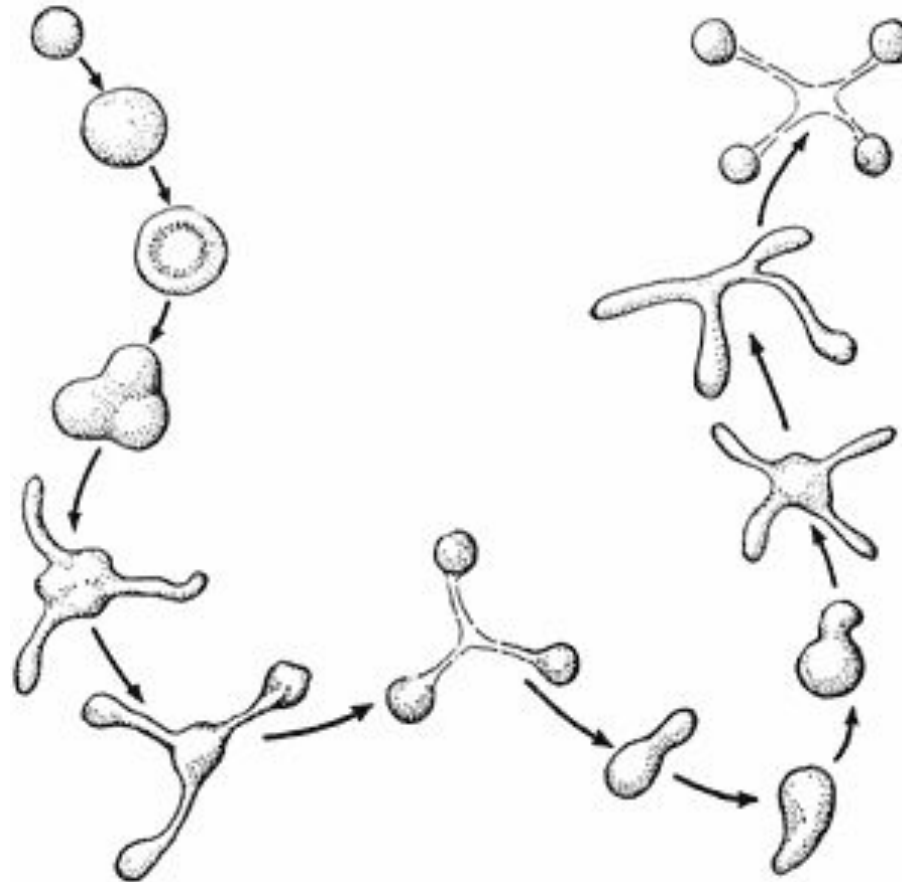
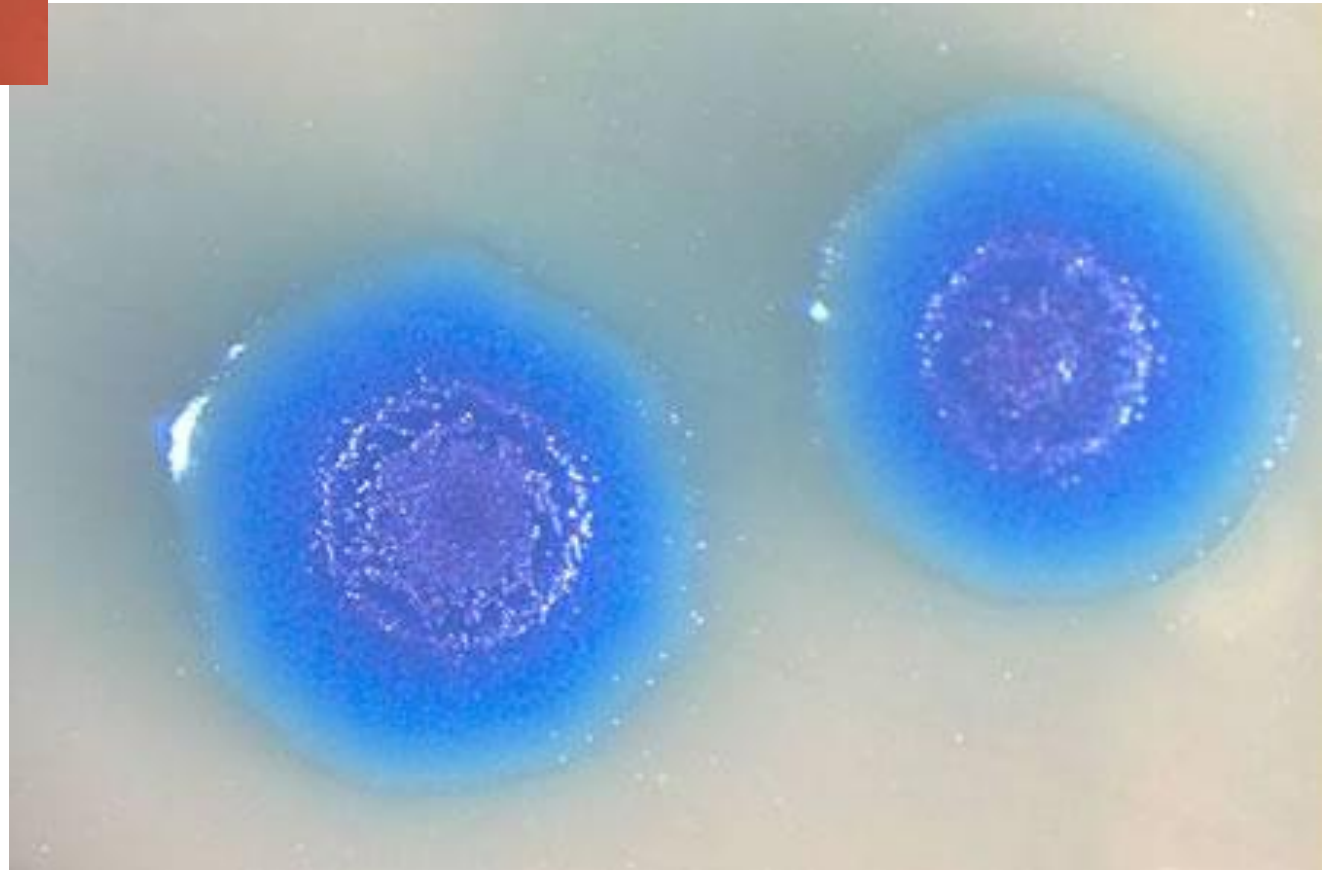
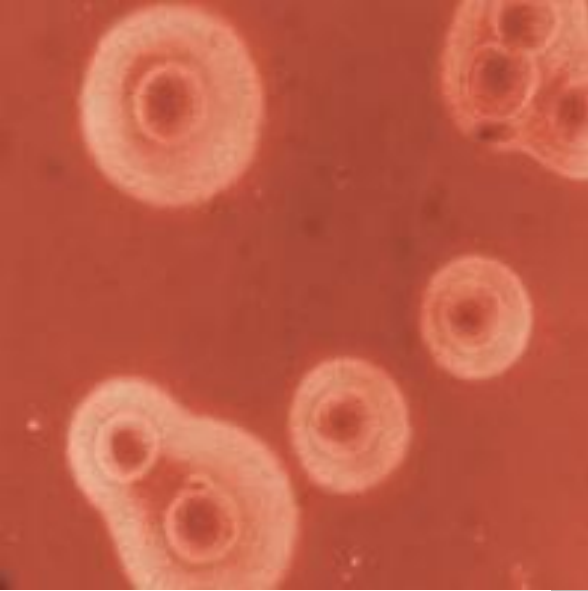


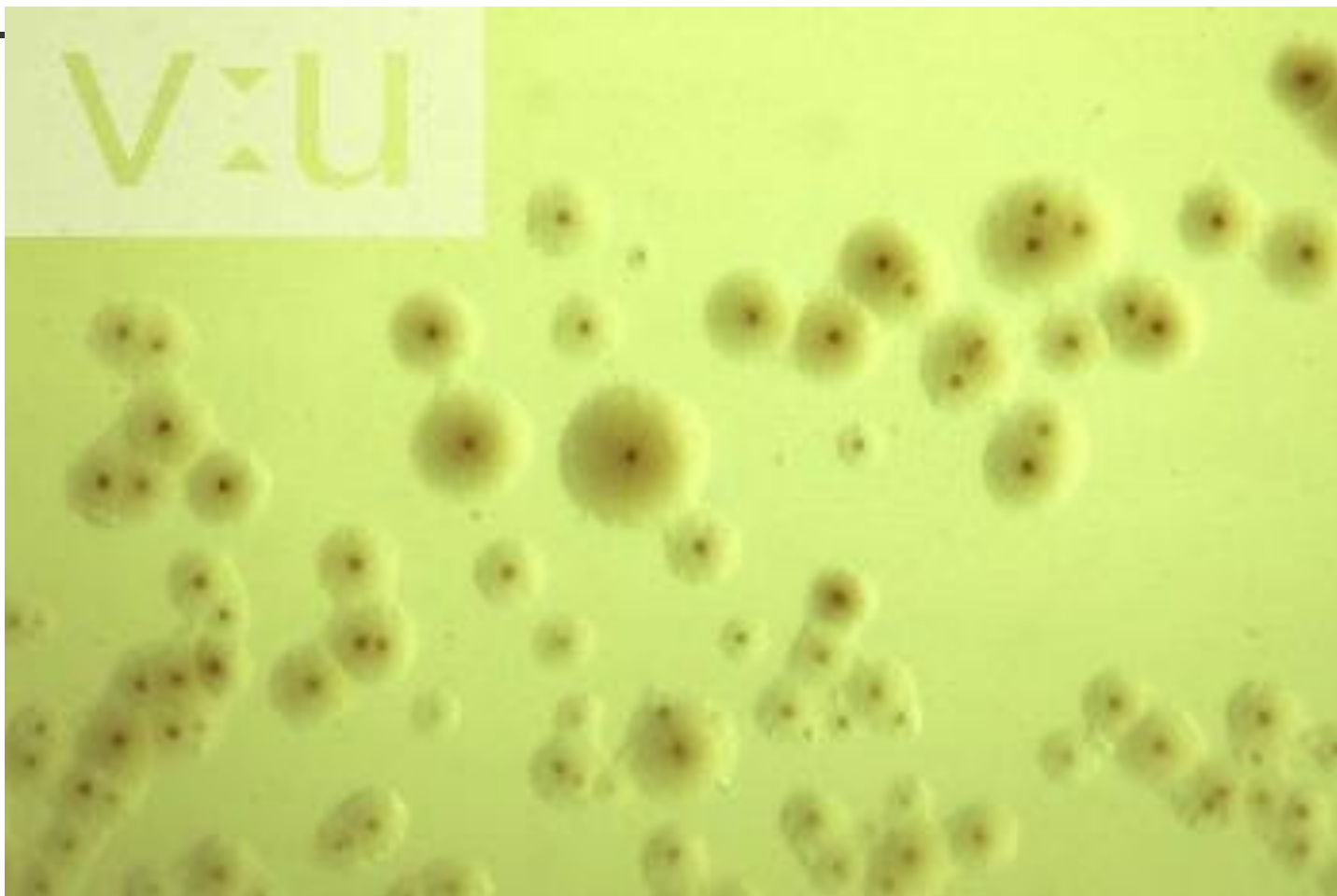
Схема деления микоплазм в жидкой среде



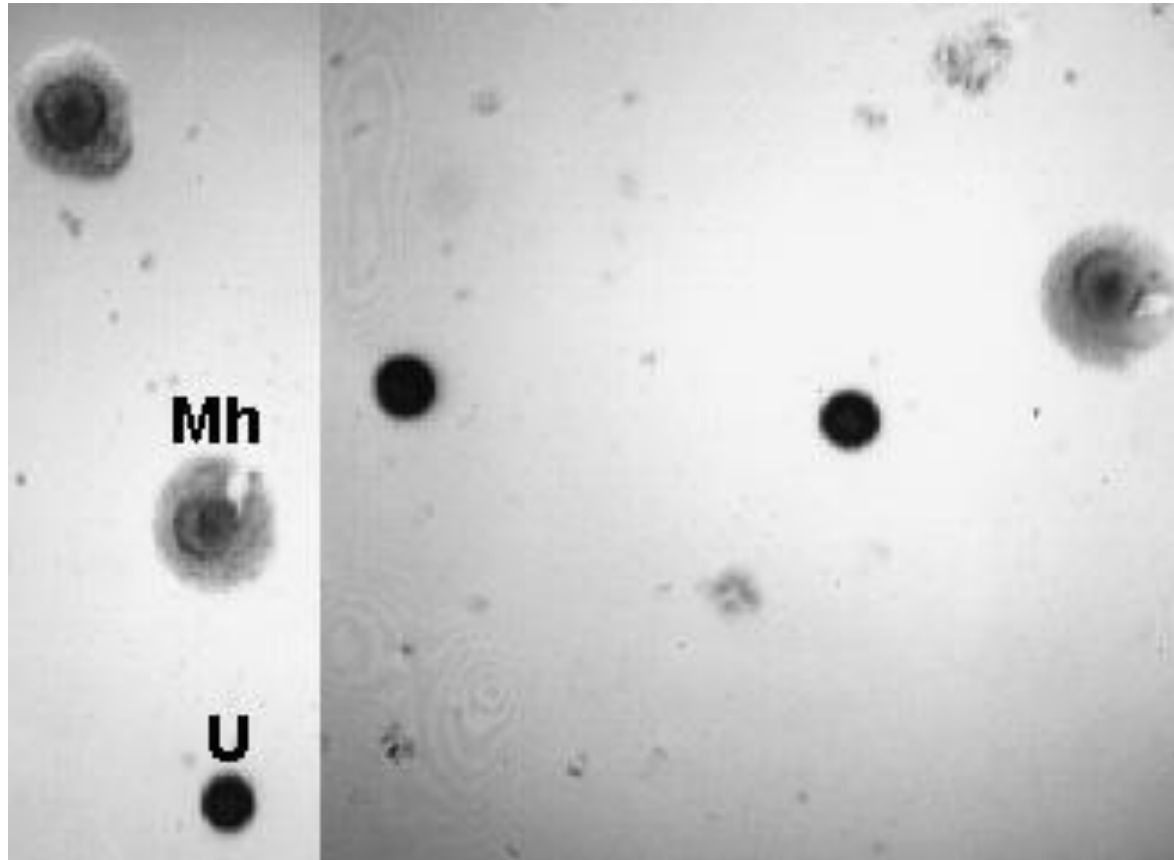
Морфология колоний *Mycoplasma sp.*



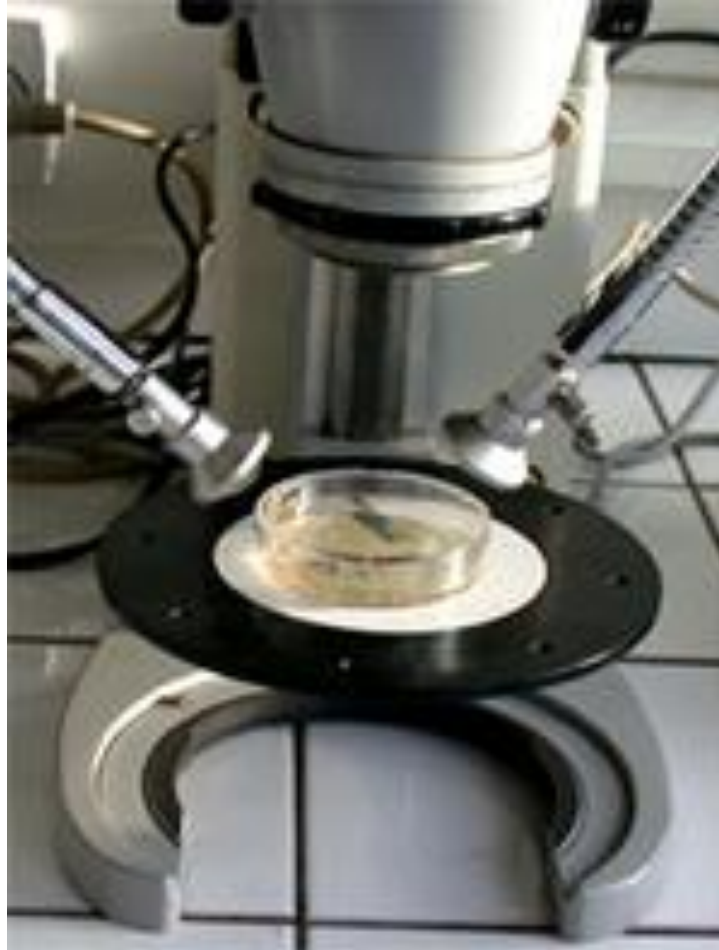
Рост на плотной среде



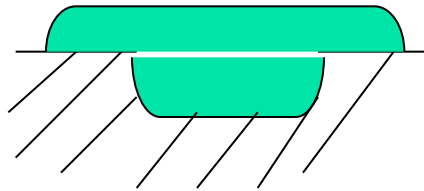
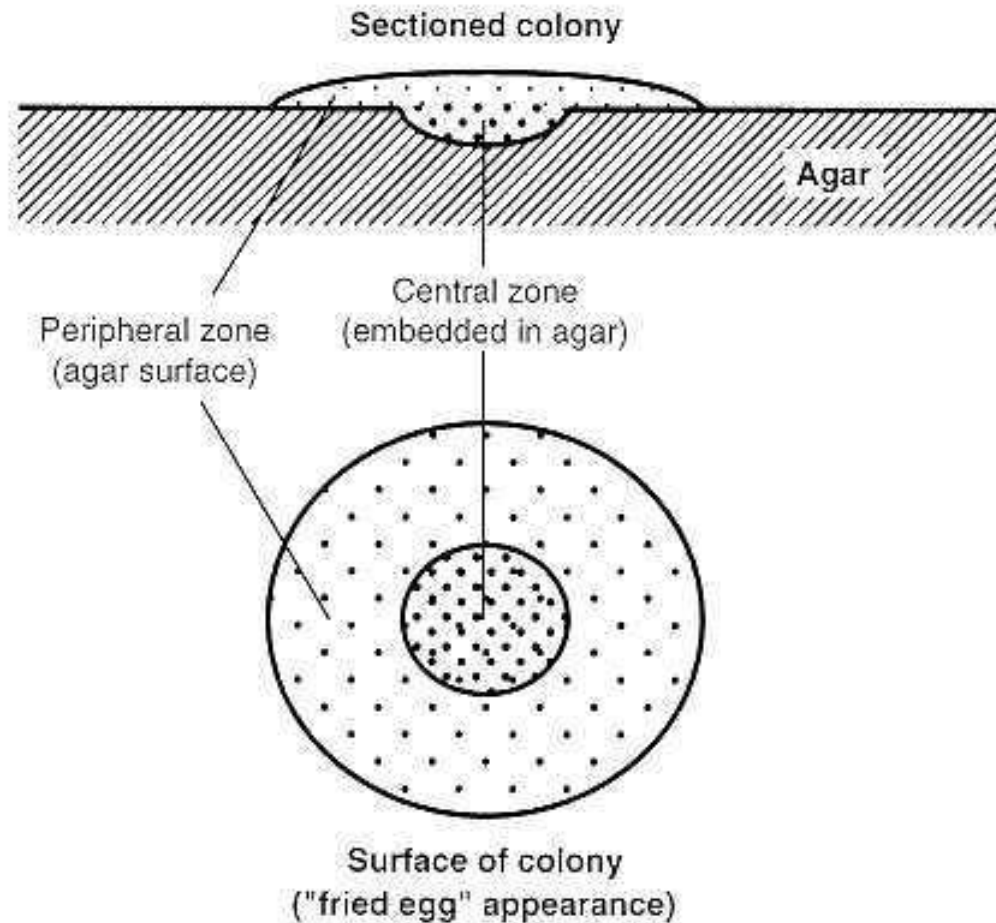
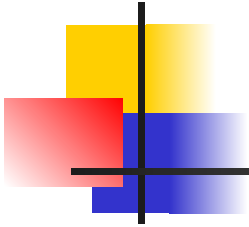
Морфология колоний микоплазм и уреоплазм



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

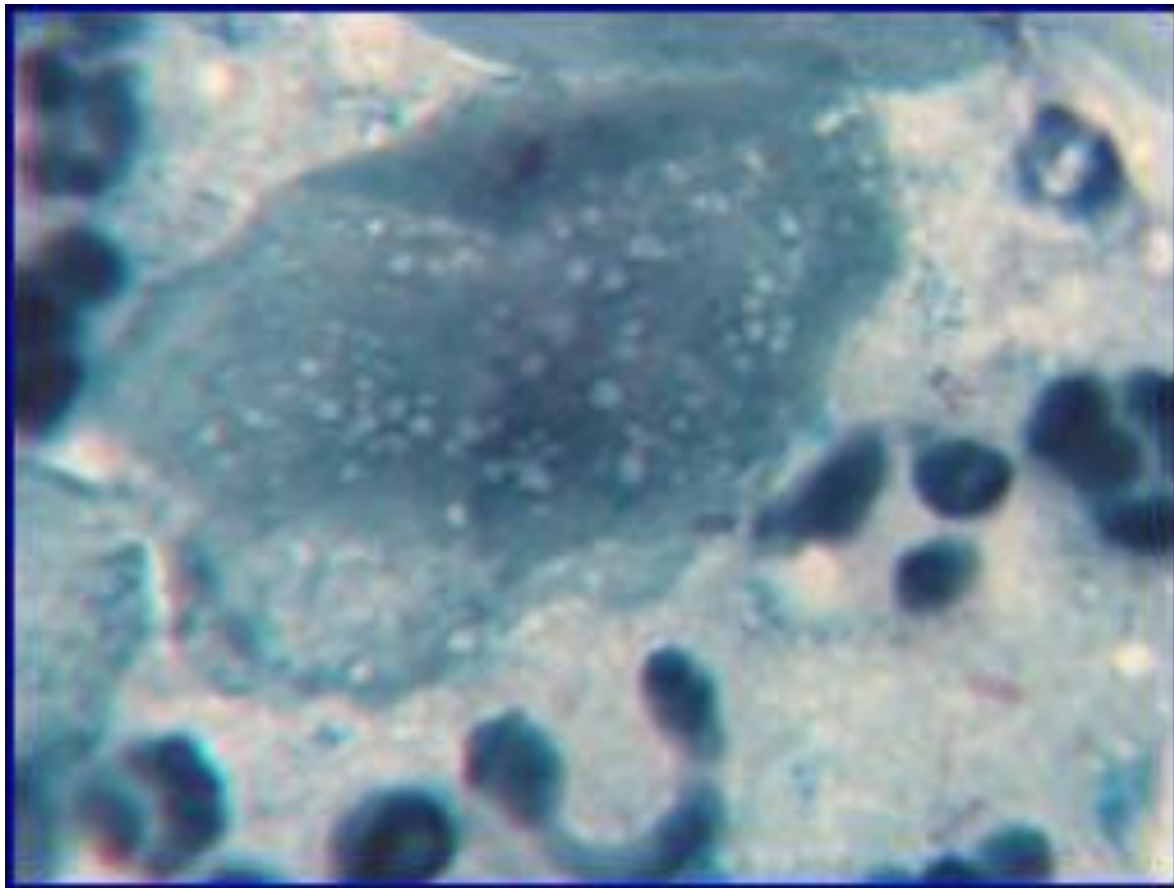
- Различают 16 сероваров,
 - группы А и В
- АГ-детерминанты: полипептиды мембраны
- Типировать невозможно - многие серовары реагируют перекрестно,
- **У одного пациента - несколько сероваров**



Факторы патогенности

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

Клетка инфицированная *Mycoplasma* sp. - ЦПД



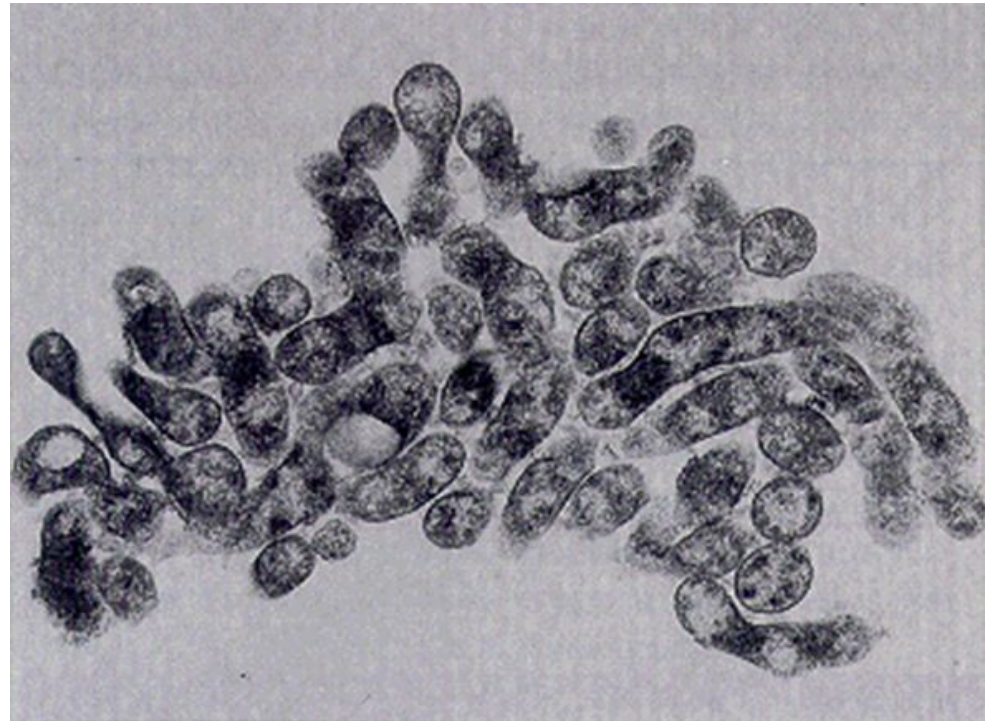
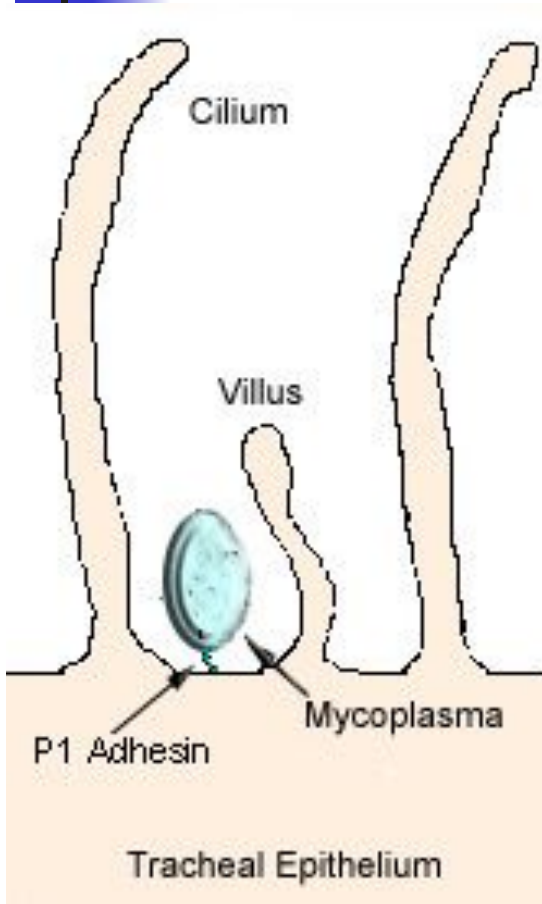
Процесс инфицирования микоплазмами эпителия



Процесс инфицирования эпителия *Mycoplasma* sp.



Патогенез пневмонии, вызванной *Mycoplasma pneumoniae*



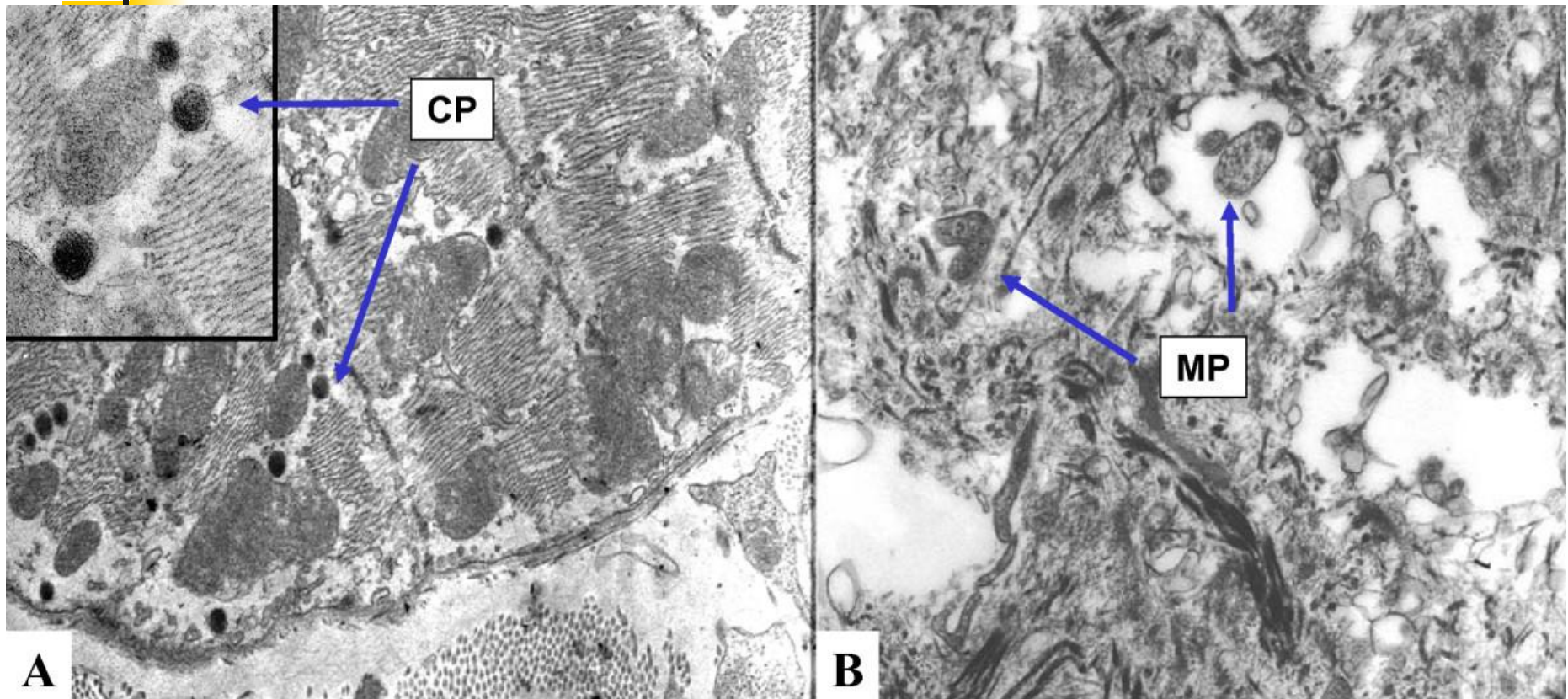
Микроколония *M. pneumoniae*

Mycoplasma pneumoniae (M)



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

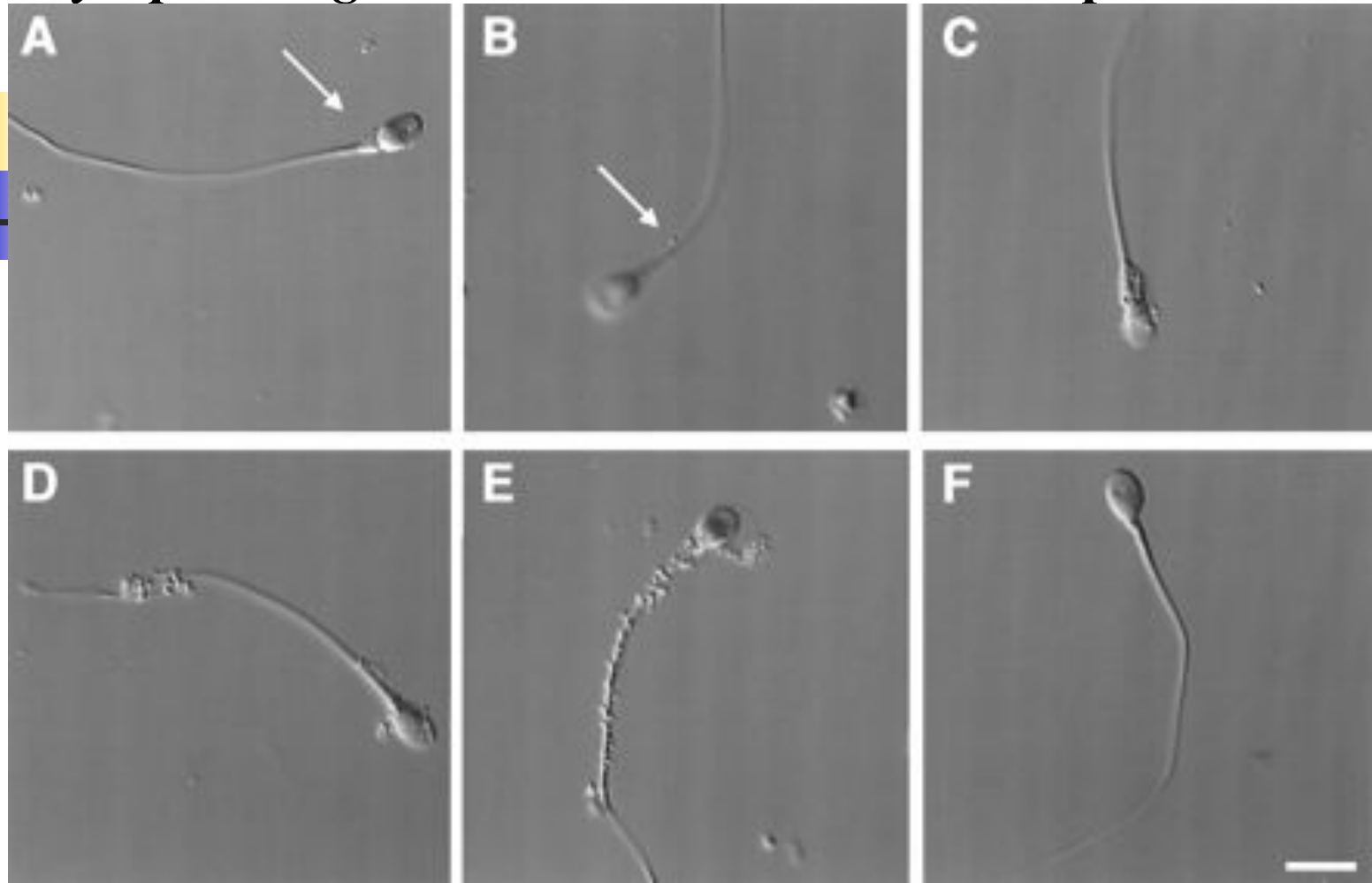
Mycoplasma pneumoniae (MP) and *Chlamydia pneumoniae* (CP) bodies



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 μm .

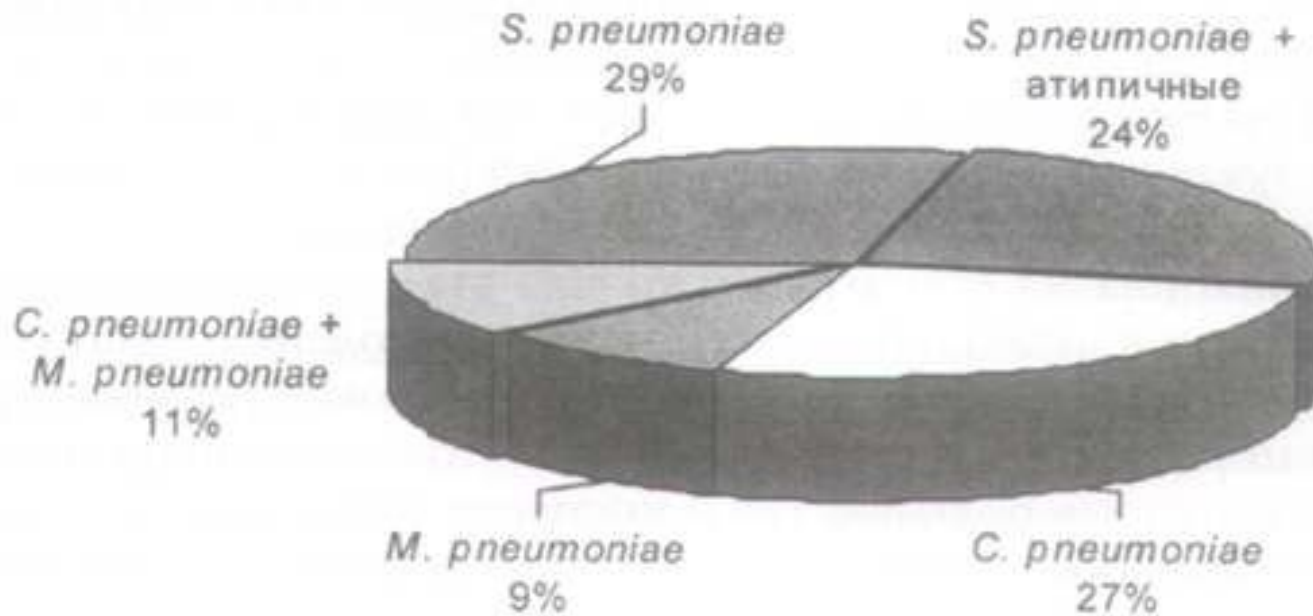
Human Spermatozoa Vacuolated Morphology



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 ± 0.20 microm, length 4.75 ± 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

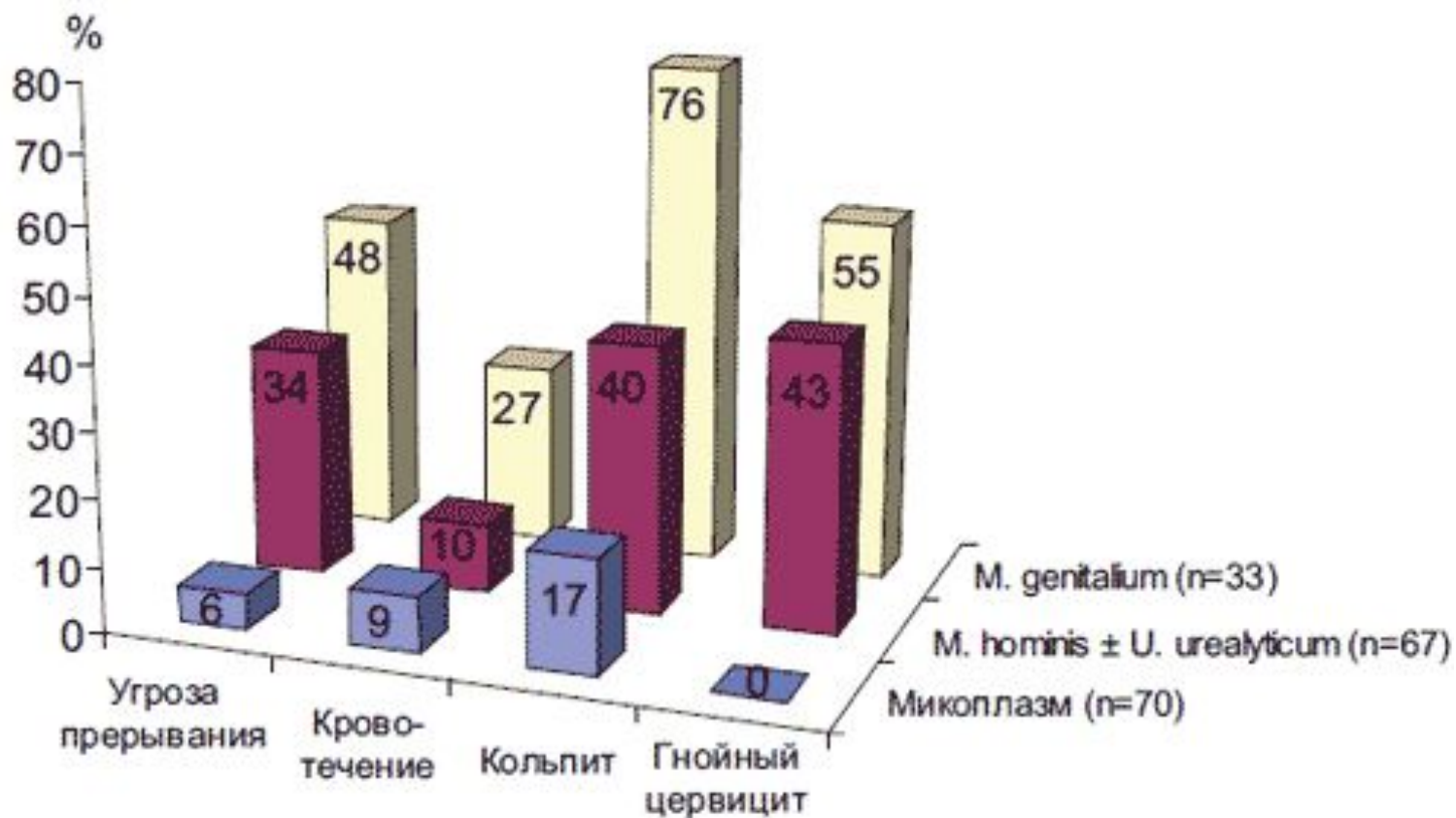


Mycoplasma pneumoniae Infections
Red Book.; 2006: 468-470.

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. M.genitalium не культивируется

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 ₂	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

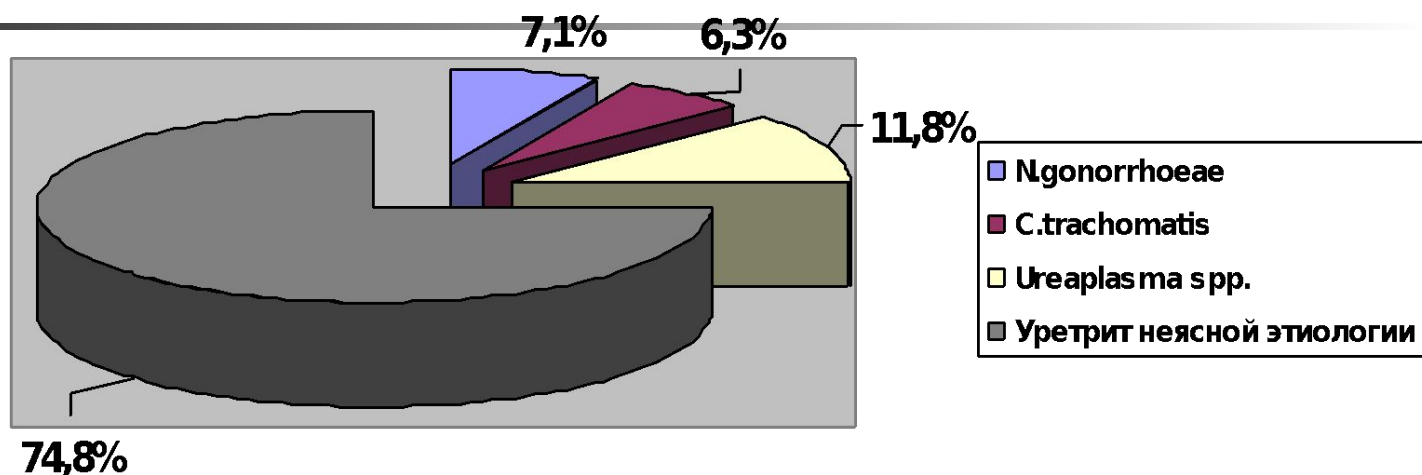
Методы лабораторного выявления возбудителей ИППП

- ***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 перпаратов, микробиол. посев;
- ***Mycoplasma genitalium*** - отсутствуют

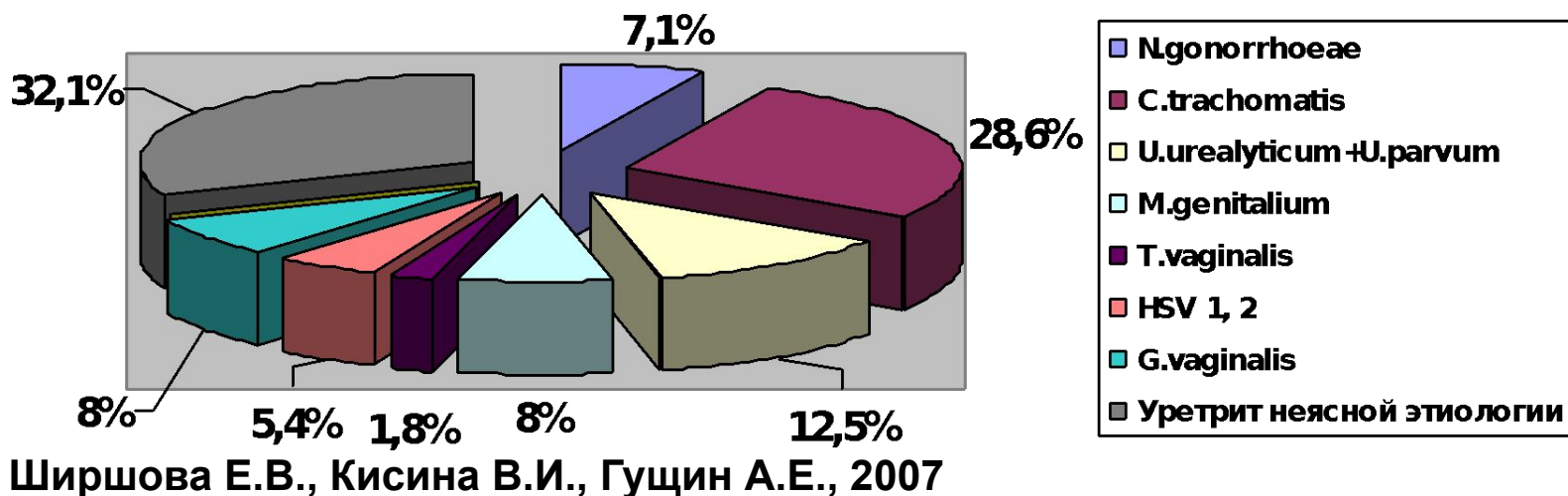
При этом, чувствительность рутинных методов ниже, чем ПЦР, в результате чего в большинстве случаев этиология инфекции остается неустановленной.

Пример – пациенты с уретритом:

«не-ПЦР»



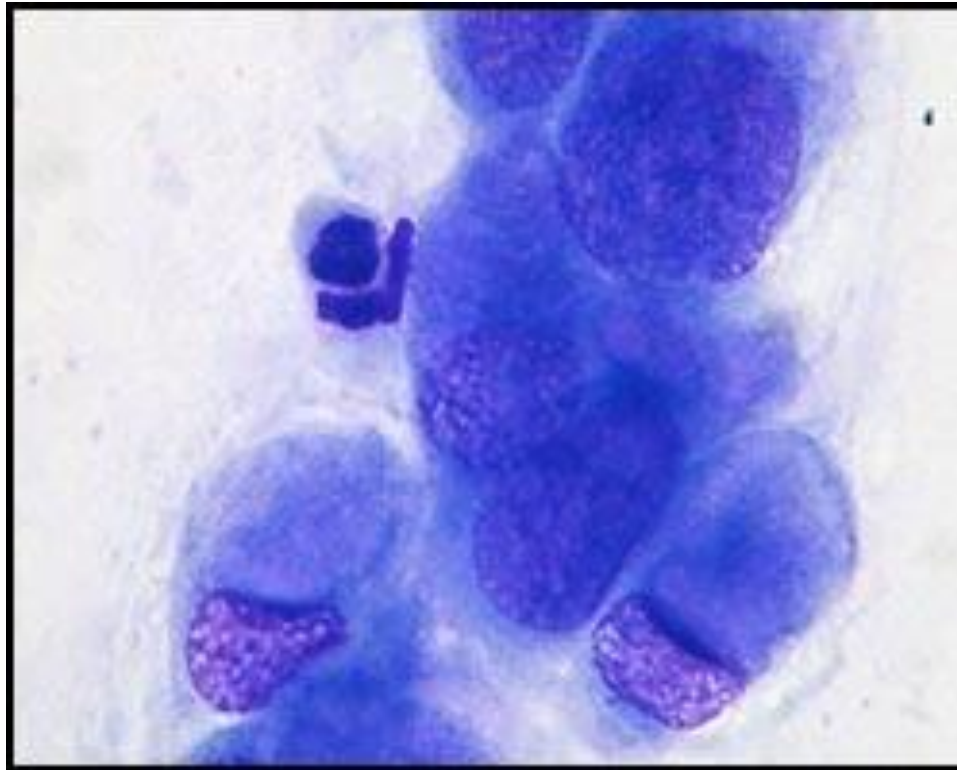
«ПЦР»



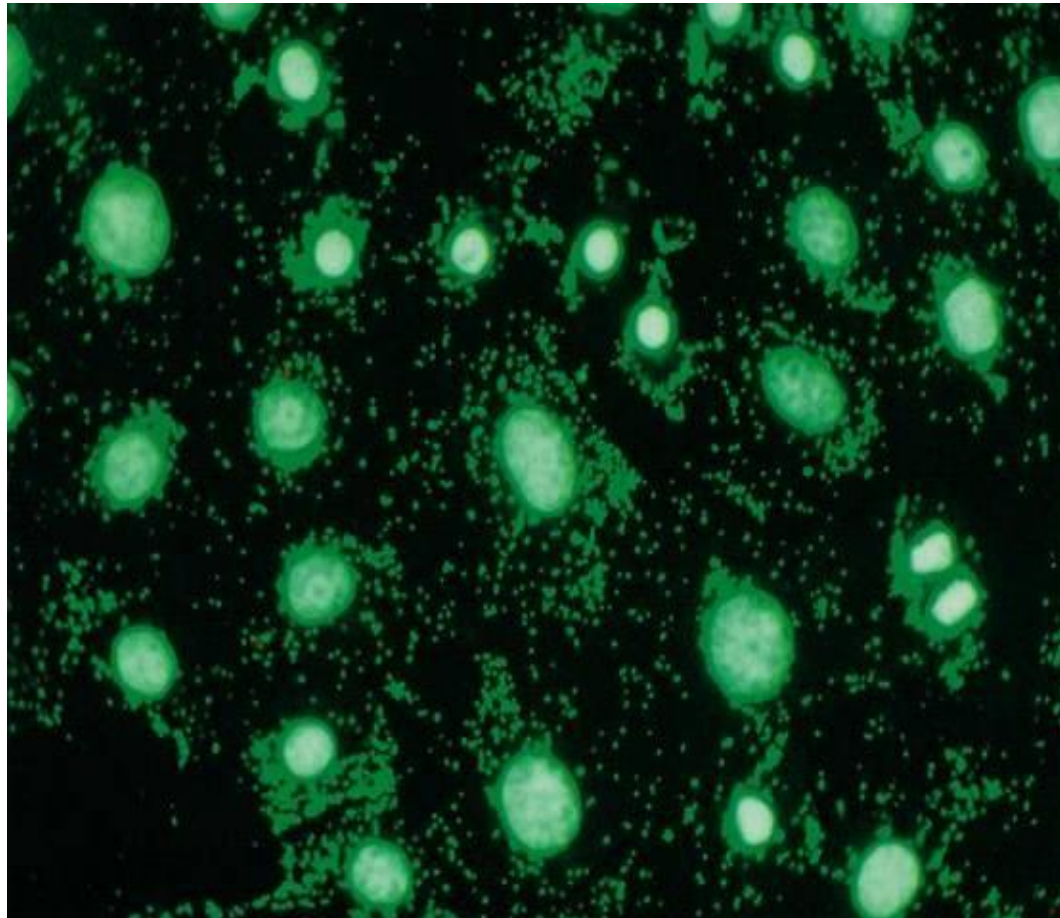
Ширшова Е.В., Кисина В.И., Гуцин А.Е., 2007

Клетки эпителия

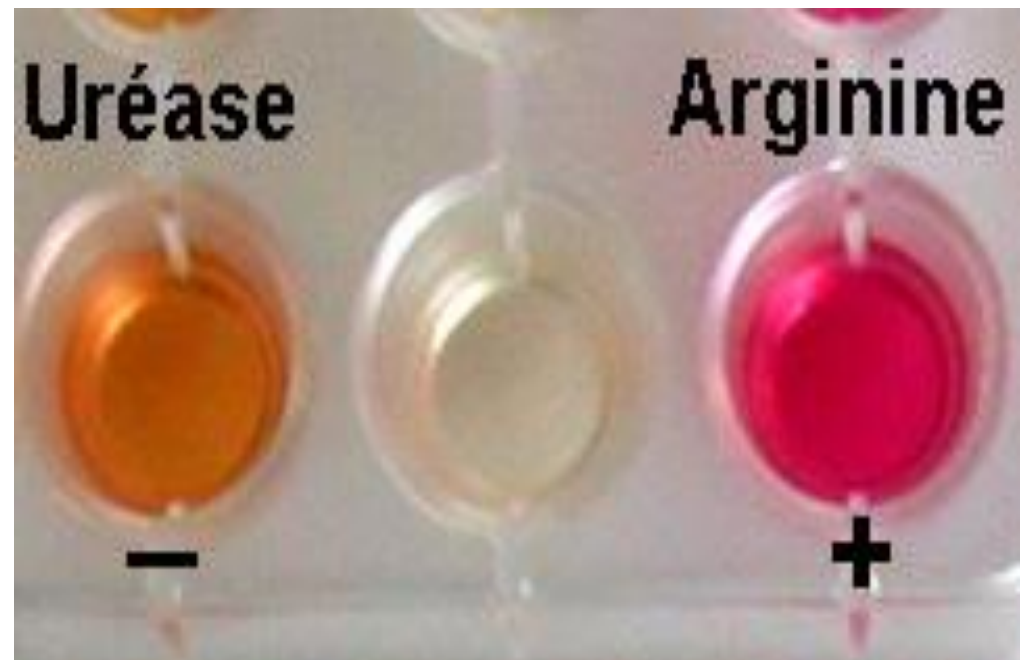
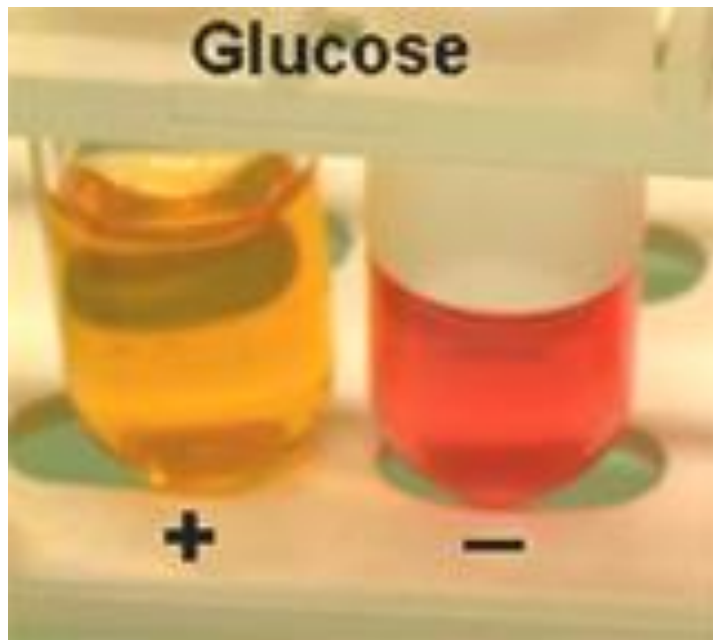
пораженные *M. genitalium*



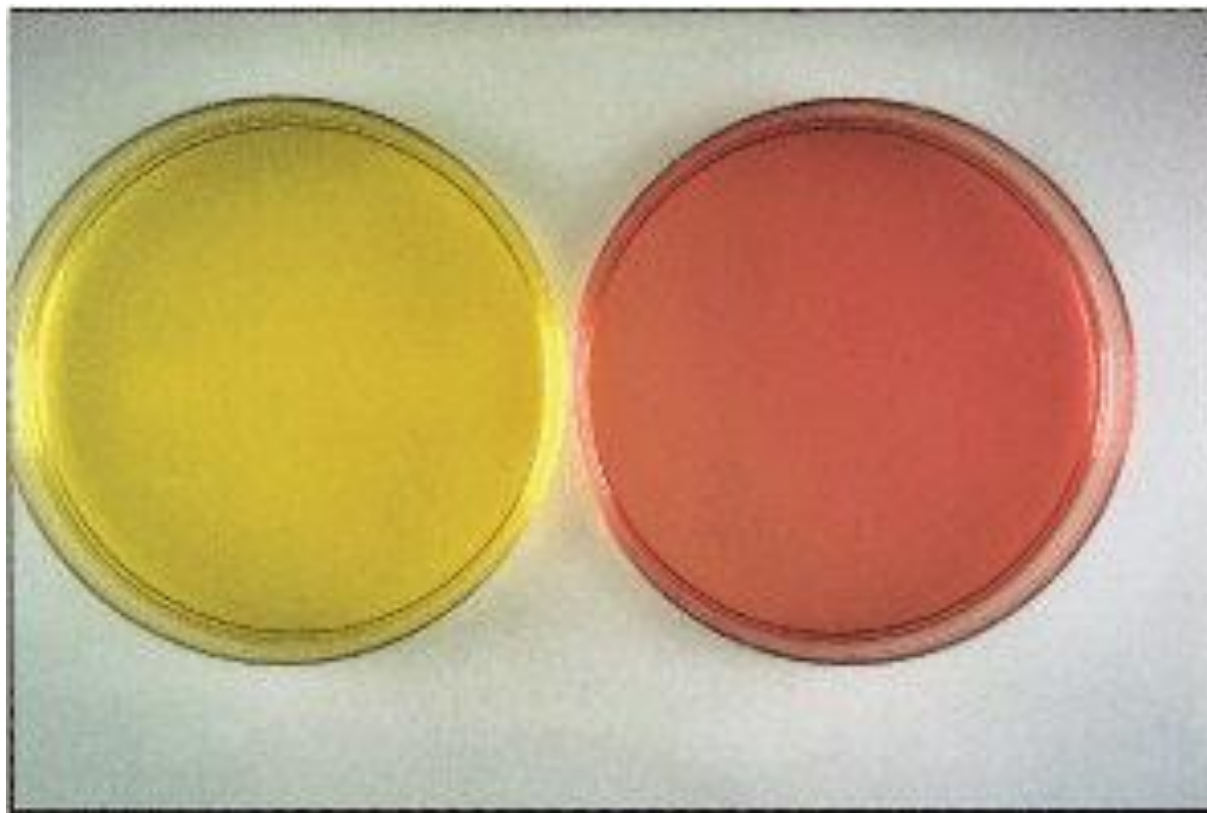
Метод РИФ для определения микоплазм



Тест-система для выявления МИКОПЛАЗМ



Микоплазма-Уреаплазма Агар



МИКОПЛАЗМА ДУО (1)

Культуральный рост
Идентификация
Количественное определение
урогенитальных микоплазм



МИКОПЛАЗМА ДУО (2)

Посев



ИНКУБАЦИЯ
Накрыть планшет адгезивной пленкой
Инкубировать при 37°C

Чтение и интерпретация

U или H

Ureaplasma urealyticum : DUO U
Mycoplasma hominis : DUO H

● Положительная
● Отрицательная

24 часа

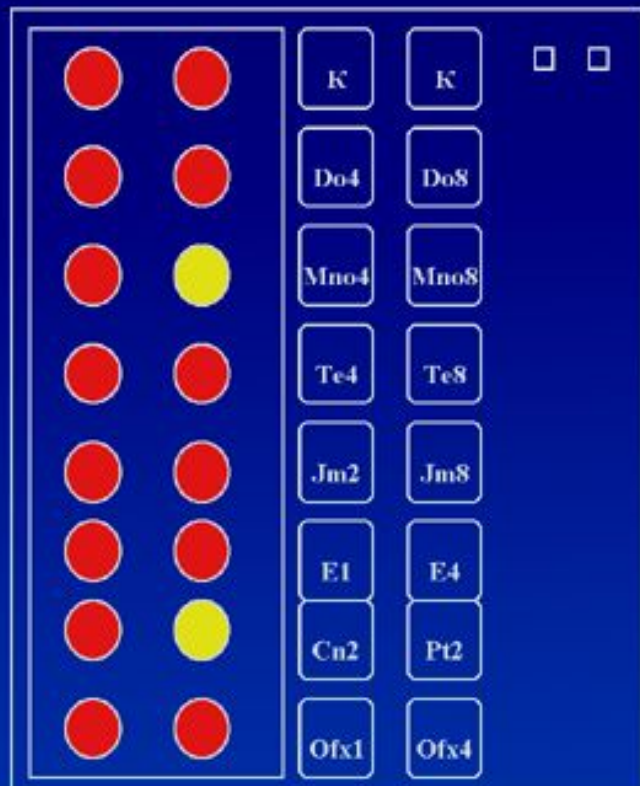


48 часов



BIO-RAD

Антибиотики, ингибирующие рост микоплазм в тесте Mycoplasma SIR

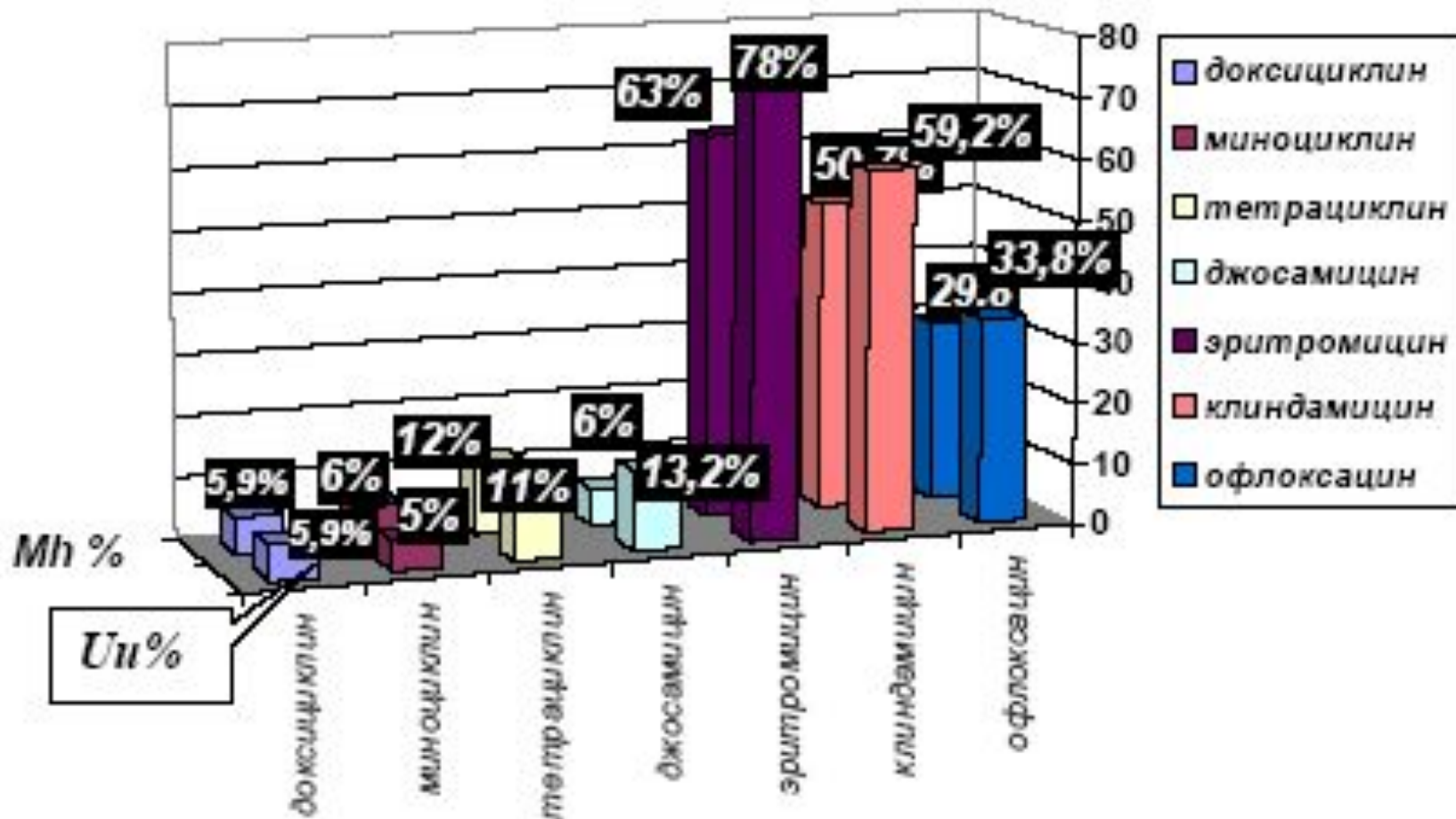


Группы антибиотиков	Название препарата	Кол-во (мг\л)
Тетрациклины	Доксициклин	2 и 8
	Тетрациклин	4 и 8
	Миноциклин	4 и 8
Макролиды	Эритромицин	1 и 4
	Джосамицин (вильпрафен)	2 и 8
Фторхинолоны	Офлоксацин (таривид)	1 и 4
Линкозамины	Клиндамицин (далацин)	2

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*

