



<https://doi.org/10.34883/PI.2026.29.2.011>
УДК 616.98:579.873.21:616.24-002.828



Богуш Л.С.¹✉, Асташок А.Н.², Рузанов Д.Ю.¹, Степук Т.Ю.², Полещук Н.Н.²,
Богданович Н.И.¹, Слипень В.В.¹

¹ Республиканский центр пульмонологии и фтизиатрии, Минск, Беларусь

² Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья,
Минск, Беларусь

Морфологические характеристики вирулентных штаммов нетуберкулезных микобактерий в сопоставлении с клиническими проявлениями микобактериозов легких

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования – Богуш Л.С., Полещук Н.Н., Рузанов Д.Ю.; формулирование научной гипотезы – Богуш Л.С., Асташок А.Н.; лабораторные исследования нетуберкулезных микобактерий – Слипень В.В., Богданович Н.И.; разработка и модификация методики культивирования и подготовки образцов к микроскопии – Слипень В.В., Богданович Н.И., Асташок А.Н.; подготовка образцов для атомно-силовой микроскопии – Слипень В.В., Богданович Н.И.; техническое сопровождение электронной микроскопии – Степук Т.Ю.; проведение атомно-силовой микроскопии, обработка и визуализация данных, анализ и интерпретация данных атомно-силовой микроскопии – Асташок А.Н.; написание текста рукописи – Богуш Л.С., Асташок А.Н.; редактирование и научное руководство – Полещук Н.Н., Рузанов Д.Ю.

Подана: 12.03.2026

Принята: 16.04.2026

Контакты: ludabogush@mail.ru

Резюме

Введение. Заболеваемость инфекциями, вызванными нетуберкулезными микобактериями (НТМ), неуклонно растет, при этом микобактериоз легких (МЛ) характеризуется хроническим течением и ограниченной эффективностью терапии. Существенный вклад в вариабельность клинического течения и лекарственной устойчивости вносят биологические особенности возбудителя, включая организацию клеточной стенки и способность к формированию биопленок. Особый интерес представляют амилоидоподобные белки, способные к формированию β -складчатых структур, однако их роль в патогенезе остается недостаточно изученной.

Цель. Изучить морфологические характеристики вирулентных штаммов НТМ и сопоставить их с клиническими проявлениями МЛ.

Материалы и методы. Исследованы 30 культур НТМ, выделенных у пациентов с верифицированным МЛ. Выполнена стратификация результатов клинического, рентгенологического исследований в динамике пациентов с МЛ по группам тяжести (легкая, средней тяжести, тяжелая). Дополнительно изучены два штамма *M. abscessus*, формирующие S-колонии (11851) и R-колонии (9189) при культивировании на среде Middlebrook agar с конго красным. Наноскопический анализ выполнен методом атомно-силовой микроскопии с оценкой топографии, шероховатости и характеристик белковых агрегатов.

Результаты. В исследование включено 30 пациентов (Me=59 лет); преобладали женщины (63,3%). Медиана длительности заболевания составила 39 месяцев.

Большинство случаев соответствовали среднетяжелому течению (70,0%). Выделено 8 видов НТМ, среди которых *M. avium* и *M. gordonae* встречались наиболее часто (по 20,0%). Тяжелое течение отмечено при инфекциях, вызванных *M. avium*, *M. xenopi*, *M. gordonae*, *M. abscessus* и *M. fortuitum*.

Показано, что морфотипы *M. abscessus* существенно различаются по архитектуре внеклеточного матрикса. S-штамм формирует незрелый гранулярный матрикс без выраженных амилоидных фибрилл. R-штамм образует структурированный матрикс с многоклеточными кластерами, каналами и полостями. Для R-морфотипа характерно формирование амилоидоподобных фибрилл, соответствующих конгофильным структурам. Поверхность матрикса более неоднородна ($R_{sk} = -0,72$) по сравнению с S-штаммом ($R_{sk} = 0,4$). Амилоидные агрегаты имели размеры 17–44 нм (ширина) и 3–4 нм (высота) и включали фибриллярные и глобулярные формы.

Заключение. Шероховатый морфотип *M. abscessus* ассоциирован с формированием высокоорганизованного амилоид-содержащего матрикса, что может способствовать повышенной устойчивости и вирулентности. Наноскопический анализ биопленок представляет перспективный подход для оценки патогенного потенциала и прогноза течения инфекции. Характер патологического процесса и тяжесть течения МЛ могут различаться даже в пределах одного вида НТМ, что может быть связано с морфологическими особенностями определенного штамма.

Ключевые слова: нетуберкулезные микобактерии, морфологические характеристики видов, степень тяжести микобактериоза легких, атомно-силовая микроскопия, биопленка, амилоидные белки

Bogush L.¹✉, Astashonok A.², Ruzanov D.¹, Stepuk T.², Poleshchuk N.², Bogdanovich N.¹, Slizen V.¹

¹ Republican Center for Pulmonology and Phthisiology, Minsk, Belarus

² Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Minsk, Belarus

Morphological Characteristics of Virulent Strains of Non-Tuberculous Mycobacteria in Relation to Clinical Manifestations of Non-Tuberculosis Pulmonary Disease

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: study concept and design – Bogush L., Poleshchuk N., Ruzanov D.; scientific hypothesis formulation – Bogush L., Astashonok A.; laboratory studies of non-tuberculous mycobacteria – Slizen V., Bogdanovich N.; development and modification of the method for culturing and preparing samples for microscopy – Slizen V., Bogdanovich N., Astashonok A.; preparation of samples for atomic force microscopy – Slizen V., Bogdanovich N.; technical support of electron microscopy – Stepuk T.; conducting atomic force microscopy, processing and visualization of data – Astashonok A.; analysis and interpretation of atomic force microscopy data – Astashonok A.; writing the manuscript – Bogush L., Astashonok A.; editing and scientific supervision – Poleshchuk N., Ruzanov D.

Submitted: 12.03.2026

Accepted: 16.04.2026

Contacts: ludabogush@mail.ru

Abstract

Introduction. The incidence of infections caused by non-tuberculous mycobacteria (NTM) is steadily increasing worldwide, while pulmonary mycobacteriosis is characterized

by chronic progression and limited treatment efficacy. Variability in clinical outcomes and drug resistance is largely driven by pathogen-specific traits, including cell wall organization and biofilm formation. Amyloid-like proteins capable of forming β -sheet structures have recently attracted attention; however, their role in pathogenesis remains poorly understood.

Purpose. To investigate morphological characteristics of virulent NTM strains and correlate them with clinical manifestations of pulmonary mycobacteriosis.

Materials and methods. Thirty NTM isolates obtained from patients with confirmed pulmonary mycobacteriosis were analyzed. The results of clinical and radiological studies of patients with ML in dynamics were stratified according to severity groups (mild, moderate, severe). Two *Mycobacterium abscessus* strains forming smooth (S, strain 11851) and rough (R, strain 9189) colonies on Middlebrook agar supplemented with Congo red were selected for in-depth analysis. Nanoscale characterization was performed using atomic force microscopy, including assessment of surface topography, roughness, and structural parameters of protein aggregates.

Results. The study included 30 patients (median age 59 years), predominantly female (63.3%). The median disease duration was 39 months, with most cases classified as moderate (70.0%). Eight NTM species were identified, with *M. avium* and *M. gordonae* being the most prevalent (20.0% each). Severe disease was associated with infections caused by *M. avium*, *M. xenopi*, *M. gordonae*, *M. abscessus*, and *M. fortuitum*.

Distinct differences in extracellular matrix architecture between *M. abscessus* morphotypes were observed. The S-type strain formed an immature, relatively homogeneous granular matrix lacking pronounced amyloid fibrils. In contrast, the R-type strain developed a highly structured matrix with multicellular clusters, channels, and cavities.

The R morphotype exhibited amyloid-like fibrillar structures corresponding to Congo red-positive formations. Its matrix surface showed higher heterogeneity ($R_{sk} = -0.72$) compared to the smoother S-type ($R_{sk} = 0.4$). Amyloid aggregates ranged from 17–44 nm in width and 3–4 nm in height and included both fibrillar and globular-vesicular forms.

Conclusions. The rough morphotype of *M. abscessus* is associated with the formation of a highly organized amyloid-containing matrix, potentially contributing to increased virulence and antimicrobial tolerance. Nanoscale analysis of biofilms represents a promising approach for assessing pathogenic potential and predicting disease progression. The nature of the pathological process and the severity of the course of ML may vary even within one type of NTM, which may be associated with the morphological characteristics of a particular strain.

Keywords: non-tuberculous mycobacteria, morphological characteristics of species, severity of non-tuberculosis pulmonary disease, atomic force microscopy, biofilm, amyloid proteins

■ ВВЕДЕНИЕ

Сегодня проблема инфицирования человека нетуберкулезными микобактериями (НТМ) является актуальной во всем мире [1–5]. Системные обзоры эпидемиологических данных свидетельствуют о постоянном росте случаев микобактериоза в популяциях со средней скоростью 1 случай на 100 тыс. населения в год [1–5].

В развитых странах эта тенденция наблюдается на фоне значительного снижения распространенности и заболеваемости туберкулезом [1–5]. С момента регистрации случаев микобактериозов в Республике Беларусь, а именно с 2022 г. наблюдается неуклонный рост случаев доказанного микобактериоза, который на конец 2025 г. составил 649 пациентов, или 7,1 на 100 тыс. населения (Кроткова Е.Н., 2026).

Активное выявление микобактериозов стало возможным в условиях появления современных методов лабораторной диагностики. На сегодняшний день благодаря молекулярно-генетическим методам диагностики в мире идентифицировано более 200 различных видов НТМ, 68 из которых имеют клиническое значение. НТМ – это широко распространенные в окружающей среде бактерии, обладающие условно-патогенным характером и широким спектром вирулентности. Чаще всего НТМ колонизируют и вызывают инфекцию нижних дыхательных путей, или микобактериоз легких (МЛ), у иммунокомпрометированных лиц и/или у лиц с нарушением мукоцилиарного клиренса [1–5].

Особенности клинической картины МЛ, а именно склонность к хроническому прогрессирующему течению, степень тяжести и исход воспалительного процесса, связаны не только с состоянием макроорганизма, но и с особенностями микроорганизма [1–6, 8–10]. Биологическая гетерогенность микробов группы НТМ, их меняющаяся вирулентность и набор свойств, формирующих резистентность к антибактериальным лекарственным препаратам (АБП), имеют влияние на характер патологического процесса и эффективность лечения пациентов с МЛ [1–6].

Морфологические характеристики НТМ до конца не изучены [1]. Классификация НТМ, предложенная американским ученым Эрнестом Руньоном в 1959 г., разделяла виды в зависимости от скорости роста и способности продуцировать пигменты при наличии или отсутствии света [7]. В настоящее время клиницистами чаще используется классификация НТМ по двум группам в зависимости от скорости роста на питательных средах: медленнорастущие (≥ 7 дней) и быстрорастущие микобактерии (образующие колонии менее чем за 7 дней). Различия между видами НТМ устанавливаются молекулярно-генетическими методами идентификации через выявление различий в структуре р-РНК [1–5].

По итогам 10-летнего мониторинга видового разнообразия НТМ, проводимым Республиканской референс-лабораторией государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии», установлено, что МЛ у нас в стране чаще вызывают такие медленнорастущие виды, как *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. xenopi*, *M. gordoniae*, и быстрорастущие – *M. abscessus*, *M. fortuitum*, *M. chelonae* [2].

Установлено, что различные виды НТМ отличаются как по вирулентности, так и по резистентности к АБП [1, 9, 10, 15–17]. Например, штаммы *M. abscessus* характеризуются высокой лекарственной устойчивостью (ЛУ) и проявляют феномен гипервирулентности, который может привести к прогрессированию МЛ и последующему неблагоприятному прогнозу [1, 13, 17]. Характер течения патологического процесса, вызываемый НТМ различных видов, не является однотипным: может быть затяжным с волнообразными обострениями или носить регрессивный характер на фоне выраженного склерозирования бронхоальвеолярного комплекса [1, 9, 10].

Одним из факторов вирулентности НТМ является уникальное строение ее клеточной стенки в несколько слоев, состоящих из липидов и С-микозид-пептидов,

объединенных названием гликопептидолипиды (ГПЛ). ГПЛ клеточной стенки микобактерий участвуют в формировании биопленки, защищающей колонию НТМ от внешнего воздействия. Структура биопленок НТМ очень сложна. В матриксе *M. abscessus* выявили присутствие не только белков, липидов и углеводов, но и внеклеточной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), которая обеспечивает адгезию к поверхностям и облегчает бактериальную агрегацию. Формирование биопленок также вносит свой вклад в развитие ЛУ, в основе которой лежат их структурные особенности [1, 11–17].

Способность НТМ образовывать биопленки в тканях и ингибировать выработку воспалительных цитокинов представляет собой механизмы, которые подавляют клеточно-опосредованный иммунитет хозяина, тем самым способствуя колонизации и последующему вторжению в бронхиальный эпителий [1, 11–17]. В ответ на инфицирование макрофаги и фибробласты хозяина инициируют продукцию фиброзирующих цитокинов, таких как трансформирующий фактор роста β -1 (TGF- β -1), фактора роста соединительной ткани (ФРСТ), а также амилоидоподобных белков с β -складчатой структурой, из-за чего эластичность легочной ткани резко падает. Нарушение пластичности легких напрямую связана с фенотипическими и молекулярно-генетическими характеристиками патогена [11–17]. При этом вопрос уровня экспрессии у различных видов НТМ пристеночных амилоидоподобных белков и их полимеризации в β -складчатую наноструктурную организацию при репродукции возбудителей в легочной ткани остается не вполне изученным. Данные биомаркеры актуальны для оценки патогенного потенциала НТМ, включая особенности формирования биопленок, уровень адгезивных свойств микроорганизмов, механизмы фенотипической устойчивости к антибактериальным препаратам. Кроме того, продукция β -амилоидов различными видами НТМ определяет степень выраженности ответа иммунокомпетентных клеток и характер воспаления в легочной ткани.

■ ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить морфологические характеристики вирулентных штаммов НТМ и сопоставить их с клиническими проявлениями МЛ.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен ретроспективный анализ 30 случаев МЛ, подтвержденного в соответствии с международными критериями IDSA/ATS 2020 и действующим клиническим протоколом «Диагностика и лечение микобактериоза легких (взрослое население)». Пациенты проходили обследование в клинике государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии». С целью определения клинической формы (диссеминированная, очаговая, инфильтративная, бронхоэктатическая, кавернозная, фиброзно-кавернозная) и характера течения (регрессирующее, волнообразное, прогрессирующее) МЛ проводилась оценка патологического процесса по данным компьютерной томографии органов грудной клетки (КТ ОГК) в динамике до лечения, а затем выполнялась стратификация по группам тяжести (легкая, средней тяжести, тяжелая).

За МЛ легкой степени тяжести принимали случаи с очаговой формой регрессирующего или волнообразного характера течения; за МЛ тяжелого течения принимали МЛ с бронхоэктатической, или кавернозной, или фиброзно-кавернозной формой

с признаками прогрессирования и наличием осложнений. Остальные случаи МЛ относили к средней степени тяжести.

Результаты клинического исследования сопоставляли с данными микробиологического и наноскопического анализа культур НТМ.

Микробиологический анализ

Для выявления и видовой идентификации НТМ использовали замороженный биоматериал из музея Республиканской референс-лаборатории (мокрота, бронхоальвеолярная лаважная жидкость и др.), который культивировали на плотных и жидкой питательной средах. Выделение НТМ проводили на среде Левенштейна – Йенсена и жидкой питательной среде Миддлбука 7H10 Agar Base с добавлением селективной добавки Himedia «Ростовая добавка ADC для микобактерий», а также антибиотиков для предотвращения контаминации. При оценке динамики формирования амилоидоподобных структур вносили в питательную среду конго красный. Критериями микробиологической характеристики колоний НТМ являлись: 1) размер колоний (мелкие – 1–2 мм; средние – 2–4 мм; крупные – 4–6 мм); 2) форма; 3) характер контуров краев (фестончатый, волнистый, эрозированный или зубчатый, бахромчатый; 4) рельеф; 5) поверхность (гладкие, шероховатые, диссоциативные); 6) цвет.

В случае роста культуры микобактерии на плотной или жидкой среде выполняли идентификацию НТМ методом гибридизации с ДНК-зондами (LPA). ДНК НТМ выделяли с использованием GenoLyse (Hain Life Science, Германия), используя тест-системы GenoType Mycobacterium CM/AS (Hain Life Science, Германия), лекарственную чувствительность определяли тест-системой GenoType Mycobacterium NTM-DR Hain Life Science, Германия).

Наноскопический анализ

Использовали биочипы на основе слюды (пластины размером 7×15 мм). Поверхность биочипа подвергалась химической модификации для формирования аминогрупп (NH_2^+) с использованием аминопропилтриэтоксисилана (АПТЭС). Первоначально готовили 50 мМ исходного маточного раствора АПТЭС на бидистиллированной воде. Далее полученный раствор разводили в соотношении 1 : 300 в бидистиллированной воде (45 мкл АПТЭС : 15 мл H_2O) для получения рабочей концентрации АПТЭС. Для получения биочипа слюду разрезали на серию кусочков размером (1,2×3 см), помещали в специальные пластиковые кюветы (ванночки) и заливали рабочим раствором АПТЭС, инкубировали в течение 60 минут при комнатной температуре с последующей отмывкой в этаноле. После отмывки биочип высушивали. Использование такой модификации слюды позволило изменить состав химически активных групп ее поверхности (заменить гидроксильные группы на аминогруппы). С целью дополнительной модификации и гидрофилизации поверхности слюды использовали двухвалентный Mg (Mg^{2+}). Для этого после силанизации слюду выдерживали в течение 40 мин. в 10 мМ растворе MgSO_4 , а затем высушивали при комнатных условиях.

На активированную поверхность биочипов адсорбировали аликвоту микобактерий (70–100 мкл), предварительно дезактивированных 2,5% глутаровым альдегидом. Топографические изображения микобактерий, нанесенных на слюдяную поверхность, получали на микроскопе Nanoscope IIIa MultiMode (Bruker, США),



оборудованном J-сканером. Частота строчной развертки при получении изображения варьировала от 1 до 5 Гц. Разрешающая способность метода при сканировании образцов составляла примерно 0,1–1 нм по горизонтали и 0,01 нм по вертикали. Обработку изображений осуществляли с использованием модуля NanoScore Analysis (версия 2.0). В работе использовали контактные 100- и 200-мкм кантилеверы Nanoprobe (Bruker, США) из Si₃N₄ с константами упругости 0,12 и 0,36 Н/м и тейпинговые зонды серии NSC15/Al BS (константа жесткости – 3 Н/м, резонансная частота – 60 кГц, радиус – <10 нм).

По результатам наноскопического анализа оценивали следующие параметры: 1) адгезию различных морфоваров на биочипах; 2) коэффициент асимметрии белковых кластеров (R_{sk}) на поверхности *M. abscessus*; 3) продукцию амилоидоподобных структур в краевой зоне НТМ в виде глобулярных агрегатов типа «курли» в составе биопленки.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Клинико-анамнестическая характеристика пациентов

В исследование было включено 30 пациентов с МЛ в возрасте от 29 до 75 лет, Me=59 лет. Процентное соотношение мужчин к женщинам составляло 36,7% к 63,3%. Большинство пациентов группы были жителями города 22 (73,33%), домашних животных имели 6 (20,00%) человек, курили 10 (33,33%) пациентов. Обращало на себя внимание, что большинство пациентов были младше пенсионного возраста – 60,00%. Медианой продолжительности заболевания с момента постановки диагноза были 39 месяцев, причем минимальный период диспансерного наблюдения по поводу МЛ составил 36 месяцев, а максимальный – 43 месяца (табл. 1).

Хронические заболевания органов дыхания с нарушением архитектоники легочной ткани и/или бронхов имели 19 (63,33%) пациентов, причем у 56,67% из них

Таблица 1
Характеристика пациентов с микобактериозом легких ретроспективной группы, n=30
Table 1
Characteristics of patients with NTM-PD, n=30

Характеристики	Результаты
Возраст на момент постановки диагноза, mediana (min, max), лет	59 (29; 75)
Продолжительность заболевания, median (min, max), мес.	39 (36; 43)
Мужчины (абс., уд. вес %)	11 (36,67)
Женщины (абс., уд. вес %)	19 (63,33)
Пациенты старше пенсионного возраста (абс., уд. вес %)	12 (40,00)
Пациенты младше пенсионного возраста (абс., уд. вес %)	18 (60,00)
Жители города / сельской местности (абс., уд. вес %)	22/8 (73,33/26,67)
Наличие домашних животных (абс., уд. вес %)	6 (20,00)
Сезонные сельхоз. работы (абс., уд. вес %)	26 (86,67)
Курение (абс., уд. вес %)	10 (33,33)
Наличие сопутствующих хронических заболеваний	20 (66,66)
Наличие 2 и более хронических заболеваний	15 (50,00)
Наличие сопутствующих хронических БОД (абс., уд. вес %)	19 (63,33)
ИМТ <18 кг/м² (%)	1 (1,66)
Всего (абс., уд. вес %)	30 (100)

в анамнезе имелись сведения о наличии 2 и более БОД. В анализируемой группе пациенты с МЛ имели: бронхоэктатическую болезнь, хроническую обструктивную болезнь легких, большие остаточные изменения после перенесенного туберкулеза легких, вторичные бронхоэктазы, поствоспалительный пневмофиброз.

Сопутствующую хроническую патологию имели 20 (66,66%) пациентов, причем у 50,00% из них диагностировано 2 и более хронических заболевания, наиболее распространенными из которых были ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия, злокачественные новообразования различной локализации, заболевания желудочно-кишечного тракта.

По данным результатов лабораторного исследования показателей активного воспалительного процесса у пациентов группы наблюдались: лейкоцитоз – в 23,33% случаев, нейтрофильный – в 20,00% случаев, лимфоцитоз – в 10,00%, причем моноцитоз фиксировался в 36,67% случаев (большой частью относительный – 26,67%). Повышение СОЭ встречалось в 73,33% случаев, а комбинация повышенного СОЭ и С-реактивного белка (СРБ) – в 56,67% случаев. Обращало на себя внимание, что в группе исследования прокальцитонин (ПКТ) превышал норму только в 6,67% случаев. Медианы показателей с минимальными и максимальными значениями, а также распределение их по группам со значениями, превышающими норму, нормальными и ниже нормы, в процентах, представлены в табл. 2.

Проведен анализ данных КТ ОГК в исследуемой группе и выделены ведущие рентгенологические синдромы у пациентов с МЛ. Как следует из табл. 3, наиболее распространенными являлись узелки в паренхиме легких в сочетании с признаками поражения мелких бронхов (синдром «дерево в почках») – 90,00% и двусторонние бронхоэктазы, концентрирующиеся в языковых сегментах обоих легких – 86,66%. Признаком хронического рецидивирующего воспалительного процесса являлся плевропневмофиброз, обнаруженный у 73,33% пациентов на фоне других синдромов, а признаком активного агрессивного деструктивного процесса явилось образование полостей распада – у 36,70% пациентов. Внутригрудная лимфаденопатия (ВГЛА) найдена у одного пациента группы. Обращает на себя внимание, что у пациентов с МЛ при рентгенологическом исследовании почти в половине случаев (48,33%) имело место наличие двух и более патологических синдромов в легких.

Таблица 2
Характеристика лабораторных показателей пациентов с микобактериозом легких ретроспективной группы, n=30

Table 2
Characteristics of laboratory parameters of patients with NTM-PD in a retrospective group, n=30

Показатели	Me	Min	Max	%↑	% N	%↓
WBC (*10 ⁹ /L)	7,09	3,92	17,17	23,33	73,33	3,33
RBC (*10 ¹² /L)	4,70	3	5,61	13,33	73,33	13,33
Hb (g/l)	130,35	90,2	168,1	6,67	53,33	40,00
NEUT палочкоядер. (%)	2,00	0	9	20,00	60,00	20,00
NEUT сегментоядер. (%)	54,00	36	79	10,00	73,33	16,67
LYM (*10 ⁹ /L)	1,95	1,13	4,25	10,00	86,67	3,33
MONO (*10 ⁹ /L)	0,56	0,35	1,64	36,67	63,33	0,00
СОЭ (мм/ч)	40,00	7	112	73,33	26,67	–
СРБ (mg/l)	11,05	0,2	190,1	56,67	43,33	–
ПКТ (ng/ml)	0,05	0,01	0,32	6,67	73,33	–

**Таблица 3****Характеристика результатов рентгенологического исследования легких пациентов с микобактериозом легких ретроспективной группы, n=30****Table 3****Characteristics of the results of radiographic examination of the lungs of patients with NTM-PD, n=30**

Рентгенологические синдромы	Пациенты, абс. (%)
Узелки / «дерево в почках»	27 (90,00)
Бронхоэктазы	26 (86,66)
Плевропневмофиброз	22 (73,33)
Полость распада	11 (36,70)
Инфильтраты	6 (20,00)
ВГЛА	1 (3,33)

На основании преимуществ более тяжелых деструктивных патологических изменений в тканях легких и бронхов (бронхоэктазов, полостей) пациентам группы установлены 4 клинические формы МЛ (табл. 4). Пациенты группы имели инфильтративную (20,00%), бронхоэктатическую (43,33%), и полостную (36,66%) клинические формы.

На основании динамического рентген-контроля в течение 3 лет (КТ ОГК с шагом через 6 или более месяцев) установлено, что большинство пациентов (76,66%) имели признаки волнообразного течения (смешанная динамика). При сопоставлении результатов рентгенологического исследования с предыдущими оказалось, что большинство пациентов исследуемой группы – 72% – имели признаки волнообразного воспалительного процесса в динамике. Отрицательная рентген-динамика заключалась в увеличении количества и размера патологических элементов воспаления (узелков, инфильтратов, полостей) и обнаружена у 20,00% пациентов. Признаки регрессирующего течения МЛ зафиксированы у 1 пациента группы.

Нарушения функции внешнего дыхания при выполнении спирометрии с бронхолитическим тестом выявлены у 18 (60,00%) пациентов группы. Анализ результатов исследования показал, что у 10 пациентов (33,33%) нарушение дыхания были по обструктивному типу, у 2 (6,66%) – по рестриктивному типу, у 6 пациентов (20,00%) – по смешанному типу, а у 14 пациентов с МЛ (33,33%) нарушения зафиксированы не были.

Таблица 4**Характеристика результатов рентгенологического исследования легких пациентов с микобактериозом легких ретроспективной группы, n=30****Table 4****Characteristics of the results of radiographic examination of the lungs of patients with NTM-PD, n=30**

Клиническая форма МЛ	Пациенты, абс., %
Инфильтративная	6 (20,00)
Бронхоэктатическая	13 (43,33)
Полостная	11 (36,66)
Характер течения МЛ	Пациенты, абс., %
Регрессирующее	1 (3,33)
Волнообразное	23 (76,66)
Прогрессирующее	6 (20,00)
Тяжесть течения МЛ	Пациенты, абс., %
Легкая	1 (3,33)
Средняя	21 (70,00)
Тяжелая	8 (26,66)

При стратификации результатов клинико-лабораторного и инструментально-го исследований пациенты распределены по трем группам тяжести МЛ: легкая – 1 (3,33%), средняя – 21 (70,00%) и тяжелая – 8 (26,66%).

Микробиологический анализ

Результаты микробиологического исследования показали, что МЛ в данной группе был вызван представителями медленнорастущих НТМ в 76,77% и представителями быстрорастущих НТМ в 23,33% случаев (табл. 5).

На основании оценки скорости роста и видовой идентификации микобактерий установлено, что пациенты ретроспективной группы выделяли 8 клинически значимых видов НТМ из мокроты: медленнорастущие – 6 видов, потенциально патогенные: *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. gordonae*, *M. szulgai*; быстрорастущие – 2 вида: *M. abscessus*, *M. fortuitum* (табл. 5).

При оценке видового разнообразия культур НТМ в ретроспективной группе установлено, что нетуберкулезные микобактерии, относящиеся к *Mycobacterium avium* complex MAC, выделяли у 10 (33,33%) пациентов с МЛ, в том числе *M. avium* – 6 (20,00%), *M. intracellulare* – 4 (13,33%).

Из числа других медленнорастущих НТМ в группе ретроспективного наблюдения идентифицировали: *M. kansasii* – у 3 (10,00%) пациентов с МЛ, *M. xenopi* – у 3 (10,00%) пациентов с МЛ, *M. gordonae* – у 6 (20,00%) пациентов с МЛ, *M. szulgai* – у 1 (3,33%) пациента с МЛ.

Из числа быстрорастущих НТМ в группе ретроспективного наблюдения идентифицировали: *M. abscessus* – у 3 (10,00%) пациентов с МЛ, *M. fortuitum* – у 4 (13,33%) пациентов с МЛ.

При сопоставлении вида НТМ со степенью тяжести МЛ, обнаружено, что большинство (7 из 8) быстро- и медленнорастущих патогенов, выделенных в группе исследования, сопровождали формирование хронического воспалительного процесса с волнообразным течением средней степени тяжести. Тяжелое течение зафиксировано у МЛ, вызванных *M. avium*, *M. xenopi*, *M. gordonae*, *M. abscessus*, *M. fortuitum* (табл. 6). Обращает на себя внимание, что у МЛ, вызванного быстрорастущей *M. fortuitum*, у разных пациентов возможным оказалось развитие и легкого, и тяжелого течения.

Таблица 5
Характеристика видов выделенных нетуберкулезных микобактерий у пациентов с микобактериозом легких

Table 5
Characteristics of the types of isolated NTM cultures in patients with NTM-PD, n=30

Виды НТМ	n (%)
Медленнорастущие	23 (76,77)
<i>M. avium</i>	6 (20,00)
<i>M. intracellulare</i>	4 (13,33)
<i>M. kansasii</i>	3 (10,00)
<i>M. xenopi</i>	3 (10,00)
<i>M. gordonae</i>	6 (20,00)
<i>M. szulgai</i>	1 (3,33)
Быстрорастущие	7 (23,33)
<i>M. abscessus</i>	3 (10,00)
<i>M. fortuitum</i>	4 (13,33)



Таблица 6
Результаты сопоставления видов нетуберкулезной микобактерии с тяжестью течения
микобактериоза легких
Table 6
Results of comparison of types of NTM with the severity of the course of NTM-PD, n=30

Виды НТМ	Тяжесть течения, n (%)		
	Легкой степени	Средней степени	Тяжелой степени
M. avium	–	4 (13,33)	2 (6,66)
M. intracellulare	–	4 (13,33)	–
M. kansasii	–	3 (10,00)	–
M. xenopi	–	2 (6,66)	1 (3,33)
M. gordonae	–	5 (16,66)	1 (3,33)
M. szulgai	–	1 (3,33)	–
M. abscessus	–	2 (6,66)	1 (3,33)
M. fortuitum	1 (3,33%)	–	3 (10,00)

Проведенный светооптический анализ показал, что все патогены характеризовались кислотоустойчивостью и были представлены в виде тонких, прямых или слегка изогнутых палочек с незначительно закругленными концами.

Также для отдельных видов выявлены гранулированные микобациллы, расположенные поодиночке, в парах или группами. У отдельных бактерий при окраске по Цилю – Нильсену на однородно окрашенном фоне в цитоплазме можно было увидеть гранулы. При анализе препаратов культур также обращали на себя внимание отдельные морфологические особенности палочковидных форм. Возбудители (штаммы *M. abscessus*, *M. fortuitum*) располагались преимущественно в виде «стопок» палисаднолежащих клеток.

Особый интерес представляли результаты светооптического анализа культур *M. abscessus* ввиду их высокого патогенного потенциала и специфического окрашивания конго красным (табл. 7).

Таблица 7
Микробиологическая характеристика двух штаммов *M. abscessus*, выращенных на питательной среде с добавлением конго красного
Table 7
Microbiological characteristics of two strains of *M. abscessus* grown on a nutrient medium with the addition of Congo red

№ культуры	Вид НТМ	Анализируемые показатели колоний					
		Размеры, мм	Прозрачность	Характеристика колоний	Диссоциация на R-шероховатый и S-гладкий фенотип	Скорость роста	Цвет колоний на среде с добавлением конго красного
9189	<i>M. abscessus</i>	2–3	Непрозрачные	Сухие, морщинистые, похожие на маргаритку	R	7 дней	Розоватый
11851	<i>M. abscessus</i>	2–3	Непрозрачные	Слизистые, гладкие, блестящие	S	5 дней	Розоватый

Для углубленного анализа отобрано 2 разных штамма *M. abscessus*, дающих в чашечной среде с красителем конго красный в одном случае гладкие S-колонии (слизистые и/или блестящие, штамм 11851), а в другом – шероховатые (R-колонии), которые выглядели сухими, морщинистыми и матовыми с изрезанными краями, похожие на маргаритку (штамм 9189).

При сравнительном анализе клиническая характеристика МЛ, вызванных этими штаммами, оказалась не идентичной. Штамм *M. abscessus* 9189 был неоднократно получен из мокроты у пожилой полиморбидной пациентки А. 76 лет без дефицита массы тела (ИБС, атеротромботический инфаркт мозга, клинически излеченный туберкулез в 1987 г.) с консолидацией, осложненной плевритом. Патологический процесс в легких завершился формированием рубцового стеноза и фиброателектазом. Период наблюдения составил 28 месяцев. Согласно результатам исследования LPA (NTM-DR), штамм *M. abscessus* 11851 обладал устойчивостью к макролидам.

Штамм 11851 был неоднократно получен из мокроты пожилого полиморбидного пациента Д. 90 лет без дефицита массы тела и активных жалоб (ХОБЛ, ИБС, ХСН ФКЗ H2A, облитерирующий атеросклероз ПБА, ХАН II), имеющего единичные очаги и локальный плевропневмофиброз в течение 36 месяцев наблюдения на фоне устойчивого бактериовыделения. Согласно результатам LPA (NTM-DR), штамм *M. abscessus* 11851 обладал чувствительностью к макролидам и аминогликозидам.

Известно, что при культивировании *M. abscessus* на питательной среде с добавлением конго красного можно судить о патогенном потенциале микобактерий. Бактерии, формирующие шероховатые колонии, демонстрировали отчетливую конгофильность по сравнению с более гладкими аналогами гликопептидолипидов клеточной стенки. Шероховатый вариант также более гидрофобен, формирует биопленку с более плотным матриксом, имеющим склонность к формированию специфических тяжей, состоящих из амилоида. В то время как гладкий вариант образует более равномерно распределенный амилоидный матрикс в составе окружающей биопленки.

Наноскопический анализ фенотипа *M. abscessus* и структурированность амилоидов в матрице биопленки

Известно, что в биопленках могут располагаться как sessильные, так и транзиторные формы микобактерий. Основой биопленки является матрикс, в котором располагаются как глобулярные, так фибриллярные с β -складчатой структурой амилоиды, дающие в поляризационном свете характерное свечение.

Мы использовали наноскопический анализ как для характеристики различных морфовариантов *M. abscessus*, так и для анализа структурированности околочелочного матрикса формирующейся биопленки (рис. 1).

Установлено, что для *M. abscessus* (штамм 11851) отмечено формирование особого незрелого внеклеточного матрикса, который при светооптическом изучении на среде с конго красным выглядел как тонкая полупрозрачная пленка, покрывающая колонию. «Экзоцелочный матрикс» был представлен в виде гранулярного материала с участками, формирующими характерные ниши или ячейки, пронизанного трубчатыми структурами, в виде нанотрубок. Специфических амилоидных фибрилл с β -складчатой структурой не наблюдалось. Матрикс был довольно неоднородный с различными перепадами высот (от 200 до 700 нм). В самом матриксе отмечались свободнолежащие транзиторные бактерии палочковидной формы.

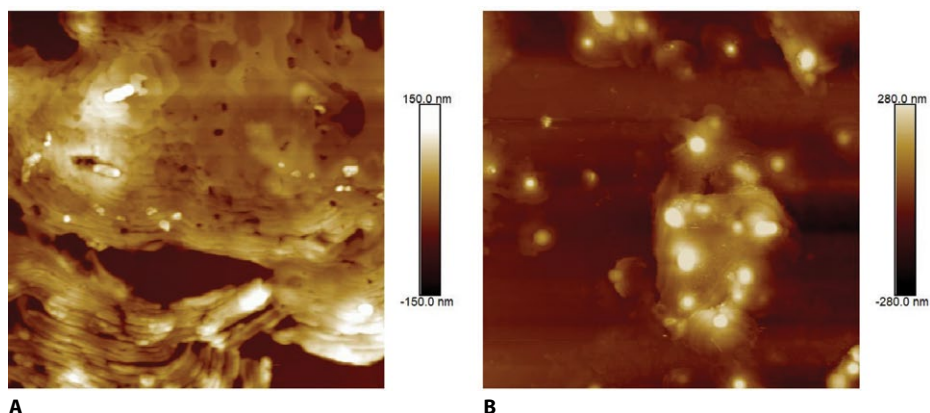


Рис. 1. Топографические изображения поверхности формирующегося матрикса биопленок при культивировании штаммов *M. abscessus*: А – штамм 11851; В – штамм 9189
Fig. 1. Topographic images of the surface of the forming biofilm matrix during cultivation of *M. abscessus* strains: А – strain 11851; В – strain 9189

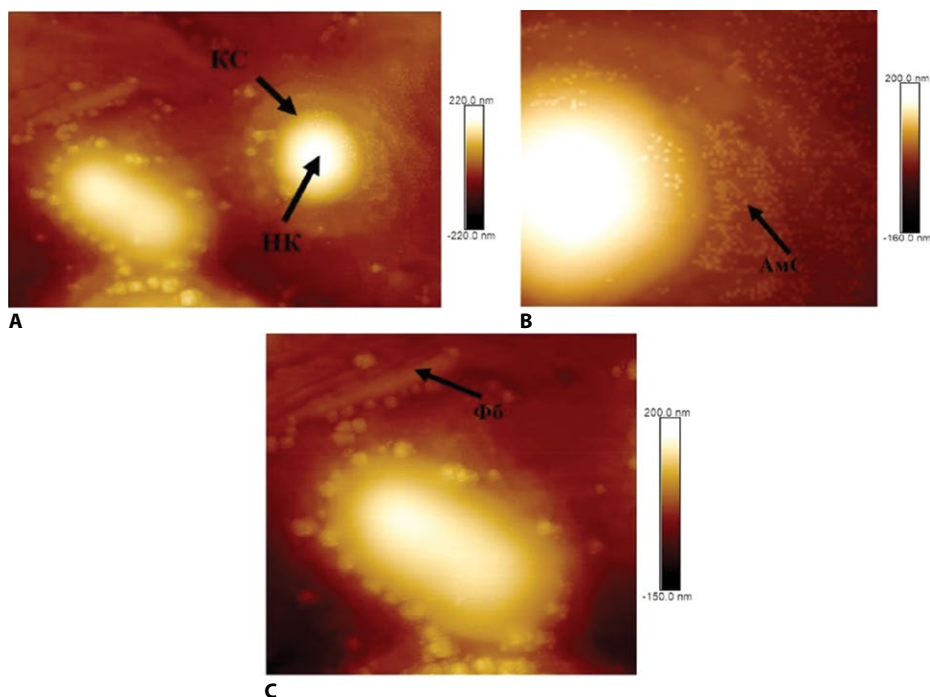


Рис. 2. Топографические изображения *M. abscessus* (штамм 9189), образующие в составе биопленок пристеночный экзоматрикс с амилоидоподобными структурами типа «курли»
Fig. 2. Topographic images of *M. abscessus* (strain 9189), forming a parietal exomatrix with amyloid-like structures of the "curli" type within biofilms

Примечания: АмС – амилоидоподобные структуры типа «курли»; КС – клеточная стенка; НК – нуклеоид; Фб – фибриллярные структуры.

Таблица 8
Линейные размеры (ширина – b, высота – h) агрегатов амилоидоподобных структур штаммов M. abscessus, измеренные на биочипах
Table 8
Linear dimensions (width – b, height – h) of aggregates of amyloid-like structures of M. abscessus strains, measured on biochips

№ культуры	Вид НТМ	Анализируемые показатели			
		Продукция матрикса	Rsk (параметр асимметрии поверхности)	Модуль жесткости	Линейные размеры амилоидоподобных структур (нм)
9189	M. abscessus	+	–0,72 (очень неоднородная поверхность)	3–5 пН/μм	* b – 17,21±2,9 нм, h – 3,3±1,9 нм
11851	M. abscessus	+	0,4 (более однородная поверхность без резких перепадов высот)	3–5 пН/μм	b – 44±2,7 нм, h – 3,8±1,1 нм

Примечание: * показаны средние арифметические значения (нм) и стандартные отклонения по результатам 40 независимых измерений.

Совершенно другой тип «экзоклеточного матрикса» отмечен для культуры M. abscessus (штамм 9189) (рис. 1B). Формирующийся матрикс имел вид поверхностного слизистого компонента, покрывающего колонию. Структура многоклеточных кластеров была представлена в виде грибоподобных, столбоподобных образований, «цементированных» в экзополисахаридный слой. Примечательно, что незрелый формирующийся матрикс был разделен каналами, а также имел многочисленные полости и пустоты, что указывало на возможность обмена нехромосомными факторами наследственности (плазмидами, транспозонами, инсерционными последовательностями). Бактерии в составе данного матрикса были представлены сложной полиморфной организацией с определенной цитоархитектоникой (выявлялись бактерии размером 200–400 нм, спороподобные и другие формы) (рис. 2).

Для M. abscessus (штамм 9189) было характерно образование белково-полисахаридного комплекса в виде особых тяжистых филаментозных фибрилл и глобул, соответствующих конгофильным образованиям при световой микроскопии (рис. 2C). Данные экзоструктуры мы также рассматриваем как амилоиды, обуславливающие фенотипическую резистентность к антибиотикам, и как фактор, ответственный за повышенную вирулентность возбудителя.

Для оценки возможности дифференциации амилоидопродуцирующих штаммов M. abscessus на следующем этапе проведена идентификация и дана оценка возможности верификации тонкой организации амилоидоподобных структур.

В табл. 8 представлены результаты измерения линейных размеров белковых агрегатов. Показано, что средний диаметр частиц варьировал до 79,2±17,4 нм (ширина) и 4,3±2,2 нм (высота).

Наноскопический анализ различных субструктур микобактерий (M. abscessus), выращенных на питательных средах с конго красным

Сканирование образцов в тейпинговом режиме показало различные типы архаичных субструктур. Наиболее многочисленным типом белковых наноразмерных

элементов были глобулы. Они характеризовались разрозненными или сцепленными в виде цепочек сферами диаметром 8–20 нм. В ряде работ указывалось, что эти «усеченные структуры» представляют собой продукты метаболической активности микобактерий, т. к. содержат остатки этерифицированной D-трегалозы, связанной с пептидогликаном и ГПЛ. Напротив, другие авторы считают, что сферы – это результат расщепления более длинных элонгированных структур типа амилоидных фибрилл. В проведенных исследованиях мы наблюдали сферические структуры, которые на сканах сохраняли участки, характерные как для амилоидов. Кроме того, на топограммах они визуализировались в виде наноразмерных пузырьков. Примечательно, что параметр асимметрии у различных штаммов *M. abscessus* значительно варьировал (от –0,72 до 0,4), что может говорить о неравномерном распределении белковых кластеров относительно центральной части поверхности бактерии и различиях в вирулентных свойствах штаммов.

Таким образом, полиморфные глобулярно-везикулярные структуры на поверхности и прилегающей биопленке *M. abscessus*, вероятнее всего, соответствуют амилоидам в ассоциации с такими продуцируемыми компонентами, как ГПЛ, гликаны и др.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

При сопоставлении результатов клинико-лабораторного и инструментального исследований с выделенным видом НТМ следует отметить значительную разбежку тяжести МЛ. Причины или обстоятельства, почему одни виды НТМ приводят к более глубоким структурным изменениям легочной ткани, а другие нет, остаются до конца не установленными [1, 9, 10, 13, 17]. По результатам нашего исследования, характер патологического процесса и тяжесть течения МЛ может различаться даже в пределах одного вида НТМ. Согласно опубликованным данным, частота каверн в легком при инфекциях, вызванных комплексом *M. avium*, может варьироваться от 14% до 65%, а при инфекциях, вызванных *M. abscessus*, – от 32% до 83% [9, 10, 13, 17]. Возбудитель *M. abscessus* в одних случаях вызывает МЛ с узловой бронхоэктазией, в других – фиброзно-кавернозной формой.

В качестве прогностических биомаркеров течения НТМ-инфекции по данным КТ ОГК могут быть наличие и/или отсутствие полостей в легких, патоморфоз и степень выраженности фиброза легочной ткани, наличие каверн, двусторонний характер поражения. Пациенты с НТМ-инфекцией, у которых отсутствуют полости, но имеются узлово-бронхоэктатические изменения, как правило, имеют более благоприятный прогноз и демонстрируют улучшенный ответ на терапию по сравнению с пациентами с полостями. Более того, наличие консолидаций в обоих участках легких, как правило, связано с менее благоприятным прогнозом [1, 9, 10, 13, 17].

Взаимосвязь вида НТМ и их вирулентного потенциала также имеет решающее значение в прогнозировании течения и исхода заболевания. Так, в отношении *M. abscessus* показано, что в пределах различных штаммов существует 2 морфотипа колоний возбудителя. Шероховатый морфотип *M. abscessus* часто ассоциируется с более инвазивной инфекцией и стойким, устойчивым к лечению заболеванием. У вида *M. abscessus* существует 2 морфологических фенотипа, контролируемых продуктом гена MAB_3167с. При его наличии *M. abscessus* демонстрирует шероховатый

тип колоний, характеризующийся шнуровидными микроколониями с более высокой тенденцией к образованию биопленок и проявляющий более высокую вирулентность. Отсутствие локуса гена MAB_3167с демонстрирует гладкий тип колоний с более округлыми и мелкими, небольшими колониями, с более низкой тенденцией к образованию биопленок и со снижением фенотипа вирулентности.

Известно, что амилоидоподобные белки после процессинга и секреции на поверхности клеточной стенки бактерий формируют β -складчатую структуру, хорошо окрашиваемую конго красным и дающую специфические свечения в поляризованном свете [13–17]. В случае гиперпродукции, самоорганизуясь, они образуют амилоидные фибриллы толщиной 7–10 нм с характерными перекрестами через 36–50 нм. Последние как фактор вирулентности визуализируются при электронной и атомно-силовой микроскопии.

Амилоидные фибриллы, распространяющиеся в биопленке, образуют матрикс, внутри которого локализуется множество цитотоксических субстанций, цитокинов, гликолипидных структур и других биологических активных компонентов, включая бактерии из других семейств и видов [13–17].

Известно, что усиление бактериями амилоидогенеза с продукцией поверхностных амилоидоподобных белков в виде «курли», которые в матриксе биопленок, самоорганизуясь, формируют амилоидные фибриллы с β -складчатой укладкой белков, является показателем увеличения вирулентных свойств патогена, включая такие показатели, как повышенная адгезивность, инвазивность и выживаемость в макрофагах [14–16]. Оценивая уровень продукции различных видов патологических экзогенных бактериальных амилоидов, можно как оценивать патогенный потенциал *M. abscessus*, так и прогнозировать степень и тяжесть повреждения легочной ткани у пациентов с различными формами фиброза.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для патогенности и вирулентности НТМ значение имеет не только ее вид, но и морфологические характеристики таких важных структур, как ГПЛ и биопленка культуры. Исследования микобактерий с помощью атомно-силовой микроскопии могут быть использованы для прогнозирования их патогенного потенциала по анализу количества продуцируемого конгофильного гломерулярного и структурированного в β -складчатую конформационную укладку белков амилоида.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Vasilyeva I.A., et al. *Mycobacteriosis*. Moscow: GEOTAR-Media. 2025; 152 p. (In Russian).
2. Bohush L., Ruzanov D., Davidovskaya E., et al. Dynamics of the prevalence of pulmonary mycobacteriosis in comparison with the prevalence of respiratory tuberculosis in the Republic of Belarus in 2022–2023. *Clinical infectology and parasitology*. 2025;14(1):34–44. (In Russian).
3. Prevots R., Marshall J.E., Wagner D., et al. Epidemiology of Nontuberculous Mycobacterial Pulmonary Disease: A Review. *Clin. Chest. Med.* 2023;44(4):675–721.
4. Dahl V.N., Molhave M., Floe A., et al. Global trends of pulmonary infections with nontuberculous mycobacteria: a systematic review. *Int. J. Infect. Dis.* 2022;125:120–131.
5. Kumar K., Loebinger M.R. Nontuberculous Mycobacterial Pulmonary Disease. Clinical Epidemiologic Features, Risk Factors, and Diagnosis: The Nontuberculous Mycobacterial Series. *Chest*. 2022;161(3):637–646. DOI: 10.1016/j.chest.2021.10.003
6. *Diagnosis and treatment of pulmonary mycobacteriosis (adult population): clinical protocol: approved by the Ministry of Health of the Republic of Belarus on April 09, 2025*. 22 p. (In Russian).
7. Runyon E.H. Anonymous mycobacteria in pulmonary disease. *Med. Clin. North Am.* 1959;43(1):273–90. DOI: 10.1016/S0025-7125(16)34193-1
8. Henkle E., Winthrop K.L. Nontuberculous mycobacteria infections in immuno- suppressed hosts. *Clin. Chest Med.* 2015;36(1):91–99. DOI: 10.1016/j.ccm.2014.11.002



9. Rocco J.M., Trani V.R. Mycobacterium avium and modulation of the host macrophage immune mechanisms. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 2011;15(4):447–52. DOI: 10.5588/ijtld.09.0695
10. Crilly N.P., Ayeh S.K., Karakousis P.C. The New Frontier of Host-Directed Therapies for Mycobacterium avium Complex. *Front. Immunol.* 2021;11:623119. DOI: 10.3389/fimmu.2020.623119
11. Esteban J., García-Coca N. Mycobacterium Biofilms. *Front. Microbiol.* 2018;8:2651. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02651
12. Saxena S., Spaink H.P., Forn-Cunl G. Drug Resistance in Nontuberculous Mycobacteria: Mechanisms and Models. *Biology.* 2021;10:96. <https://doi.org/10.3390/biology10020096>
13. López-Roa P., Esteban J., Muñoz-Egea M.C. Updated Review on the Mechanisms of Pathogenicity in Mycobacterium abscessus, a Rapidly Growing Emerging Pathogen. *Microorganisms.* 2022;11(1):90. DOI: 10.3390/microorganisms11010090
14. Ilina T., Romanov O.M. Bacterial biofilms: their role in chronic infectious processes and the search for ways to combat them. *Molecular genetics, microbiology and virology.* 2021;39(2):1–24.
15. Averbakh M. Immunopathology caused by atypical Mycobacterium avium Mycobacterium. *Medical immunology.* 2005;7(5–6):461–466.
16. Abukhaild N., Islam S., Ndeizede R., et al. Mycobacterium avium Subsp. hominissuis Interactions with Macrophage Killing Mechanisms. *Pathogens.* 2021;10(11):1365. DOI: 10.3390/pathogens10111365
17. Ryan K., Byrd T.F. Mycobacterium abscessus: Shapeshifter of the Mycobacterial World. *Front Microbiol.* 2018;9:2642. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02642