

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

УДК 616.9:579.882.11:577.2/:616.2-053.2

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА
И ОСОБЕННОСТИ ВИДОВОЙ СТРУКТУРЫ ПАТОГЕННОЙ ФЛОРЫ
ПРИ ХЛАМИДИЙНОМ И МИКОПЛАЗМЕННОМ ИНФИЦИРОВАНИИ
РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА У ДЕТЕЙ

Т. В. Глинкина

Государственное учреждение образования
«Белорусская медицинская академия последипломного образования»
г. Минск, Республика Беларусь

Цель: установить особенности инфицирования *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma pneumoniae* детей с бронхитами и пневмониями и усовершенствовать методологию молекулярно-генетической диагностики респираторных инфекций, обусловленных хламидиями и микоплазмами.

Материалы и методы. Обследовано 272 ребенка от рождения до 17 лет с диагнозами: «Бронхит», «Пневмония» на наличие хламидийно-микоплазменного инфицирования респираторного тракта методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР РВ).

Результаты. Выявлена высокая доля ассоциаций хламидий и микоплазм (23 %) с основным участием *Mycoplasma pneumoniae* в составе ассоциаций — 73 %. Идентификация ассоциаций *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma pneumoniae* при бронхитах и пневмониях у детей оптимизирована применением метода ПЦР РВ с использованием *Chlamydiaceae*-специфичных и *Mycoplasma*-специфичных праймеров.

Заключение. Для подтверждения этиологической роли хламидий и микоплазм в развитии респираторной патологии у детей перспективно применение специфичного и высокочувствительного метода молекулярно-генетической диагностики — ПЦР РВ.

Ключевые слова: хламидии, микоплазмы, респираторный тракт, полимеразная цепная реакция.

Objective: to determine the features of the infection caused by *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma pneumoniae* in children with bronchitis and pneumonia and to improve the methodology of molecular genetic diagnostics of the respiratory infections caused by chlamydia and mycoplasma.

Material and methods. 272 children aged 0–17 diagnosed with bronchitis, pneumonia, were examined for the presence of chlamydia-mycoplasma respiratory tract infection by Real-time PCR.

Results. The study has revealed a high proportion of chlamydia and mycoplasma associations (23 %) with the predominance of *Mycoplasma pneumoniae* — 73 %. The identification of the associations *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma pneumoniae* in bronchitis and pneumonia in the children was optimized by the use of Real-time PCR with *Chlamydiaceae*- and *Mycoplasma*-specific primers.

Conclusion. To confirm the etiological role of chlamydia and mycoplasma in the development of respiratory pathology in children, it is promising to apply the specific and highly sensitive method of molecular genetic diagnostics — Real-time PCR.

Key words: chlamydia, mycoplasma, respiratory tract, polymerase chain reaction.

Т. В. Глинкина

Molecular Genetic Diagnostics and Features of the Species Structure of the Pathogenic Flora in Chlamydia and Mycoplasma Infection of the Respiratory Tract in Children
Problemy Zdorov'ya i Ekologii. 2019 Oct-Dec; Vol 62 (4): 11-16**Введение**

В последние годы в этиологической структуре респираторных заболеваний детей возрастает роль *Chlamydia pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae*, которые адаптированы к персистенции на эпителии респираторного тракта, могут вызывать пролонгированный воспалительный ответ в респираторном тракте и являются этиологическими факторами фарингитов, синуситов, бронхитов, пневмоний, ассоциированы с развитием бронхиальной астмы [1–4].

Данные возбудители эффективно преодолевают защитные механизмы слизистой дыхательных путей и оказывают повреждающее действие на клетки респираторного эпителия. *Chlamydia pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae* нарушают мерцательную функцию реснитчатого эпителия респираторного тракта, ослабляя тем самым нормальные механизмы мукоцилиарного клиренса, что может стать причиной активации и вовлечения условно-патогенных микроорганизмов, колонизирующих верхние отделы респираторного тракта, в

патологический процесс в респираторном тракте или суперинфекции другими патогенными микроорганизмами [5–8].

В свою очередь вопрос об одновременном инфицировании хламидиями и микоплазмами респираторного тракта детей к настоящему времени мало изучен, одной из причин этого является сложность подтверждения этиологической роли *Chlamydia pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae* в формировании респираторных инфекций [9].

Культивирование данных патогенов является длительным и трудоемким процессом, микроорганизмы требовательны к составу питательных сред и условиям роста [4, 8, 10].

Серологические исследования при отсутствии парных сывороток и возможности исследования сероконверсии носят ретроспективный, а не диагностический характер [11].

Применение современного специфичного и высокочувствительного метода молекулярно-генетической диагностики — полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР РВ) представляет собой перспективный способ выявления хламидий и микоплазм в целях ранней этиологической диагностики, в том числе в условиях смешанного инфицирования [4, 11].

Цель исследования

Установить особенности инфицирования *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma pneumoniae* детей с бронхитами и пневмониями и усовершенствовать методологию молекулярно-генетической диагностики респираторных инфекций, обусловленных хламидиями и микоплазмами.

Материалы и методы

Группу исследования составили 272 ребенка от рождения до 17 лет с диагнозами: «Бронхит», «Пневмония», которые были обследованы на наличие хламидийно-микоплазменного инфицирования респираторного тракта методом ПЦР РВ.

Материалом для генетического анализа стали соскобы эпителиальных клеток из носоглотки и ротоглотки (далее — соскобы), трахеобронхиальный секрет, мокрота.

Выделение ДНК из биологического материала пациентов (соскоб, трахеобронхиальный секрет) проводили методом сорбционной экстракции («РеалБест ДНК-экстракция 1», АО «ВЕКТОР-БЕСТ», Российская Федерация). Выделение ДНК из мокроты проводили способом с применением бромистого цетилтриметиламмония (ЦТАБ). Для снижения вязкости мокроты каждый образец смешивали с реагентом «Муколизин» в соотношении 5:1 (5 частей муколизина к 1 части мокроты) и инкубировали в течение 30 минут. Смесь мокроты и муко-

лизина в объеме 1 мл центрифугировали 10 минут при 7000 g. Осадок клеточных элементов мокроты ресуспендировали в 565 мкл ТЕ буфера и инкубировали 1 час при 37 °С с 30 мкл 10 % додецилсульфата натрия (SDS) и 5 мкл протеиназы К (10 г/л). Затем добавляли 100 мкл ЦТАБ/NaCl раствора (4.1 г NaCl, 10 г ЦТАБ в 100 мкл стерильной воды) и инкубировали при 65 °С в течение 10 минут. После инкубирования экстракты очищали смесью хлороформ-изоамиловый спирт, ДНК осаждали изопропанолом [12].

Выявление ДНК *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma hominis* и *Mycoplasma pneumoniae* проводили с применением наборов реагентов ООО НПФ «Литех» (Российская Федерация) на амплификаторе «Rotor — Gene 6000» («Corbett research», Австралия). Наличие ДНК условно-патогенных бактерий родов *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Pseudomonas*, семейства *Enterobacteriaceae* и *Haemophilus influenza* в исследуемом биологическом материале определяли методом ПЦР РВ, согласно инструкции на метод номер 034–0418, чувствительность 1×10^4 копии/мл, и с использованием набора *Haemophilus influenza* ООО НПФ «Литех» (Российская Федерация).

Результаты и обсуждение

В ходе исследования определено, что в возрасте до 2 лет у детей с респираторной патологией (n = 120) с наибольшей частотой были выявлены *Chlamydia trachomatis* и *Mycoplasma hominis* (10 %). Причиной их обнаружения в биологическом материале респираторного тракта детей первых лет жизни является высокий риск перинатального заражения при естественном родоразрешении от матерей, инфицированных данными возбудителями [13]. У детей в возрасте до 2 лет частота инфицирования *Chlamydia pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae* составила 4 %.

В группе детей старше 2 лет с бронхитами и пневмониями (n = 152) только в 2 случаях была выявлена ДНК *Mycoplasma hominis* в биологическом материале из респираторного тракта, ДНК *Chlamydia trachomatis* не была обнаружена. Частота выявления ДНК *Chlamydia pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae* у детей старше 7 лет составила 16 % при бронхитах и 52 % при пневмониях. Таким образом, в значительной степени в спектре возможных возбудителей хламидийно-микоплазменной инфекции преобладали *Chlamydia pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae* (28 %), что согласуется с результатами других исследований, направленных на изучение этиологической роли данных микроорганизмов при бронхитах и пневмониях у детей [1, 2, 3].

Инфицирование респираторного тракта у детей может протекать в виде смешанных инфекций. Так, в группе детей до 2 лет среди 16 случаев инфицирования хламидиями и микоплазмами были выявлены ассоциации: *Chlamydia trachomatis* + *Mycoplasma hominis* — в 5 случаях и ассоциация *Chlamydia trachomatis* + *Mycoplasma pneumoniae* — в 1 случае. У детей старше 2 лет сочетанная хламидий-

но-микоплазменная инфекция респираторного тракта была представлена ассоциацией *Chlamydia pneumoniae* + *Mycoplasma pneumoniae* в 9 из 48 случаев хламидийно-микоплазменного инфицирования в данной возрастной группе.

Также определена структура ассоциаций хламидий и микоплазм с условно-патогенными микроорганизмами (таблице 1).

Таблица 1 — Ассоциации хламидий и микоплазм с возбудителями не хламидийно-микоплазменной природы

Ассоциация		n
атипичные патогены	классические бактерии	
<i>C. trachomatis</i>	<i>Str. pneumoniae</i>	1
<i>C. pneumoniae</i>	<i>Str. pneumoniae</i>	1
<i>M. pneumoniae</i> + <i>C. pneumoniae</i>	<i>Str. pyogenes</i>	1
<i>M. pneumoniae</i> + <i>C. pneumoniae</i>	<i>Staph. aureus</i>	2
<i>M. pneumoniae</i>	<i>Str. pneumoniae</i>	3
<i>M. pneumoniae</i>	<i>Str. pyogenes</i>	1
<i>M. pneumoniae</i>	<i>Staph. aureus</i>	3
<i>M. pneumoniae</i>	<i>H. influenzae</i>	2

Исходя из отличий в структуре хламидийно-микоплазменного инфицирования в различных возрастных группах детей с бронхитами и пневмониями, принимая во внимание отсутствие различий в протоколах лечения инфекционного процесса респираторного тракта, обусловленного *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma pneumoniae* у детей [1], для сокращения времени назначения этиотропной терапии при подозрении на атипичную инфекцию респираторного тракта предложен способ диагностики на основе ПЦР РВ с использованием *Chlamydiaceae*-специфичных и *Mycoplasma*-специфичных праймеров и олигонуклеотидных меченых проб, позволяющих выявлять ДНК представителей семейства *Chlamydiaceae* (*Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*) и рода *Mycoplasma* (*Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma pneumoniae*).

Праймеры для детекции ДНК представителей семейства *Chlamydiaceae* (*Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*), рода *Mycoplasma* (*Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma pneumoniae*) и последовательности соответствующих олигонуклеотидных меченых проб были выбраны на основе генетических последовательностей 16S-23S рРНК спейсерного региона и 16SpРНК с использованием Primer Express программного обеспечения соответственно: Cf-forward 5'-TCGCCACCAAGAGTTCATATC-3', Cf-reverse 5'-TTAATGGCGAACAGCCAAAC-3', Cp-probe 5'(ROX)-TTTGGCACCTCGATGTCGGCTCATCGCAT-(TAMRA)3',

ожидаемый размер ампликона — 106 п.н. и Mf-forward 5'-GCCACATGGGACTGAGA-3', Mr-reverse 5'-TCCATCAAGCTTTCGCTCAT-3', Mp-probe 5'(ROX)-ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAAT-(TAMRA)3',

ожидаемый размер ампликона — 84 п.н.

Определение гомологичных участков 16S-23S рРНК спейсерного региона *Chlamydia trachomatis* и *Chlamydia pneumoniae*, 16SpРНК *Mycoplasma hominis* и *Mycoplasma pneumoniae*, предварительная оценка специфичности праймеров, ампликонов и проб TaqMan проводились с помощью on-line программы BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Приготовление положительных контрольных образцов (ПКО) для ПЦР РВ осуществлялось на базе лаборатории молекулярной биотехнологии Института микробиологии НАН Беларуси путем клонирования необходимого ампликона в плазмиду рХсмkn12 (The cloning vector collection, Япония). Для получения ампликона, содержащего анализируемый гомологичный фрагмент 16S-23S спейсеров *Chlamydia pneumoniae* и *Chlamydia pneumoniae* использовалась суммарная ДНК *Chlamydia pneumoniae* (AmpliRun® *Chlamydomydia pneumoniae* DNA Control, Vircell), 10⁴ копий/мкл. Для получения ампликона, содержащего анализируемый гомологичный фрагмент гена 16S рРНК *Mycoplasma hominis* и *Mycoplasma pneumoniae* использовалась суммарная ДНК *Mycoplasma pneumoniae* (AmpliRun® *Mycoplasma pneumoniae* DNA Control, Vircell), 10⁴ копий/мкл. Присутствие анализируемого

фрагмента 16S-23S спейсера и фрагмента гена 16S рРНК в полученных плазидах рС16s23s в рМ16s соответственно проверяли с помощью реакции секвенирования.

Плазида рС16s23s и плазида рМ16s в концентрации 1×10^4 копии/мл использовались в качестве отдельных ПКО. Отрицательным контрольным материалом служила бидистиллированная вода.

Оптимизацию условий амплификации и определение аналитической чувствительности проводили на образцах ПКО.

Апробация разработанного способа идентификации представителей семейства *Chlamydiaceae* и рода *Mycoplasma* была проведена на 50 клинических образцах (соскобы, мокрота, трахеобронхиальный секрет), в которых была выявлена ДНК одного или нескольких возбудителей хламидийно-микоплазменной природы: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma hominis* и *Mycoplasma pneumoniae* методом ПЦР РВ с использованием референсных тест-систем с видоспецифичными праймерами ООО НПФ «Литех» (Российская Федерация).

Аналитическая чувствительность (предел обнаружения) для усовершенствованных методов составила $(2-3) \times 10^2$ копии/мл.

При сопоставлении результатов разработанного способа с референсными тест-системами значения диагностической специфичности и чувствительности составили 100 %: все случаи выявления ассоциаций *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma pneumoniae* у детей с бронхитами и пневмониями были подтверждены при использовании усовершенствованного способа.

Согласно полученным данным (таблица 1), наиболее частым микроорганизмом, который выявлялся в ассоциациях, была *Mycoplasma pneumoniae*. В ходе исследования была оценена концентрация ДНК *Mycoplasma pneumoniae* при моно-инфицировании данным патогеном и в ассоциациях.

Для проведения количественного теста амплификацию ДНК, выделенную из исследуемых образцов мокроты, проводили одновременно с амплификацией ДНК калибраторов – образцов с известной концентрацией ДНК-мишени. По результатам амплификации ДНК-калибраторов строили калибровочные линии, по которым определяли концентрацию ДНК-мишени в исследуемых образцах. Калибратором стала плазида рМ16s. Концентрация рМ16s в калибраторе I составила 1×10^2 копий/мл, в калибраторе II — 1×10^3 копий/мл, в калибраторе III — 1×10^4 копий/мл и в калибраторе IV — 1×10^5 копий/мл.

Концентрацию ДНК *Mycoplasma pneumoniae*, выраженную в количестве копий в 1 мл мокроты ($Q_{\text{ДНК-М}}$), рассчитывали по формуле:

$$Q_{\text{ДНК-М}} = X \times \frac{V_{\text{разв}} \times V_{\text{ДНК}}}{V_{\text{экстр}} \times V_{\text{м}}} \times k,$$

где X — концентрация ДНК, найденная по калибровочной зависимости порогового цикла флуоресценции Ct от концентрации калибратора, соответствует копиям ДНК на 1 мл раствора ДНК после экстракции;

$V_{\text{ДНК}}$ — объем раствора ДНК после экстракции, мл;

$V_{\text{разв}}$ — объем смеси мокроты и муколизина, мл;

$V_{\text{экстр}}$ — объем смеси мокроты и муколизина, взятой для экстракции ДНК, мл;

$V_{\text{м}}$ — объем мокроты, взятой для смешивания с муколизинном, мл;

k — коэффициент, соответствующий эффективности выделения ДНК *Mycoplasma pneumoniae* из мокроты с применением ЦТАБ.

Для определения коэффициента k готовились разведения суммарной ДНК *Mycoplasma pneumoniae* (AmpliRun® *Mycoplasma pneumoniae* DNA Control, Vircell) и культуры *Mycoplasma pneumoniae*, которые в параллельных экспериментах добавлялись к образцам мокроты после ее предварительной обработки реагентом «Муколизин». Коэффициент k рассчитывался как отношение концентрации ДНК *Mycoplasma pneumoniae*, внесенной в образец мокроты до процесса экстракции методом на основе ЦТАБ, к концентрации ДНК *Mycoplasma pneumoniae*, найденной по калибровочной кривой при проведении количественной ПЦР РВ. Коэффициент k составил 1,5.

При использовании количественной ПЦР РВ для выявления ДНК *Mycoplasma pneumoniae* были определены концентрации ДНК *Mycoplasma pneumoniae* в мокроте в случае моно-инфицирования данным микроорганизмом (1500–8000 копий на мл) и в ассоциациях (12000–55600 копий на мл). Было показано, что отличие концентраций ДНК *Mycoplasma pneumoniae* в ассоциациях от концентраций ДНК данным микроорганизмом при моно-инфицировании статистически значимо по результатам применения U-критерия Манна-Уитни с уровнем значимости $p = 0,05$.

Заключение

1. В данном исследовании впервые выявлена высокая доля ассоциаций хламидий и микоплазм (23 %) среди всех случаев хламидийно-микоплазменного инфицирования респираторного тракта у детей с бронхитами и пнев-

мониями. В структуре ассоциаций хламидий и микоплазм у детей до 2 лет выявлялись *Chlamydia trachomatis* и *Mycoplasma hominis*, у детей старше 2 лет превалировала ассоциация *Chlamydia pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae*.

2. Идентификация ассоциаций *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma pneumoniae* при бронхитах и пневмониях у детей оптимизирована применением метода на основе ПЦР РВ с использованием *Chlamydiaceae*-специфичных и *Mycoplasma*-специфичных праймеров. В ходе двух параллельных реакций происходит выявление ДНК возбудителей хламидийно-микоплазменной природы, этиологически значимых в формировании бронхитов и пневмоний у детей различных возрастных групп. Разработанный способ позволяет выявлять ассоциации *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma pneumoniae* у детей с бронхитами и пневмониями, сокращая количество ПЦР реакций с 4 до 2 в каждой из возрастных групп: дети до 2 лет и дети старше 2 лет. При этом используется меньшее количество реактивов и экономические затраты на проведение молекулярно-генетической диагностики инфицирования респираторного тракта детей хламидиями и микоплазмами сократились более, чем на 50 % в сравнении с использованием коммерческих тест-систем (ООО НПФ «Литех» (Российская Федерация).

3. Отличительной особенностью *Mycoplasma pneumoniae* является ее основное участие в составе ассоциаций — 73 %, что превышает долю участия в смешанных ассоциациях других хламидий и микоплазм: *Chlamydia pneumoniae* выявлялась в 38 % ассоциаций, *Chlamydia trachomatis* — в 27 % и *Mycoplasma hominis* — в 19 % ассоциаций. Концентрация ДНК *Mycoplasma pneumoniae* в ассоциациях при исследовании методом ПЦР РВ превышала 1×10^4 копии/мл мокроты, тогда как при моно-инфицировании была менее 1×10^4 копии/мл, различия в концентрациях ДНК для случаев микст- и моно-инфекции были статистически значимыми.

4. Для дальнейшего изучения роли *Mycoplasma pneumoniae* в формировании бронхолегочной патологии представляет интерес исследование патогенных свойств клинических изолятов *Mycoplasma pneumoniae*, выделенных из биологического материала пациентов с инфицированием *Mycoplasma pneumoniae* в форме моно-инфекции и в ассоциациях с другими микроорганизмами, этиологически значимыми в формировании респираторных заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жерносок ВФ, Орынбасарова КК, Батырханов ШК. Острая пневмония у детей: лечение, профилактика: учеб.-метод. по-

собие. Минск, Беларусь: БелМАПО; 2013. 51 с. <https://b-ok.org/book/3244088/82f05f>.

2. Hao Y, Kuang Z, Jing J, Miao J, Mei LY, Lee RJ, Kim S, Choe S, Krause DC, Lau GW. Mycoplasma pneumoniae modulates STAT3-STAT6/EGFR-FOXA2 signaling to induce overexpression of airway mucins. *Infect Immun*. 2014 Dec;82(12):5246-55. doi: 10.1128/IAI.01989-14.

3. Kem JM, Maass V, Maass M. Molecular pathogenesis of chronic Chlamydia pneumoniae infection: a brief overview. *Clin Microbiol Infect*. 2009;15(1):36-41. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02631.x>.

4. She RC, Thurber A, Hymas WC, Stevenson J, Langer J, Litwin CM, Petti CA. Limited utility of culture for Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae for diagnosis of respiratory tract infections. *J Clin Microbiol*. 2010 Sep;48(9):3380-82. doi: 10.1128/JCM.00321-10.

5. Bailey L. Infection biology of Chlamydia pneumoniae. Sweden: Umeå University; 2008. 70 p. <https://pdfs.semanticscholar.org/44c8/8eb59ba8022fc28e9de6cd3d3215b7e56df9.pdf>.

6. Chorosz-Król I, Frej-Mądrzak M, Hober M, Sarowska J, Jama-Kmiecik A. Infections caused by Chlamydia pneumoniae. *Adv Clin Exp Med*. 2014;23:123-26. <http://www.advances.umed.wroc.pl/pdf/2014/23/1/123.pdf>.

7. Ewig S, Torres A. Is Chlamydia pneumoniae an important pathogen in patients with community-acquired pneumonia? *Eur Respir J*. 2003;21:741-42. doi:10.1183/09031936.03.00023003.

8. Saraya T, Kurai D, Nakagaki K, Sasaki Y, Niwa S, Tsukagoshi H, Nunokawa H, Ohkuma K, Tsujimoto N, Hirao S, Wada H, Ishii H, Nakata K, Kimura H, Kozawa K, Takizawa H, Goto H. Novel aspects on the pathogenesis of Mycoplasma pneumoniae and therapeutic implications [Electronic resource]. *Front Microbiol*. 2014;5. [дата обращения: 2019 Май 14]. doi:10.3389/fmicb.2014.00410.

9. Bradley JS, Byington CL, Shah SS, Alverson B, Carter ER, Harrison C, Kaplan SL, Mace SE, McCracken GH Jr, Moore MR, St Peter SD, Stockwell JA, Swanson JT. Pediatric Infectious Diseases Society and the Infectious Diseases Society of America. Executive summary: the management of community-acquired pneumonia in infants and children older than 3 months of age: clinical practice guidelines by the Pediatric Infectious Diseases Society and the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2011 Oct;53(7):617-30. doi: 10.1093/cid/cir625.

10. Dowell SF, Peeling RW, Boman J, Carlone GM, Fields BS, Guarner J, Hammerschlag MR, Jackson LA, Kuo CC, Maass M, Messmer TO, Talkington DF, Tondella ML, Zaki SR. Standardizing Chlamydia pneumoniae Assays: Recommendations from the Centers for Disease Control and Prevention (USA) and the Laboratory Centre for Disease Control (Canada). *Clin Infect Dis*. 2001 Aug;33(4):492-503. <https://doi.org/10.1086/322632>.

11. Chang HY, Chang LY, Shao PL, Lee PI, Chen JM, Lee CY, Lu CY, Huang LM. Comparison of real-time polymerase chain reaction and serological tests for the confirmation of Mycoplasma pneumoniae infection in children with clinical diagnosis of atypical pneumonia. *J Microbiol Immunol Infect*. 2014 Apr;47(2):137-44. doi: 10.1016/j.jmii.2013.03.015.

12. Костюк СА, Руденкова ТВ, Полюян ОС, Глинкина ТВ. Методология выявления ДНК-возбудителей хламидийно-микоплазменной инфекции в мокроте. *Лаб Диагностика. Восто́чная Европа*. 2018;7(4):497-508.

13. Кулага ОК, Костюк СА. Коэффициент перинатальной контагиозности урогенитальных инфекций. *Мед Новости*. 2007;(14):92-94.

REFERENCES

1. Zhernosek VF, Orynbasarova KK, Batoryhanov ShK. Ostraya pnevmoniya u detej: lecheniye, profilaktika: Ucheb.-metod. posobiye. Minsk, Belarus': BelMAPO; 2013. 51 p. <https://b-ok.org/book/3244088/82f05f>. (in Russ.).

2. Hao Y, Kuang Z, Jing J, Miao J, Mei LY, Lee RJ, Kim S, Choe S, Krause DC, Lau GW. Mycoplasma pneumoniae modulates STAT3-STAT6/EGFR-FOXA2 signaling to induce overexpression of airway mucins. *Infect Immun*. 2014 Dec;82(12):5246-55. doi: 10.1128/IAI.01989-14.

3. Kem JM, Maass V, Maass M. Molecular pathogenesis of chronic Chlamydia pneumoniae infection: a brief overview. *Clin Microbiol Infect*. 2009;15(1):36-41. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02631.x>.

4. She RC, Thurber A, Hymas WC, Stevenson J, Langer J, Litwin CM, Petti CA. Limited utility of culture for Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae for diagnosis of respira-

tory tract infections. *J Clin Microbiol.* 2010 Sep;48(9):3380-82. doi: 10.1128/JCM.00321-10.

5. Bailey L. Infection biology of Chlamydia pneumoniae. Sweden: Umeå University; 2008. 70 p. <https://pdfs.semanticscholar.org/44c8/8eb59ba8022fc28e9de6cd3d3215b7e56df9.pdf>.

6. Choroszy-Król I, Frej-Mądrzak M, Hober M, Sarowska J, Jama-Kmieć A. Infections caused by Chlamydia pneumoniae. *Adv Clin Exp Med.* 2014;23:123-26. <http://www.advances.umed.wroc.pl/pdf/2014/23/1/123.pdf>.

7. Ewig S, Torres A. Is Chlamydia pneumoniae an important pathogen in patients with community-acquired pneumonia? *Eur Respir J.* 2003;21:741-42. doi:10.1183/09031936.03.00023003

8. Saraya T, Kurai D, Nakagaki K, Sasaki Y, Niwa S, Tsukagoshi H, Nunokawa H, Ohkuma K, Tsujimoto N, Hiraio S, Wada H, Ishii H, Nakata K, Kimura H, Kozawa K, Takizawa H, Goto H. Novel aspects on the pathogenesis of Mycoplasma pneumoniae and therapeutic implications [Electronic resource]. *Front Microbiol.* 2014;5. [дата обращения: 2019 Май 14]. doi: 10.3389/fmicb.2014.00410.

9. Bradley JS, Byington CL, Shah SS, Alverson B, Carter ER, Harrison C, Kaplan SL, Mace SE, McCracken GH Jr, Moore MR, St Peter SD, Stockwell JA, Swanson JT. Pediatric Infectious Diseases Society and the Infectious Diseases Society of America. Executive summary: the management of community-acquired pneumonia in infants and children older than 3 months of age: clinical practice guidelines by the Pediatric Infectious Diseases Society and the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2011 Oct;53(7):617-30. doi: 10.1093/cid/cir625.

10. Dowell SF, Peeling RW, Boman J, Carlone GM, Fields BS, Guarner J, Hammerschlag MR, Jackson LA, Kuo CC, Maass M, Messmer TO, Talkington DF, Tondella ML, Zaki SR. Standardizing Chlamydia pneumoniae Assays: Recommendations from the Centers for Disease Control and Prevention (USA) and the Laboratory Centre for Disease Control (Canada). *Clin Infect Dis.* 2001 Aug;33(4):492-503. <https://doi.org/10.1086/322632>

11. Chang HY, Chang LY, Shao PL, Lee PI, Chen JM, Lee CY, Lu CY, Huang LM. Comparison of real-time polymerase chain

reaction and serological tests for the confirmation of Mycoplasma pneumoniae infection in children with clinical diagnosis of atypical pneumonia. *J Microbiol Immunol Infect.* 2014 Apr;47(2):137-44. doi: 10.1016/j.jmii.2013.03.015.

12. Kostyuk SA, Rudenkova TV, Poluyan OS, Glinkina TV. Metodologiya vyavleniya DNK vozбудitelej hlamidijno-mikoplazmennoj infekcii v mokrote. *Lab Diagnostika. Vostochnaya Yevropa.* 2018;7(4):497-508. (in Russ.).

13. Kulaga OK, Kostyuk SA. Koefficient perinatal'noj kontagioznosti urogenital'nyh infekcij. *Med Novosti.* 2007;(14):92-94. (in Russ.).

Адрес для корреспонденции

220013, Республика Беларусь,
г. Минск, ул. П.Бровки, 3 к.3
Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education
тел. моб.: +375 33 6320711,
e-mail: kuklitsk@mail.ru
Глинкина Татьяна Владимировна.

Сведения об авторах

Глинкина Т.В., научный сотрудник Научно-исследовательской лаборатории Белорусской медицинской академии последилового образования

Address for correspondence

3 P. Brovki Street, Building No. 3,
220013, Minsk, Republic of Belarus,
Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education
Mob.: +375 33 6320711,
E-mail: kuklitsk@mail.ru
Glinkina Tatsiana Vladimirovna

Information about authors

Glinkina T.V., researcher of the Scientific and Research Laboratory of Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education.

Поступила 19.09.2019

УДК [616.98:578.826.6]:615.37-036-07

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ И ИСХОДОВ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ, ДИАГНОСТИРОВАННОЙ НА СТАДИИ ВЫРАЖЕННОЙ ИММУНОСУПРЕССИИ

Н. В. Матиевская

Учреждение образования

«Гродненский государственный медицинский университет»

г. Гродно, Республика Беларусь

Цель: представить особенности течения и исходов ВИЧ-инфекции, диагностированной на стадии выраженной иммуносупрессии.

Материалы и методы. 492 пациента, живущих с ВИЧ, исходя из первичного показателя CD4+T-лимфоцитов были разделены на 2 группы: группа 1 — 220 пациентов (CD4+ТЛ менее или равен 350 кл/мкл), группа 2 — 272 пациента (CD4+ТЛ более 350 кл/мкл). Статистический анализ выполнялся с использованием пакета «Statistica», 10.

Результаты. Среди пациентов 1-й группы было больше мужчин, чем во 2-й группе: 136 (61,8 %) и 125 (46 %) ($p < 0,001$) соответственно; пациентов, находящихся на 3-й и 4-й клинических стадиях ВИЧ-инфекции — 52,7 и 27,6 % ($p < 0,05$); пациентов на АРТ: 208 (94,5 %) и 148 (54,4 %) ($p < 0,001$) соответственно. Показатели Т-хелперов и ИРИ (иммунорегуляторный индекс) у пациентов группы 2 в динамике наблюдения сохранялись значительно более высокими по сравнению с аналогичными показателями пациентов группы 1. Частота туберкулеза была выше в 1-й группе: 33 (15 %) и 15 (5,5 %) соответственно ($p < 0,05$). В 1-й группе умерли 23 (10,5 %) пациента, во 2-й — 9 (3,3 %) ($p < 0,003$).

Заключение. ВИЧ-инфекция на стадии выраженной иммуносупрессии диагностирована у 220 пациентов — 44,7 % (95 % ДИ: 40,4–49,1) случаев. Выраженная иммуносупрессия у пациентов с первично выявленным заболеванием ассоциировалась с наличием 3-й и 4-й клинических стадий ВИЧ-инфекции (OR — 2,9; 95 % ДИ 2,0–4,3), более высокой частотой туберкулеза (OR — 3,02; 95 % ДИ: 1,6–5,7) и летальных исходов (OR — 3,4; 95 % ДИ 1,5–7,5), более медленным приростом Т-хелперов и ИРИ.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, поздняя диагностика, иммуносупрессия, летальность.

Objective: to present the features of the course and outcomes of HIV infection diagnosed at the stage of pronounced immunosuppression.

Material and methods. Based on the primary CD4 + T-lymphocytes count, 492 patients living with HIV were divided into 2 groups: group 1 — 220 patients (CD4 + TL less than or equal to 350 cells/μl), group 2 — 272 patients (CD4 + TL more than 350 cells/μl). The statistical analysis was performed using the package «Statistica» v.10.