

Асташонок А. Н., Пересада О. А.¹, Виноградова А. В., Малашко О. Н.², Полещук Н. Н.

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА УРОГЕНИТАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ, МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ И УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА *Mycoplasma genitalium*

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

¹Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

²Учреждение здравоохранения «3-я городская клиническая больница имени Е. В. Клумова», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Учитывая высокий патогенный потенциал и внутриклеточный цикл развития *Mycoplasma genitalium*, актуальной задачей является изучение молекулярно-биологических свойств возбудителя, включая определение генов резистентности к антибиотикам. Проведен клинико-анамнестический и лабораторный анализ пациенток с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта. Показано, что из 229 женщин в 64 случаях (27,9 %) детектированы различные виды патогенов: *Chlamydia trachomatis* – 19 (8,3 %), цитомегаловирус – 16 (7,0 %), *M. genitalium* – 12 (5,2 %), вирус герпеса 1 и 2 типа – 7 (3,1 %), *Trichomonas vaginalis* – 6 (2,6 %), *Waddlia chondrophila* – 4 (1,7 %). Анализ 64 положительных случаев показал, что в 49 (76,56 %) выявлена моноинфекция, а в 15 – (23,44 %) микстинфекция. Проведено выделение изолятов *M. genitalium* в культуральной среде и линии клеток McCoу с последующим анализом электронно-микроскопическим методом. Выявлен полиморфизм возбудителя: от типичных грушевидных или бокаловидных форм (20–30 %) до округлых, гантелевидных и вытянутых палочковидных частиц. Установлено, что только типичные морфовары микоплазмы сохраняют цитоскелетоподобную структуру (лидирующий конец, терминальная кнопка), ответственную за вирулентность и иммуногенность. Проведено секвенирование участка гена 16S рПНК, 23S рПНК, генов *parC*, *gyrA* *M. genitalium*, связанных с резистентностью к макролидам, фторхинолонам и тетрациклинам. Определена мутация в V-домене гена 23S рПНК (позиция A2071), определяющая резистентность к макролидам. Мутаций в участках генов *parC* и *gyrA* возбудителя не выявлено. Показано наличие tet-детерминант в 7 случаях (53,8 %) и гена *tetM* – в 8 образцах ДНК (61,5 %).

Ключевые слова: *Mycoplasma genitalium*, диагностика, культура клеток, резистентность, секвенирование, электронная микроскопия.

Введение. Среди инфекционных заболеваний мочеполовой системы в последние годы значительно увеличились проявления длительного воспалительного процесса в репродуктивных органах, обусловленные различными микроорганизмами и вирусами (*Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium*, цитомегаловирус, вирус герпеса 1 и 2 типа) [1]. Наряду с *C. trachomatis*, *Waddlia chondrophila* и некоторых других патогенов получены убедительные доказательства об особой роли возбудителя *M. genitalium* в нарушении фертильности у женщин и мужчин (бесплодие, выкидыши, замершие беременности, преждевременные роды) [2, 3].

Актуальность изучения микоплазмозов во многом связана с ростом антибиотикорезистентности различных микоплазм (*M. genitalium*, *M. hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *U. parvum*) [4]. Немаловажный интерес к проблеме патогенного потенциала *M. genitalium* обусловлен уникальностью биологических свойств возбудителя, в морфогенезе которого присутствуют черты, характерные не только для бактерий, но и вирусов. В отличие от других видов микоплазм (*M. hominis*, *U. urealyticum*) данная разновидность возбудителя при своей репродукции затрагивает ядерный аппарат клеток-мишеней, напрямую повреждая геном [4].

На фоне отсутствия клеточной стенки *M. genitalium* обладает высокой генетически детерминированной антигенной вариабельностью, которая обуславливает присутствие в одной популяции фенотипически различающихся разновидностей патогена. Генотипические и фенотипические факторы вирулентности *M. genitalium*, циркулирующих в Республике Беларусь, изучены не в полной мере.

Микоплазмы относятся к труднокультивируемым микроорганизмам и требуют для своего роста наличия целого комплекса питательных веществ. В настоящее время разработано несколько подходов для выделения и накопления патогена: жидкие питательные среды (SP4, Friis, G-37), плотные питательные среды, содержащие агар и культуры клеток (Vero, McCoу, Hela, Hep-2 и др.) [5, 6]. Однако все

используемые подходы по накоплению возбудителя и изучению *in vitro* его биологических свойств имеют свои недостатки, основным из которых является потеря *M. genitalium* при культивировании ряда структурных детерминант, отвечающих за патогенность и иммуногенность. В связи с этим актуальным является изучение *in vitro* в условиях персистентной формы инфекции ультраструктурной организации микоплазм. Остаются малоизученными конечные стадии морфогенеза вирулентных форм *M. genitalium*, включая образование различных морфоваров и патогномоничных особенностей в их ультраструктуре.

Немаловажным является индикация других внутриклеточных патогенов таких как *C. trachomatis*, *W. chondrophila*, а также вирусных агентов и *T. vaginalis* при воспалительных процессах в репродуктивных органах.

Цель работы – установить этиологическую структуру урогенитальных инфекций, выделить, накопить возбудитель *M. genitalium* и охарактеризовать его ультраструктуру, включая резистентность к антибиотикам.

Материалы и методы. Группы пациентов для исследования. Сформирована группа пациенток с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта, которая включала 229 женщин с жалобами на дискомфорт, обильные выделения в ряде случаев, указывающих на репродуктивные нарушения (эндоцервицит, бесплодие, самопроизвольный выкидыш, замершая беременность, средний возраст пациенток – 29 ± 6 лет).

Выделение ДНК из образцов для детекции различных патогенов. Выделение ДНК из мазков-соскобов осуществляли с помощью наборов «НК-экстра» (РЦГЭиОЗ, Беларусь) и «Рибо-преп» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). Для достижения эффективности ПЦР большое внимание было уделено не только качеству взятия биоматериала, но и его пробоподготовке.

Выявление ДНК *M. genitalium*, *C. trachomatis*, *T. vaginalis*, *N. gonorrhoeae* осуществляли с помощью ПЦР набора «АмплиСенс® *N. gonorrhoeae* / *C. trachomatis* / *M. genitalium* / *T. vaginalis*-МУЛЬТИПРАЙМ-FL», ДНК вирусов простого герпеса 1 и 2 типа – «АмплиСенс® HSV I, II-FL», ДНК цитомегаловируса – «АмплиСенс® CMV-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). Детекция хламидия подобного микроорганизма *W. chondrophila* проведена с помощью выбранных пар праймеров (WHF 5'-63-GAACGAAGTGTGCTCTTGAGT-83-3' и WHR 5'-187-CCTCTCTAGCACCATATCCG-168-3', позволяющих детектировать фрагмент длиной 123 пар оснований в области кодирующей синтез 16S рРНК *W. chondrophila*.

ПЦР для наработки целевых участков генов 16S рРНК, 23S рРНК, *parC*, *gyrA*, *tet*-детерминант и *tetM* гена *M. genitalium*. В качестве материала для исследования были взяты изоляты возбудителя, хранящиеся в рабочем банке лаборатории (НИИ ГТЭВМ РЦГЭиОЗ, Беларусь). Для получения фрагментов генов 23S рРНК, *parC*, *gyrA*, 16S рРНК, *tetM* и *tet*-детерминант *M. genitalium* были подобраны нами соответствующие праймеры, представленные в таблице 1.

Таблица 1 – Праймеры для амплификации фрагментов генов 23S рРНК, *parC* и *gyrA* *Mycoplasma genitalium*

№	Название праймера	Последовательность
1.	Mg23S-1992 F	5'-CCATCTCTTGACTGTCTCGGCTAT-3'
2.	Mg23S-2138 R	5'-CCTACCTATTCTCTACATGGTGGTGT-3'
3.	MG-PARC-F	5'-TGGGCTTAAAACCCACCACT-3'
4.	MG-PARC-R	5'-CGGGTTTCTGTGTAACGCAT-3'
5.	MG-GYRA-F	5'-CCTGATGCTAGA GATGGACTTAAA-3'
6.	MG-GYRA-R	5'-AAGTTCTGCTGCAAGTTAGATAAT-3'
7.	MG16-439F	5'-GAATGACTCTAGCAGGCAATGGCTG-3'
8.	MG16-1301R	5'-CTGATTCGCGATTACTAGTGATTCCAG-3'
9.	tetF	5'-GGMCAYRTGGATTTYWTAGC-3'
10.	tetR	5'-TCAGMCGGAGTRCTARCAGGRC-3'
11.	tetM-F	5'-TGGACAAAGGTACAACGAGGACG-3'
12.	tetM-R	5'-GCGTGTCTATGATGTTCCACTTCG-3'

Анализ продуктов амплификации осуществляли методом горизонтального электрофореза в 2% агарозном геле. В случае успешной амплификации фрагмента гена 23S рРНК *M. genitalium* в агарозном геле регистрировалась специфическая полоса на уровне 147 пар нуклеотидов (далее – п. н.),

16S рРНК – 889 п. н., фрагмента гена *parC* – 214 п. н., *gyrA* – 299 п. н., фрагмента гена *tetM* – 116 п. н., tet-детерминант – 1315 п. н.

Постановка секвенирующей реакции. Секвенирование фрагментов генов 16S рРНК, 23S рРНК, гена *parC* и *gyrA* *M. genitalium* проводили с использованием соответствующих пар праймеров, представленных в таблице 1, и набора Brilliant Dye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Nimagen, Нидерланды) согласно инструкции фирмы-производителя.

Биоинформационный анализ последовательностей. Полученные последовательности анализировали с использованием программ Chromas и BioEdit. В программе BioEdit создавали консенсусную последовательность ДНК и этот фрагмент в дальнейшем использовали в базе BLAST.

Полученные данные о нуклеотидной последовательности образцов сравнивали с зарегистрированными последовательностями идентифицируемого гена в системе BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Затем проводили выравнивание полученных последовательностей с референсными, поиск и идентификацию нуклеотидных замен в программе BioEdit. В качестве референсных последовательностей использовали: 23S рРНК «дикого» штамма *M. genitalium* G37 (NR 077054), полный геном «дикого» штамма *M. genitalium* G37 (NC_000908.2), в котором ген *parC* локализуется в положении 242224–244569 (2346 п. н.), ген *gyrA* – в положении 4812–7322 (2511 п. н.), 16S рРНК – в положении 170012–171529 (1518 п. н.).

Накопление *M. genitalium* в культуральной среде и McCoу. Для накопления в препаративных количествах изоляты возбудителя ($n = 5$) вносили в жидкую питательную среду для культивирования. Затем проводили инфицирование культуры клеток McCoу. Репродукцию возбудителя в жидкой питательной среде оценивали по параметрам изменения pH в культуре клеток и развитию цитопатического действия в виде мелкосетчатой вакуолизации цитоплазмы на фоне пикноза ядер. Для электронно-микроскопического исследования возбудитель накапливали в титрах не ниже $10^{4.1}$ ТЦД₅₀/0,2 мл.

Ультроструктурный анализ поздних стадий морфогенеза *M. genitalium*. Накопленные в культуре клеток McCoу изоляты возбудителя предварительно фиксировали *in situ* 1% глутаральдегидом на 0,1 M натрий-какодилатном буфере (pH 7,4) с последующей дофиксацией четырехокисью осмия, приготовленного на том же буфере. Образцы заключали в смолы, ультратонкие срезы окрашивали 1% раствором уранилацетата и цитратом свинца. Анализ образцов проводили с помощью электронного микроскопа JEM-1011 при ускоряющем напряжении 100 кВт и инструментальном увеличении от 20 000 до 250 000.

Статистическая обработка данных. Обработка данных проведена с помощью программы Microsoft Excel, Statistica 8.0. Определяли средние величины (M), ошибку средней ($\pm m$). Различия с учетом t -критерия Стьюдента считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Клинико-анамнестическая характеристика воспалительных процессов. Клинико-анамнестическое обследование, включая визуализацию слизистой влагалища и шейки матки, выявили во многом сходную и в тоже время, имеющую некоторые особенности, картину воспалительного процесса. Осмотр осуществлялся перед взятием соскобного материала на микробиологическое исследование из цервикального канала, влагалища и уретры за 2–4 дня до начала менструации или сразу после нее.

Наиболее значимый контингент составили женщины с жалобами на дискомфорт при мочеиспускании, различной степенью выраженности выделений из урогенитального тракта, болями внизу живота, болезненными нерегулярными менструациями, невозможностью забеременеть.

У пациенток сотягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом и нарушениями репродуктивной функции (перинатальные потери, неразвивающаяся беременность, самопроизвольный выкидыш, преждевременные роды, антенатальная гибель плода и т. д.) жалобы также преимущественно были связаны с выделениями из урогенитального тракта.

У пациенток высокого инфекционного риска на фоне беременности (многоводие, плацентит, плацентарная недостаточность, угроза прерывания беременности и др.), жалобы зачастую носили характер невыносимой боли, в виде схваток с сильно выраженным общим недомоганием. При этом воспалительный процесс был либо минимальным, либо носил признаки выраженной лейкоцитарной реакции (в мазках количество лейкоцитов было не менее 40–50 против нормы ≤ 10).

Частота выявления урогенитальных патогенов в обследуемой группе. Из 229 обследованных женщин с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта в 64 случаях (27,9 %) детектированы различные виды патогенов (рисунок 1).

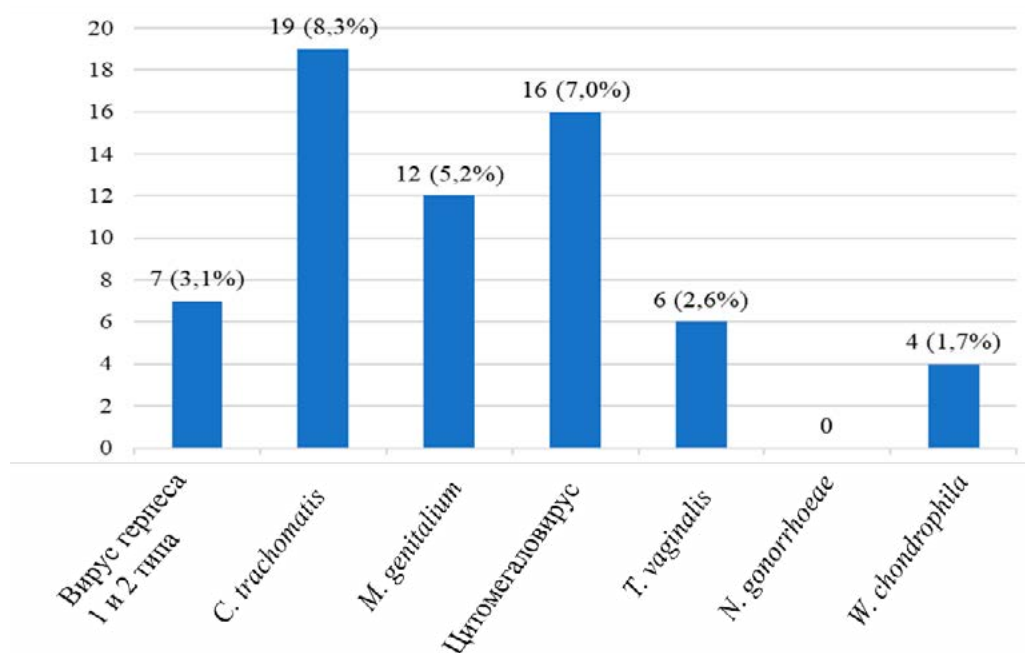
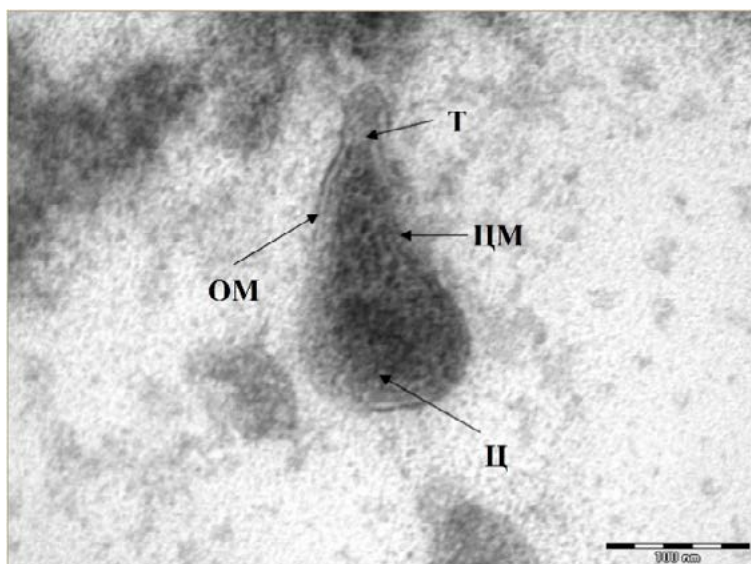


Рисунок 1 – Частота обнаружения различных микроорганизмов в урогенитальном тракте обследованных пациенток с воспалительными проявлениями урогенитального тракта

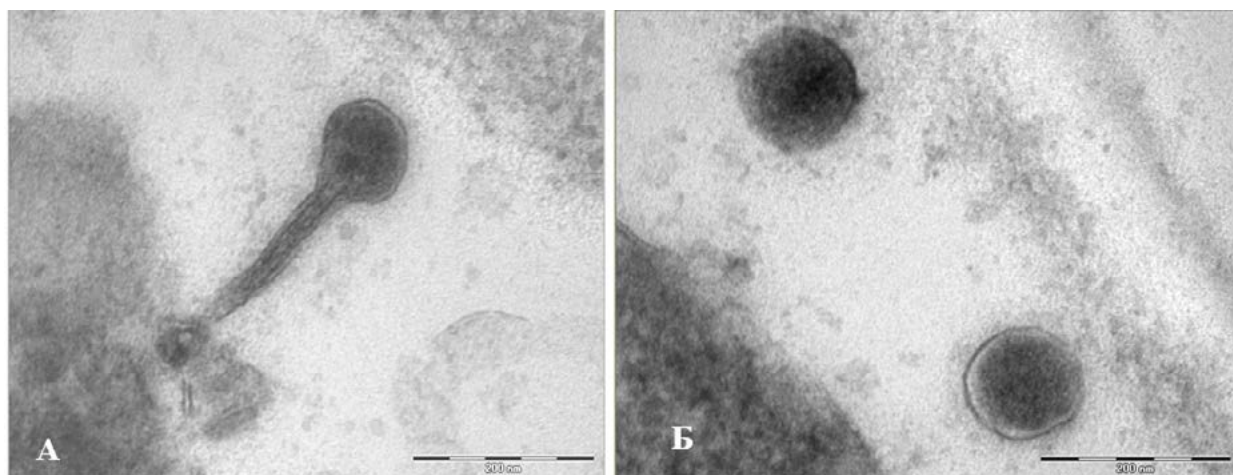
Как видно из рисунка 1 наиболее часто идентифицируемыми патогенами являлись *C. trachomatis* – 19 (8,3 %), цитомегаловирус – 16 (7,0 %), *M. genitalium* – 12 (5,2 %). Дальнейший анализ 64 положительных случаев показал, что в 49 (76,56 %) была выявлена моноинфекция, а в 15 (23,44 %) – микстинфекция. Следует отметить, что все выявленные хламидия подобные микроорганизмы *W. chondrophila* (5,3 %) отмечены у женщин с остановкой развития беременности (самопроизвольный выкидыш, неразвивающаяся беременность) и только в виде моноинфекции.

Выделение и идентификация M. genitalium в культуральной среде и McCoу. Выращенные в культуральной среде и накопленные в культуре клеток McCoу *M. genitalium* при микроскопии показали полиморфизм от типичных в виде грушевидных или бокаловидных форм (20–30 %) (рисунок 2) до округлых, гантелевидных и вытянутых палочковидных (рисунок 3).



ОМ – ограничивающая мембрана; ЦМ – цитоплазматическая мембрана;
Ц – цитоплазма; Т – терминальная структура («bleb»)

Рисунок 2 – Ультраструктурные особенности типичной бокаловидной формы *M. genitalium*, выращенной на жидкой питательной среде (x 300 000)



А – гантелеобразная форма возбудителя; Б – возбудитель сферической, кокковидной формы
Рисунок 3 – Полиморфизм различных морфологических форм *M. genitalium* (x 300 000)

При ультраструктурном анализе показано, что снаружи возбудителя визуализируется липопротеидная мембрана от 7,5–10 нм. На узком конце типичных бокаловидных и грушевидных форм отмечалась также терминальная структура (электронно-плотная сердцевина с терминальной кнопкой), которую рассматривают как цитоскелетоподобную структуру. Именно при помощи лидирующего конца *M. genitalium* внедряется в плазматическую мембрану эукариотических клеток и закрепляется в ней. Кроме того, именно в лидирующем конце локализован основной иммунодоминантный белок молекулярного веса 140 кДа [7]. На электроннограммах комплекс белков, отвечающих за адгезию и проникновение по типу лиганд-рецептор, выглядит как темная концевая структура толщиной 40 нм, в которой локализованы гранулы размером 5–7 нм [6]. В вытянутых палочковидных гантелеобразных и сферических формах *M. genitalium* размером 0,12 мкм, образующихся путем неравновеликой фрагментации и почкования, терминальных структур не наблюдалось (рисунок 3). Подобные формы возбудителя имели конденсированный нуклеоид и электронно-плотную структуру внутренних мембран. Известно, что полиморфизм *M. genitalium* обусловлен отсутствием клеточной стенки [6]. Однако не вполне ясно как происходит деление *M. genitalium*, каковы факторы, контролирующие этот процесс, так как типичные крупные, вегетативные формы имели размеры от 0,15 до 0,2 мкм. Известно, что основной путь репродукции микоплазмы является бинарное деление, так как в геноме есть ген *ftsZ*, ответственный за образование перетяжки и равновеликое деление [8]. В то же время есть морфовары, которые, делятся не классическим способом, а проходят через стадию фрагментации и почкования. Эти факты также указывают на то, что существует несколько различающихся между собой механизмов проникновения различных морфоформ микоплазм в клетку-мишень.

Изучение механизма проникновения *M. genitalium* в культивируемые клетки McCoу позволило детализировать отдельные этапы морфогенеза. Отмечено, что мелкие полиморфные формы, адсорбируясь на поверхности, вероятнее всего проникают путем своеобразного неспецифического эндоцитоза. Полученные результаты показывают, что для предотвращения попадания внутрь клеток-мишеней *M. genitalium* необходимо блокировать не только лиганд-рецепторный аппарат возбудителя, но и использовать препараты, лизирующие его мембрану. Эти результаты, на наш взгляд, могут быть важны при подборе и поиске новых противомикоплазменных веществ, а также при выборе тактики проведения этиотропной терапии.

Секвенирование участка гена 16S рРНК, 23S рРНК, генов *parC*, *gyrA* возбудителя. Определение мутаций резистентности *M. genitalium* к макролидам, фторхинолонам и тетрациклинам. В ходе исследования 25 положительных образцов ДНК *M. genitalium* были секвенированы фрагменты гена 23S рРНК для 5 образцов, гена *parC* – для 5 образцов, гена *gyrA* – для 8 образцов, гена 16S рРНК – для 7 образцов.

На рисунке 4 представлено сравнение полученных последовательностей фрагмента гена 23S рРНК *M. genitalium* с геном 23S рРНК «дикого» штамма G37 (NR_077054).

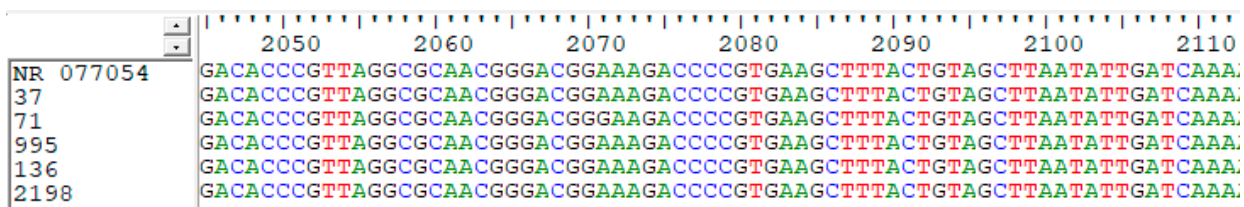


Рисунок 4 – Сопоставление полученных фрагментов гена 23S рРНК *M. genitalium* с «диким» штаммом G37 (NR_077054)

Анализ сиквенсов показал, среди 5 последовательностей фрагментов гена 23S рРНК в одной выявлен мутантный изолят. Эта мутация связана с нуклеотидной заменой А → Г в V-домене гена 23S рРНК в позиции А2071, которая определяет резистентность к макролидам. Мутаций, связанных с резистентностью к фторхинолонам (гены *parC* и *gyrA*) и тетрациклину (ген 16S рРНК), не выявлено. Тем не менее, установлено наличие tet-детерминант в 7 (53,8 %), а гена *tetM* – в 8 образцах ДНК (61,5 %). Эти данные актуальны, т. к. обнаружение гена *tetM* урогенитальных микоплазм может свидетельствовать о наличии в геноме подвижных генетических элементов, обеспечивающих защиту рибосом от воздействия тетрациклина и/или его производных [9]. Однако в литературе описаны штаммы микоплазм, чувствительные к тетрациклину и при этом содержащие в геноме *tetM* детерминанту [9], что требует дальнейших исследований по изучению антибиотикорезистентности микоплазм. Белки, кодируемые генами *tet*, могут активно выводить тетрациклины из клетки бактерии, могут изменять рибосому, где антибиотик обычно связывается и ингибирует синтез белка, делая ее невосприимчивой к действию антибиотика. В некоторых случаях гены *tet* могут кодировать ферменты, которые разрушают или химически модифицируют антибиотик, делая его неэффективным.

Немаловажным является генетический анализ по выявлению точечных мутаций в нуклеотидной последовательности генов 23S рРНК, 16S рРНК, *parC* и *gyrA* *M. genitalium*, которые указывают на резистентность возбудителя к макролидам, фторхинолонам и тетрациклину.

В Европе распространенность мутаций, обуславливающих резистентность *M. genitalium* к макролидам, находится в среднем выше 50 % и продолжает расти из года в год [10]. В работе российских специалистов приводятся цифры резистентности патогена на уровне 15,69 % и отмечается ее рост в период 2014–2018 гг. в 2,6 раз [11].

В случае отсутствия терапевтического эффекта от применения макролидов или установления факта резистентности рекомендуется применение фторхинолонов и тетрациклинов для лечения микоплазменной инфекции. Хотя резистентность *M. genitalium* к фторхинолонам также имеет место и отмечается тенденция к росту числа таких штаммов в мире.

Механизм действия фторхинолонов заключается в ингибировании необходимых для синтеза собственной ДНК микоплазм ферментов топоизомеразы IV и гиразы. Топоизомераза IV кодируется генами *parC* и *parE*, а ДНК гираза – генами *gyrA* и *gyrB*. Резистентность к фторхинолонам обусловлена мутациями в генах *parC* и *gyrA* [12].

Доксициклин, как тетрациклин второго поколения, рекомендуется в случае безуспешного применения макролидов и фторхинолонов, при лечении инфекции, вызванной *M. genitalium*, но его эффективность составляет не более 30 % [12]. При этом выявление и анализ генов *tet* и 16SpРНК возбудителя позволяет дифференцировать чувствительные/резистентные штаммы и целенаправленно назначать для лечения наиболее эффективные антибиотики.

Таким образом, в силу высокого патогенного потенциала, обусловленных *M. genitalium*, и роста в мире числа случаев антибиотикорезистентных штаммов микроорганизма требуется не только изучение его молекулярно-биологических свойств в реальных условиях в Республике Беларусь, но и использование персонализированного подхода к назначению лечения.

Заключение. Полученные данные подтвердили важность проведения исследований по изучению этиологической роли возбудителей, включая *M. genitalium*, при воспалительных заболеваниях урогенитального тракта и совершенствовании методов лабораторной диагностики. Показано, что из 229 женщин в 64 случаях (27,9 %) детектированы различные виды патогенов: *C. trachomatis* – 19 (8,3 %), цитомегаловирус – 16 (7,0 %), *M. genitalium* – 12 (5,2 %), вирус герпеса 1 и 2 типа – 7 (3,1%), *T. vaginalis* – 6 (2,6%), *W. chondrophila* – 4 (1,7%). Проведено выделение изолятов *M. genitalium* в культуральной среде и линии клеток McCoу. Показан полиморфизм возбудителя: от типичных грушевидных или бокаловидных форм (20–30 %) до округлых, гантелевидных и вытянутых палочковидных.

Установлено, что только типичные морфовары микоплазмы сохраняют цитоскелетоподобную структуру (лидирующий конец, терминальная кнопка), ответственную за вирулентность и иммуногенность. Проведено секвенирование участка гена 16S рРНК, 23S рРНК, генов *parC*, *gyrA* *M. genitalium*, связанных с резистентностью к макролидам, фторхинолонам и тетрациклинам. Выявлена мутация в V-домене гена 23S рРНК (позиция A2071), определяющая резистентность к макролидам. Установлено наличие tet-детерминант в 7 (53,8 %) и гена *tetM* – в 8 образцах ДНК (61,5 %). Несмотря на то, что по частоте обнаружения данный возбудитель занял только 3-е место по сравнению с инфекциями, вызванными хламидиями и вирусами семейства *Herpesviridae*, уникальность возбудителя по гено- и фенотипическим параметрам делает микоплазмоз достаточно актуальным в плане подбора адекватной антибиотикотерапии.

Сведения о НИР. НИР «Разработать и внедрить алгоритм выявления резистентности *Mycoplasma genitalium* к макролидам, фторхинолонам и тетрациклинам», регистрационный номер 20240296.

Литература

1. Брагина, Т. В. Воспалительные заболевания органов малого таза как одна из причин женского бесплодия / Т. В. Брагина, Ю. А. Петров, Н. В. Палиева // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2021. – Т. 23, № 12. – С. 77–84. – DOI: 10.26787/nydha-2686-6838-2021-23-12-77-84.
2. Lis, R. *Mycoplasma genitalium* infection and female reproductive tract disease: a meta-analysis / R. Lis, A. Rowhani-Rahbar, L. E. Manhart // Clinical Infectious Diseases. – 2015. – Vol. 61, iss 3. – P. 418–426. – DOI: 10.1093/cid/civ312.
3. *Mycoplasma genitalium*: an emerging sexually transmitted pathogen / S. Sethi, G. Singh, P. Samanta, M. Sharma // The Indian Journal of Medical Research. – 2012. – Vol. 136, № 6. – P. 942–955.
4. Gnanadurai, R. *Mycoplasma genitalium* : a review / R. Gnanadurai, H. Fifer // Microbiology (Reading, England). – 2020. – Vol. 166, № 1. – P. 21–29. – DOI: 10.1099/mic.0.000830.
5. Challenges of in vitro propagation and antimicrobial susceptibility testing of *Mycoplasma genitalium* / R. Pitt, D. Boamong, M. Day [et al.] // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. – 2022. – Vol. 77, iss 11. – P. 2901–2907.
6. McGowin, C. L. Intracellular *Mycoplasma genitalium* infection of human vaginal and cervical epithelial cells elicits distinct patterns of inflammatory cytokine secretion and provides a possible survival niche against macrophage-mediated killing / C. L. McGowin, V. L. Popov, R. B. Pyles // BMC Microbiol. – 2009. – Vol. 9. – Art. № 139. – DOI: 10.1186/1471-2180-9-139.
7. Pathogenicity and virulence of *Mycoplasma genitalium*: unraveling Ariadne's thread / W. Yueyue, X. Feichen, X. Yixuan [et al.] // Virulence. – 2022. – Vol. 13, № 1. – P. 1161–1183. – DOI: 10.1080/21505594.2022.2095741
8. Functional characterization of the cell division gene cluster of the wall-less bacterium *Mycoplasma genitalium* / C. Martínez-Torró, S. Torres-Puig, M. Marcos-Silva [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2021. – Vol. 12. – Art. № 695572. – DOI: 10.3389/fmicb.2021.695572.
9. Колесникова, Е. А. Механизмы антибиотикорезистентности урогенитальных микоплазм / Е. А. Колесникова, Н. Ф. Бруснигина, Г. И. Григорьева // Здоровье населения и среда обитания – ЗНиСО. – 2019. – № 8. – С. 45–49. – DOI: 10.35627/2219-5238/2019-317-8-45-49.
10. *Mycoplasma genitalium* and antimicrobial resistance in Europe: a comprehensive review / M. Fernández-Huerta, M. J. Barberá, J. Serra-Pladevall [et al.] // International Journal of STD & AIDS. – 2020. – Vol. 31, iss. 3. – P. 190–197. – DOI: 10.1177/0956462419890737.
11. Распространенность и тип мутаций *Mycoplasma genitalium* у пациентов дерматовенерологического профиля Московского региона за период 2014–2018 гг. / И. В. Романова, В. И. Кисина, Г. А. Хайрулина [и др.] // Клиническая дерматология и венерология. – 2020. – Т. 19, № 1. – С. 7–12. – DOI: 10.17116/klinderma2020190117.
12. Doxycycline in the management of sexually transmitted infections / H. Peyriere, A. Makinson, H. Marchandin, J. Reynes // The Journal of Antimicrobial Chemotherapy. – 2018. – Vol. 73, iss. 3. – P. 553–563. – DOI: 10.1093/jac/dkx420.

Astashonok A. N., Peresada O. A.¹, Vinogradova A. V., Malashko O. N.², Poleshchuk N. N.

ETIOLOGICAL STRUCTURE OF the UROGENITAL INFECTIONS, MOLECULAR-GENETIC AND ULTRASTRUCTURAL CHARACTERISTICS OF MYCOPLASMA GENITALIUM

State institution «Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

¹Educational institution «Belarusian State Medical University», Minsk, Belarus

²Healthcare Institution «3rd City Clinical Hospital named after E. V. Klumova», Minsk, Belarus

Given the high pathogenic potential and intracellular development cycle of *M. genitalium*, an urgent task is to study the molecular biological properties of the pathogen, including the identification of antibiotic resistance genes. The clinical and anamnestic characteristics of patients with inflammatory diseases of the urogenital tract was performed. Among of 229 analyzed women, various types of pathogens in 64 (27.9 %) cases were detected: *C. trachomatis* – 19 (8.3 %), cytomegalovirus – 16 (7.0 %), *M. genitalium* – 12 (5.2 %), herpes simplex virus – 7 (3.1 %), *T. vaginalis* – 6 (2.6 %), *W. chondrophila* – 4 (1.7 %). The analysis of 64 positive cases showed that 49 of them (76.56 %) had monoinfection, and 15 (23.44 %) had co-infection. Isolation and identification of *M. genitalium* in culture medium and McCoy cell line were performed. The pathogen polymorphism is revealed: from typical pear-shaped or goblet-shaped forms (20–30 %) to rounded, dumbbell-shaped and elongated rod-shaped particles. Only typical mycoplasma morphovars retain the cytoskeleton-like structure (leading end, terminal button) responsible for virulence and immunogenicity. Sequencing of the 16S rRNA gene region, 23S rRNA, *parC*, *gyrA* genes of *M. genitalium*, associated with resistance to macrolides, fluoroquinolones and tetracyclines, was carried out. The mutation in the V-domain of the 23S rRNA gene (position A2071), determining resistance to macrolides, was identified. It was found no mutations in *parC* and *gyrA* genes. The presence of tet determinants in 7 cases (53.8 %) and the *tetM* gene in 8 samples (61.5 %) was observed.

Keywords: *Mycoplasma genitalium*, diagnostics, cell culture, resistance, sequencing, electron microscopy.

References

1. Bragina T. V., Petrov Yu. A., Palieva N. V. Inflammatory diseases of the pelvic organs as one of the causes of female infertility. *Medical and Pharmaceutical Journal "Pulse"*. 2021; 23(12): 77–84. DOI: 10.26787/nydha-2686-6838-2021-23-12-77-84 (in Russian)
2. Lis R., Rowhani-Rahbar A., Manhart L. E. *Mycoplasma genitalium* infection and female reproductive tract disease: a meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases*. 2015; 61(3): 418–26. DOI: 10.1093/cid/civ312.
3. Sethi S., Singh G., Samanta P., Sharma M. *Mycoplasma genitalium*: an emerging sexually transmitted pathogen. *The Indian Journal of Medical Research*. 2012; 136(6): 942–55.
4. Gnanadurai R., Fifer H. *Mycoplasma genitalium*: a review. *Microbiology (Reading, England)*. 2020; 166(1): 21–9. DOI: 10.1099/mic.0.000830.
5. Pitt R., Boampong D., Day M. et al. Challenges of in vitro propagation and antimicrobial susceptibility testing of *Mycoplasma genitalium*. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2022; 77(12): 2901–7. DOI: 10.1093/jac/dkac281.
6. McGowin C. L., Popov V. L., Pyles R. B. Intracellular *Mycoplasma genitalium* infection of human vaginal and cervical epithelial cells elicits distinct patterns of inflammatory cytokine secretion and provides a possible survival niche against macrophage-mediated killing. *BMC Microbiology*. 2009; 9: 139. DOI: 10.1186/1471-2180-9-139.
7. W. Yueyue, X. Feichen, X. Yixuan et al. Pathogenicity and virulence of *Mycoplasma genitalium*: unraveling Ariadne's thread. *Virulence*. 2022; 13(1): 1161–83. DOI: 10.1080/21505594.2022.2095741.
8. Martínez-Torró C., Torres-Puig S., Marcos-Silva M. et al. Functional characterization of the cell division gene cluster of the wall-less bacterium *Mycoplasma genitalium*. *Frontiers in Microbiology*. 2021; 12: 695572. DOI: 10.3389/fmicb.2021.695572.
9. Kolesnikova E. A., Brusnigina N. F., Grigor'eva G. I. Antibiotic resistance mechanisms of urogenital mycoplasmas. *Public Health and Life Environment – PH&LE*. 2019; (8): 45–9. DOI: 10.35627/2219-5238/2019-317-8-45-49 (in Russian)
10. Fernández-Huerta M., Barberá M. J., Serra-Pladevall J. et al. *Mycoplasma genitalium* and antimicrobial resistance in Europe: a comprehensive review. *International journal of STD & AIDS*. 2020; 31(3): 190–7. DOI: 10.1177/0956462419890737.
11. Romanova I. V., Kisina V. I., Khayrullina G. A. et al. The prevalence and type of mutations of *Mycoplasma genitalium* in dermatovenereological patients from the Moscow region for 2014–2018. *Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology (Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya)*. 2020; 19(1): 7–12. DOI: 10.17116/klinderma2020190117 (in Russian)
12. Peyriere H., Makinson A., Marchandin H., Reynes J. Doxycycline in the management of sexually transmitted infections. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2018; 73(3): 553–63. DOI: 10.1093/jac/dkx420.

e-mail для переписки: zav.lab.dsuvi@belriem.by

Поступила 15.09.2025

ISSN 2076-3778

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«РЕСПУБЛИКАНСКИЙ ЦЕНТР ГИГИЕНЫ, ЭПИДЕМИОЛОГИИ
И ОБЩЕСТВЕННОГО ЗДОРОВЬЯ»

ЗДОРОВЬЕ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА

Сборник научных трудов

Выпуск 35

Гомель
Редакция газеты «Гомельская праўда»
2025