

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.24-002.5-036.22-085:579.873-576.385.5-539.2

Поступила в редакцию 11.06.2025

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-29-38>

Received 11.06.2025

**Н. В. Яцкевич<sup>1</sup>, А. Н. Асташонок<sup>2</sup>, А. Л. Иванова<sup>1</sup>, Е. М. Скрыгина<sup>1</sup>, Н. Н. Полещук<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии,  
Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, Минск, Республика Беларусь

## КЛИНИКО-ИНСТРУМЕНТАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕГОЧНЫХ ФОРМ ТУБЕРКУЛЕЗА И ПАРАМЕТРЫ НАНОСТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ МИКОБАКТЕРИЙ С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ

**Аннотация.** В работе проанализированы клинико-инструментальные особенности течения инфекционно-го процесса при туберкулезе (ТБ) легких, а также охарактеризованы архитектура и морфогенез *Mycobacterium tuberculosis*, обладающих множественной лекарственной устойчивостью/устойчивостью к рифампицину (МЛУ/РУ), в том числе пре-широкой лекарственной устойчивостью (пре-ШЛУ).

На базе РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии проведено проспективное нерандомизированное исследование, в которое было включено 40 пациентов (30 мужчин (75,0 %), 10 женщин (25,0 %)) в возрасте от 34 лет до 61 года с МЛУ/РУ-ТБ, пре-ШЛУ-ТБ. Проведен анализ результатов микробиологического исследования диагностического материала, клинико-рентгенологического обследования включенных пациентов. Изучена архитектура и морфогенез *M. tuberculosis*.

Установлено, что медиана (Ме) [IQR] времени конверсии культуры мокроты в группе пациентов с благоприятным исходом (БИ) составила 54,0 [32,0; 83,0] дня, с неблагоприятным исходом (НИ) – 101,0 [86,8; 188,3] дня ( $p < 0,0001$ ). Выявлены значимые различия в толщине слоя миколовых кислот при переходе от микобацилл (12 [10; 12] нм) к округлым морфовамам (30 [30; 37,5] нм,  $p < 0,0001$ ). Показано, что коэффициент жесткости поверхности микобактерий был значительно больше в группе пациентов с НИ лечения по сравнению с пациентами с БИ лечения: Ме – 58,3 [48,2; 67,6] пН/μм против Ме – 7,0 [5,2; 7,4] пН/μм. Коэффициент жесткости поверхности штамма *M. tuberculosis* (H37Rv), чувствительного к противотуберкулезным лекарственным препаратам, составил 5–7 пН/μм.

Показано, что среди палочковидных морфоваров микобактерий отмечается смещение механически жестких зон к середине бактериальной структуры. Изменения в архитектонике миколовых кислот, появление форм с жесткой оболочкой может коррелировать с вирулентностью микобактерий и клиническим течением заболевания.

**Ключевые слова:** диагностика, коэффициент жесткости, лекарственная устойчивость, туберкулез

**Для цитирования:** Клинико-инструментальная характеристика легочных форм туберкулеза и параметры наноструктурной организации микобактерий с множественной лекарственной устойчивостью / Н. В. Яцкевич, А. Н. Асташонок, А. Л. Иванова [и др.] // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2026. – Т. 23, № 1. – С. 29–38. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-29-38>

**Natalia V. Yatskevich<sup>1</sup>, Andrey N. Astashonok<sup>2</sup>, Anastasia L. Ivanova<sup>1</sup>, Elena M. Skryagina<sup>1</sup>, Nikolay N. Poleshchuk<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Phthiology, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Minsk, Republic of Belarus

## CLINICAL FEATURES OF PULMONARY TUBERCULOSIS AND NANOSTRUCTURAL CHARACTERISTICS OF MULTIDRUG-RESISTANT *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

**Abstract.** To analyze clinical and instrumental features of the infectious process course in pulmonary tuberculosis (TB) and to characterize of *Mycobacterium tuberculosis* with multidrug resistance/resistance to rifampicin (MDR/RR), pre-extensively drug resistance (pre-XDR) architectonics and morphogenesis.

A prospective non-randomized study was conducted at the RSPC for Pulmonology and Phthiology. 40 MDR/RR-TB, pre-XDR-TB patients (30 men (75.0 %), 10 women (25.0 %)) aged 34 to 61 years were included. The results of diagnostic material microbiological examination, clinical, chest X-ray examination of included patients were analyzed. The architectonics and morphogenesis of *M. tuberculosis* were studied.

Median (Me) [IQR] time to culture conversion in patients with favorable treatment outcome (FTO) was 54.0 [32.0; 83.0], with unfavorable treatment outcome (UTO) – 101.0 [86.8; 188.3] days ( $p < 0.0001$ ). Significant differences in mycolic acid layer thickness were found when transferring from mycobacilli (12 [10; 12] nm) to rounded morphovars (30 [30; 37.5] nm,  $p < 0.0001$ ). Mycobacterium surface stiffness coefficient was significantly higher in patients with UTO than in patients with FTO (Me – 58.3 [48.2; 67.6] pN/μm vs. Me – 7.0 [5.2; 7.4] pN/μm). The surface stiffness coefficient of the *M. tuberculosis* (H37Rv) strain, susceptible to anti-TB drugs, was 5–7 pN/μm.

Among bacillary mycobacteria morphovars there is a shift of mechanically rigid zones to the middle of the bacterial structure. Changes in the architectonics of mycolic acids, the appearance of forms with a rigid envelope may correlate with the virulence of mycobacteria and the clinical course of the disease.

**Keywords:** diagnostics, surface stiffness coefficient, drug resistance, tuberculosis

**For citation:** Yatskevich N. V., Astashonok A. N., Ivanova A. L., Skryagina E. M., Poleshchuk N. N. Clinical features of pulmonary tuberculosis and nanostructural characteristics of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Vesti Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2026, vol. 23, no. 1, pp. 29–38 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-1-29-38>

**Введение.** Туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью/рифампицин-устойчивый туберкулез (МЛУ/РУ-ТБ), в том числе с пре-широкой лекарственной устойчивостью (пре-ШЛУ-ТБ) представляет актуальную проблему здравоохранения в мире [1].

В Беларуси заболеваемость туберкулезом (ТБ) за последние 10 лет снизилась на 65,5 % (с 39,7 до 13,7 на 100 тыс. чел.), а смертность – на 79,8 % (с 4,0 до 0,81 на 100 тыс. чел.), однако республика по-прежнему входит в число 30 стран мира с высоким бременем МЛУ/РУ-ТБ и 18 стран высокого приоритета Европейского региона ВОЗ по ТБ в связи с высоким удельным весом МЛУ/РУ-ТБ. Среди впервые выявленных пациентов уровень МЛУ/РУ-ТБ в 2024 г. составил 34,7 %, среди ранее леченных – 61,4 %.

Организация лечения пациентов с МЛУ/РУ-ТБ является сложной задачей в связи с длительностью проводимой химиотерапии, ее недостаточной эффективностью и высокими рисками инфицирования для окружающих лиц. Эффективность режимов продолжительностью 18 месяцев низкая, составила 73 % в когорте 2018 г., что выше по сравнению со средним показателем по региону (56 % – в когорте 2018 г.) [1]. Высокая токсичность данных режимов химиотерапии МЛУ-ТБ способствует развитию нежелательных явлений и низкой приверженности пациентов к лечению.

В настоящее время в Республике Беларусь наряду с режимами лечения длительностью не менее 18 месяцев применяются 9- и 6-месячные режимы в рамках операционных исследований [2]. Ежемесячно у всех пациентов с МЛУ/РУ-ТБ проводится мониторинг эффективности и безопасности химиотерапии. Однако быстрых методов определения активности возбудителя ТБ с целью определения оптимальных сроков химиотерапии не разработано.

При длительной персистенции внутри макрофагов микобактерии могут скрытно размножаться, а также переходить в фазу отсутствия роста с реактивацией через несколько лет, когда происходит цитолиз клеток и развивается иммунный ответ с появлением клинических симптомов [3, 4]. Ранее нами показано, что «персистирующие формы» *Mycobacterium tuberculosis*, подвергаясь фенотипической трансформации, приобретают необычную форму, уменьшаясь до ультрамалых и дормантных форм размером 150–300 нм, не видимых в световой микроскоп [5].

Известно, что персистеры могут возникать как при первичном инфицировании, так и при неэффективной антибиотикотерапии [6]. Для персистеров не характерна генетическая резистентность. Механизм образования персистеров в виде палочковидных, кокковидных и ультрамалых форм у *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью изучен не в полной мере.

Неясно, как при формировании аномальных морфоформ распределяются поверхностные адгезины (миколовые кислоты, арабиногалактан). Нет информации о том, как эти поверхностные наноструктуры меняются, когда бактерия растет, делится и переходит в состояние персистера. Не вполне ясно, как фенотипическая изменчивость отражается на вирулентности, как выявляемые особенности помогут в выборе терапевтических воздействий и смогут ли они служить одним из диагностических и прогностических тестов при длительной терапии легочных форм ТБ.

Обозначенные нерешенные проблемы явились предметом исследований и обсуждения в нашей работе.

**Материалы и методы исследования.** На базе РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии проведено проспективное нерандомизированное исследование, в которое было включено 40 пациентов (30 мужчин (75,0 %), 10 женщин (25,0 %)) в возрасте от 34 лет до 61 года с МЛУ/РУ-ТБ, пре-ШЛУ-ТБ, которым было назначено лечение ТБ в соответствии со спектром лекарственной чувствительности возбудителя.

Диагноз активного ТБ легких был установлен на основании клинико-лабораторных данных: признаков интоксикации, респираторной симптоматики, рентгенологической картины, микробиологического исследования.

Исход лечения регистрировали в соответствии с критериями ВОЗ [7]: благоприятный исход (БИ) – при регистрации «Излечен» или «Лечение завершено», неблагоприятный исход (НИ) – при регистрации «Неудача лечения», «Потеря для последующего наблюдения» или «Смерть».

Выделение чистой культуры микобактерий осуществляли на плотной питательной среде (среда Левенштейна – Йенсена). Мазки для проведения микроскопии готовили из изолированных колоний, высушивали и окрашивали методом окраски по Цилю – Нильсену. При обнаружении менее 10 кислотоустойчивых бактерий (КУБ) методом микроскопии указывали их точное число в 100 полях зрения, в остальных случаях – в соответствии со следующей градацией: 1+ – от 1 до 99 КУБ в 100 полях зрения; 2+ – от 1 до 10 КУБ в 1 поле зрения; 3+ – более 10 КУБ в 1 поле зрения. Идентифицировали *M. tuberculosis complex* с применением иммунохроматографического метода, основанного на обнаружении белка МРТ64. В качестве эталонного образца использовали стандартный штамм *M. tuberculosis (H37Rv)*, чувствительный к противотуберкулезным лекарственным препаратам (ПТЛП).

*Электронно-микроскопический анализ.* Серийные ультратонкие срезы микобактерий просматривали в микроскопе JEM-1011 (Jeol, Япония). По результатам исследования оценивали соотношение палочковидных (ПФ) и кокковидных форм (КФ), диаметр их клеточной стенки, наличие дормантных форм, толщину слоя миколовых кислот, продукцию липидсодержащих гранул.

*Приготовление подложек для адсорбции микобактерий.* На первоначальном этапе одни подложки были модифицированы катионным полиэтиленимином, а другие – анионной натриевой солью полистиролсульфоната. Параллельно проводили иммобилизацию на поверхность кремниевых биочипов антител к антигенам микобактерий (Ag85, липоарабиноманнан (ЛАМ), ESAT-6).

*Атомно-силовая микроскопия (АСМ).* На активированную поверхность адсорбировали аликвоту микобактерий (50–70 мкл), предварительно дезактивированных 2,5%-м глутаральдегидом. Исследование проводили на микроскопе Nanoscope IIIa MultiMode (Digital Instruments, Santa Barbara, США). По результатам исследования оценивали наличие кокковидных, палочковидных и других морфоваров в образце; коэффициент жесткости (пН/μм); адгезию различных морфоваров на биочипах.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программ R-studio, R v.4.4.1, Statistica 8.0, SPSS 23.0 и ресурса MedCalc (<https://www.medcalc.org>). Определяли медиану (Me) и интерквартильный размах (IQR) [Q25 %; Q75 %]; для категориальных показателей использовали абсолютное число и процент (*n*, %). Различия считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ . Для оценки различий количественных показателей между двумя независимыми группами применяли критерий Манна – Уитни, для сравнения категориальных данных – критерий  $\chi^2$  Пирсона (в том числе с поправкой Йейтса) и точный критерий Фишера. Microsoft Excel использовался для подготовки таблиц.

У 39 пациентов, у которых установлен положительный результат бактериологического исследования мокроты до начала лечения, проведена оценка зависимости сроков конверсии мокроты от длительности лечения по Каплану – Майеру.

**Результаты и их обсуждение.** Пациенты были разделены на 2 группы на основании исходов лечения ТБ: группа 1 состояла из 22 пациентов (15 мужчин, 7 женщин) с БИ («Излечен» или «Лечение завершено»); группа 2 – из 18 пациентов (15 мужчин, 3 женщины) с НИ («Неудача лечения», «Потеря для наблюдения» или «Смерть»).

Характеристика пациентов с МЛУ/РУ-ТБ, пре-ШЛУ-ТБ, включенных в исследование, представлена в табл. 1.

Как видно из табл. 1, дефицит массы тела был выявлен у 10 пациентов (25,0 %), рецидив ТБ – у 13 (32,5 %). В исправительном учреждении находились 14 пациентов (35,0 %), не работали на момент выявления ТБ – 20 (50,0 %). У 23 пациентов на момент выявления заболевания был установлен МЛУ/РУ-ТБ, у 17 – пре-ШЛУ-ТБ.

Таблица 1. Характеристика пациентов, включенных в исследование, абсолютное число, %

Table 1. Characteristics of patients enrolled in the study, absolute number, %

Показатель		Группа 1, n = 22	Группа 2, n = 18	Всего, n = 40	$\chi^2_{1-2}; p$
Пол	Мужской	15 (68,2)	15 (83,3)	30 (75,0)	>0,05
	Женский	7 (31,8)	3 (16,7)	10 (25,0)	
Возраст, лет	<44	9 (40,9)	7 (38,9)	16 (40,0)	>0,05
	≥45	13 (59,1)	11 (61,1)	24 (60,0)	
Индекс массы тела менее 18,5 кг/м <sup>2</sup>	Да	5 (22,7)	5 (27,8)	10 (25,0)	>0,05
	Нет	17 (77,3)	13 (72,2)	30 (75,0)	
Лечение ТБ в анамнезе	Да	6 (27,3)	7 (38,9)	13 (32,5)	>0,05
	Нет	16 (72,7)	11 (61,1)	27 (67,5)	
Лица без определенного места жительства	Да	1 (4,5)	1 (5,6)	2 (5,0)	>0,05
	Нет	21 (95,5)	17 (94,4)	38 (95,0)	
Употребление наркотиков	Да	1 (4,5)	2 (11,1)	3 (7,5)	>0,05
	Нет	21 (95,5)	16 (88,9)	37 (92,5)	
Безработные	Да	7 (31,8)	13 (72,2)	20 (50,0)	5,0; 0,026
	Нет	15 (68,2)	5 (27,8)	20 (50,0)	
Пребывание в исправительном учреждении	Да	5 (22,7)	9 (50,0)	14 (35,0)	>0,05
	Нет	17 (77,3)	9 (50,0)	26 (65,0)	

Таблица 2. Сопутствующие заболевания у пациентов с МЛУ/РУ-ТБ, включенных в исследование, абсолютное число, %

Table 2. Comorbidities in MDR/RR-TB patients enrolled in the study, absolute number, %

Сопутствующее заболевание		Группа 1, n = 22	Группа 2, n = 18	Всего, n = 40	$\chi^2_{1-2}; p$
B18.0, B18.1 – хронический вирусный гепатит В с/без дельта-агента	Да	0 (0,0)	1 (5,6)	1 (2,5)	>0,05
	Нет	22 (100,0)	17 (94,4)	39 (97,5)	
B18.2 – хронический вирусный гепатит С	Да	3 (13,6)	6 (33,3)	9 (22,5)	>0,05
	Нет	19 (86,4)	12 (66,7)	31 (77,5)	
E10–E14 – сахарный диабет	Да	4 (18,2)	2 (11,1)	6 (15,0)	>0,05
	Нет	18 (81,8)	16 (88,9)	34 (85,0)	
B20–B24 – болезнь, вызванная ВИЧ	Да	2 (9,1)	3 (16,7)	5 (12,5)	>0,05
	Нет	20 (90,9)	15 (83,3)	35 (87,5)	
I20–I25 – ишемическая болезнь сердца	Да	5 (22,7)	4 (22,2)	9 (22,5)	>0,05
	Нет	17 (77,3)	14 (77,8)	31 (77,5)	
N18 – хроническая болезнь почек	Да	2 (9,1)	0 (0,0)	2 (5,0)	>0,05
	Нет	20 (90,9)	18 (100,0)	38 (95,0)	
G62.9 – полиневропатия неуточненная	Да	2 (9,1)	1 (5,6)	3 (7,5)	>0,05
	Нет	20 (90,9)	17 (94,4)	37 (92,5)	
F10.2 – психические и поведенческие расстройства, вызванные употреблением алкоголя, синдром зависимости	Да	8 (36,4)	9 (50,0)	17 (42,5)	>0,05
	Нет	14 (63,6)	9 (50,0)	23 (57,5)	

Сопутствующие заболевания у пациентов с МЛУ/РУ-ТБ, включенных в когортное исследование, представлены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, наиболее частой сопутствующей патологией был синдром зависимости от алкоголя, который выявлялся у 17 (42,5 %) пациентов, включенных в исследование. Диагноз ишемическая болезнь сердца был установлен у 9 (22,5 %) пациентов, хронический вирусный гепатит С – у 9 (22,5 %), сахарный диабет – у 6 (15,0 %), болезнь, вызванная ВИЧ, – у 5 (12,5 %), периферическая полиневропатия – у 3 (7,5 %), хроническая болезнь почек – у 2 (5,0 %), хронический вирусный гепатит В – у 1 (2,5 %) пациента.

По данным рентгенологического исследования органов грудной клетки двусторонние изменения в легких выявлялись у 28 (70,0 %) пациентов, включенных в исследование, полости распада в легких – у 21 (52,5 %) пациента. У 1 пациента был выявлен ТБ легких (A15.1) и внутригрудных лимфоузлов (A16.3), у 1 – ТБ легких (A15.1) и ТБ уха (A18.6) (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Характеристика туберкулезного процесса у пациентов, включенных в исследование, абсолютное число, %

Table 3. Characteristics of the tuberculosis process in patients included in the study, absolute number, %

Показатель		Группа 1, n = 22	Группа 2, n = 18	Всего, n = 40	$\chi^2_{1-2}; p$
Распространенность процесса в легких	Односторонние изменения	9 (40,9)	3 (16,7)	12 (30,0)	>0,05
	Двусторонние изменения	13 (59,1)	15 (83,3)	28 (70,0)	
	Нет	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Локализация процесса	Легочный	22 (100,0)	16 (88,9)	38 (95,0)	>0,05
	Внелегочный	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
	Легочный и внелегочный	0 (0,0)	2 (11,1)	2 (5,0)	
Наличие полости распада в легких	Да	8 (36,4)	13 (72,2)	21 (52,5)	>0,05
	Нет	14 (63,6)	5 (27,8)	19 (47,5)	
Положительная микроскопия мокроты	Да	11 (50,0)	13 (72,2)	24 (60,0)	>0,05
	Нет	11 (50,0)	5 (27,8)	16 (40,0)	
Положительный посев мокроты	Да	21 (95,5)	18 (100,0)	39 (97,5)	>0,05
	Нет	1 (4,5)	0 (0,0)	1 (2,5)	

Положительный результат микроскопии мокроты был зарегистрирован у 24 (60,0 %) пациентов, положительный посев мокроты – у 39 (97,5 %). У 1 пациента *M. tuberculosis* получены только из ткани легкого.

Достоверных различий по частоте сопутствующей патологии, а также по данным рентгенологического и микробиологического обследования между группами пациентов не выявлено.

Проведен анализ скорости конверсии диагностического материала по данным бактериологического исследования (рис. 1).

Медиана времени конверсии культуры мокроты в группе пациентов с БИ составила 54,0 [32,0; 83,0] дня, с НИ – 101,0 [86,8; 188,3] дня ( $p < 0,0001$ ). У 2 пациентов НИ был зарегистрирован до конверсии культуры мокроты.

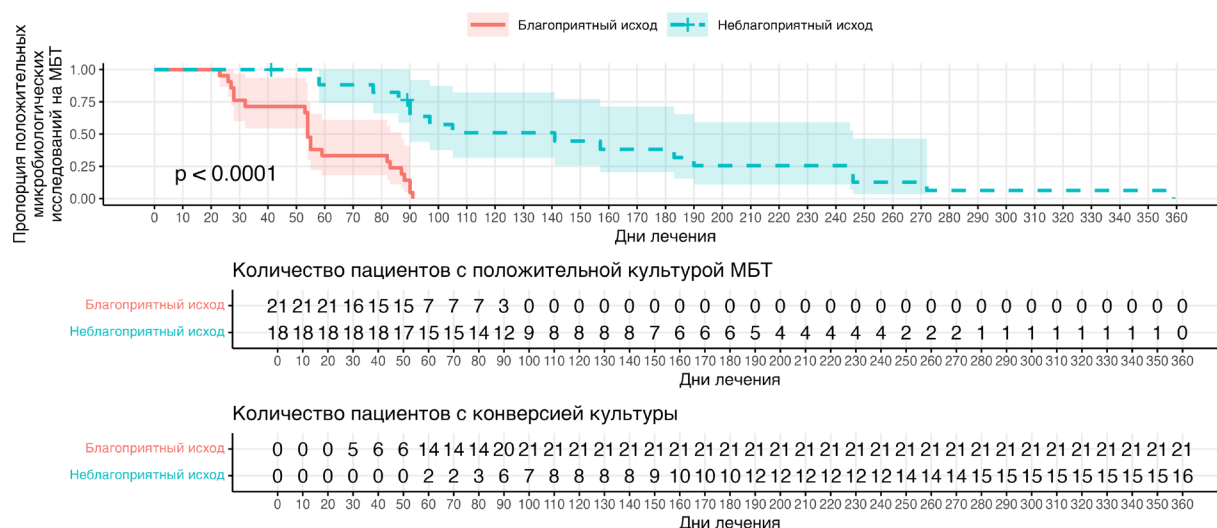


Рис. 1. Пропорция положительных микробиологических исследований на *M. tuberculosis* (ось ординат) во времени с использованием среды Левенштейна – Йенсена по Каплану – Майеру у пациентов, включенных в исследование,  $n = 39$

Fig. 1. Proportion of positive microbiological examinations for *M. tuberculosis* (ordinate axis) in time using the Loewenstein – Jensen medium by Kaplan – Meier in patients included in the study,  $n = 39$

*Электронно-микроскопический анализ.* Охарактеризована организация морфоваров *M. tuberculosis*, выделенных от пациентов анализируемых групп. Обращало внимание изменение соотношения микобактерий в культурах, полученных от пациентов группы 2, в сторону увеличения (3 : 1–5 : 1) мелких КФ размером от 0,4 до 4 мкм (рис. 2, *a, b*). Количество ПФ было заметно снижено. Это свидетельствовало об изменении бактериального фенотипа и трансформации отдельных морфотипов с переходом культур в фазу несбалансированного роста. Установлены различия в толщине клеточной стенки у ПФ (17 [15; 19,5] нм) и КФ (24 [21; 25] нм) в анализируемых культурах. При этом выявлены статистически значимые различия в толщине слоя миколовых кислот при переходе от микобацилл (12 [10; 12] нм) к округлым морфоварам (30 [30; 37,5] нм,  $p < 0,0001$ ). Эти данные указывали на то, что морфовары с утолщенным слоем миколовых кислот, очевидно, будут более устойчивы к действию ПТЛП.

Принципиально новым явлением, отмеченным в исследовании, было появление спороподобных частиц в культурах микобактерий, полученных от пациентов из группы 2 (рис. 2).

Такие частицы были представлены в виде горошин и характеризовались высокоупорядоченными структурами внутреннего матрикса. Наши результаты показали, что ДНК плотно упакована в виде гранулированного нуклеоида вследствие компактизации генетического материала. Этот феномен, вероятно, обуславливает конформационные преобразования ДНК-фибрилл и их защиту от действия химиопрепаратов. Таким образом, гранулярный нуклеоид, по-видимому, является структурным и функциональным коррелятом стабильности ультрамалых частиц микобактерий и фактором выживания возбудителя в форме персистеров.

Среди палочковидных форм культур *M. tuberculosis* отмечены вариации в количественном соотношении липидсодержащих вакуолей во внутреннем матриксе. Их количество варьировало от единичных (1–2) до 5–7 и более. Накопление внутрицитоплазматических липидсодержащих вакуолей можно рассматривать как фактор резистентности *M. tuberculosis* при сравнении со штаммом *M. tuberculosis* (H37Rv), чувствительным к ПТЛП, а также как показатель вирулентности. В культурах, полученных от пациентов группы 2, регистрировались микобактерии, имеющие как единичные, так и множественные включения, что наряду с преобразованиями в клеточной стенке может свидетельствовать о более выраженной их синтетической активности.

*Атомно-силовая микроскопия. Анализ экспрессии антигенов M. tuberculosis в культурах пациентов анализируемых групп.* Учитывая то, что антигены *M. tuberculosis* разделяются на

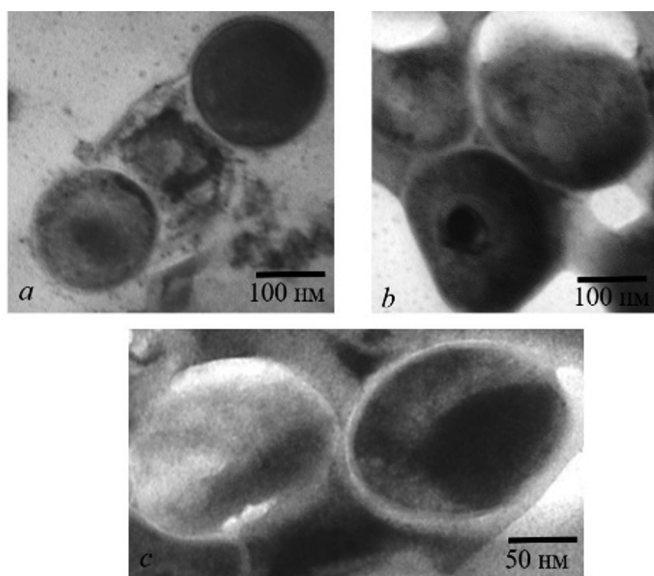


Рис. 2. Ультрамалые (дормантные) формы (*a–c*) *M. tuberculosis* в культурах, полученных от пациентов группы 2 ( $\times 100\,000$ – $250\,000$ )

Fig. 2. Ultrasmall (dormant) forms (*a–c*) of *M. tuberculosis* in cultures obtained from patients in group 2 ( $\times 100,000$ – $250,000$ )

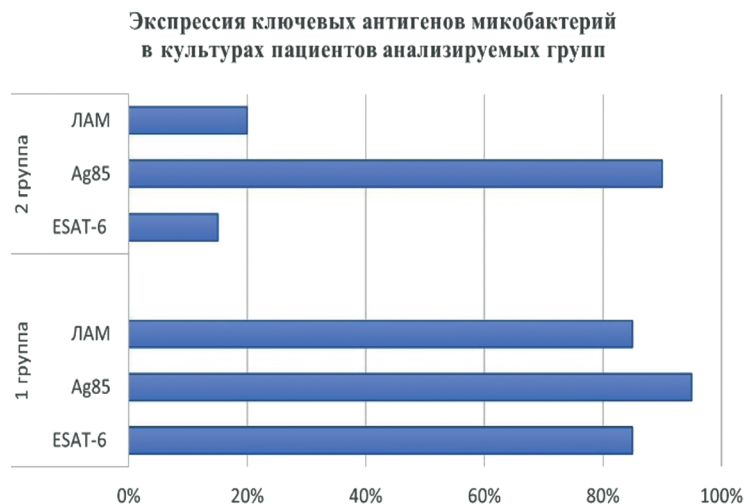


Рис. 3. Результаты анализа экспрессии антигенов (ESAT-6, Ag85, ЛАМ) среди микобактерий, полученных из культур пациентов на сконструированных биочипах

Fig. 3. Results of antigen expression analysis (ESAT-6, Ag85, LAM) among mycobacteria obtained from patient cultures on the constructed biochips

ряд групп, среди которых выделяются активно-секретируемые (Ag85, ESAT-6), связанные с клеточной стенкой (ЛАМ) и цитоплазматические, были сконструированы биочипы, различающиеся по заряду и содержащие антитела к ключевым поверхностным детерминантам возбудителя.

Результаты АСМ-анализа показали вариации в структуре морфоваров, их адгезивных свойствах, свидетельствующих о гетерогенности в распределении антигенов на поверхности возбудителя (рис. 3).

В группе культур, полученных от пациентов группы 1, все 3 иммунодоминантных антигена (ESAT-6, Ag85, ЛАМ) в большинстве своем активно экспрессировались различными морфоварами возбудителя, в том числе КФ и ПФ. В то же время у пациентов группы 2 антигены ESAT-6 и ЛАМ экспрессировались только в 15 и 20 % культур соответственно. Причем адгезия для белка ESAT-6 отмечена только у КФ.

*Характеристика параметров жесткости поверхности микобактерий.* АСМ использовали для точечного анализа микрорельефа возбудителя, что позволило уточнить морфовары возбудителя и наличие среди них «мягких» и «жестких» форм. Последние представляли собой определенные клеточные состояния, в которых базальная средняя жесткость клеточной поверхности варьировала в зависимости от характера воздействия иглы микроскопа. Известно, что жесткость клеточной стенки зависит от количества миколовых кислот, арабиногалактана, пептидогликанного слоя, расположенных над ригидной билипидной мембраной [6, 8, 9].

Использовали покадровый анализ перераспределения поверхностных антигенов вдоль длинной оси бактериальной структуры (рис. 4).

Отмечены вариации в жесткости преимущественно в субполярных областях. Это можно связать с тем, что отдельные морфовары возбудителя находились на стадии завершающегося деления и новый слой добавлялся за счет материала клеточной стенки полюсов. При анализе 3 независимых дискретных областей микобактериальной клетки установлены участки с механически различным материалом. Причем у пациентов группы 2 преимущественно центральная часть возбудителя (80–85 %), исходящая из середины клетки и исключаяющая полюса, состояла из стабильно жесткого материала клеточной поверхности (комплекса миколовых кислот и ЛАМ) (рис. 5).

Изменение перераспределения компонентов клеточной стенки, обуславливающих ее структурированность, происходит в основном за счет формирования межполюсных связей между молекулами ЛАМ, миколовых кислот и арабиногалактана. Пептидогликанный слой располагается над внутренним билипидным слоем при формировании персистеров и также подвергается компактизации.

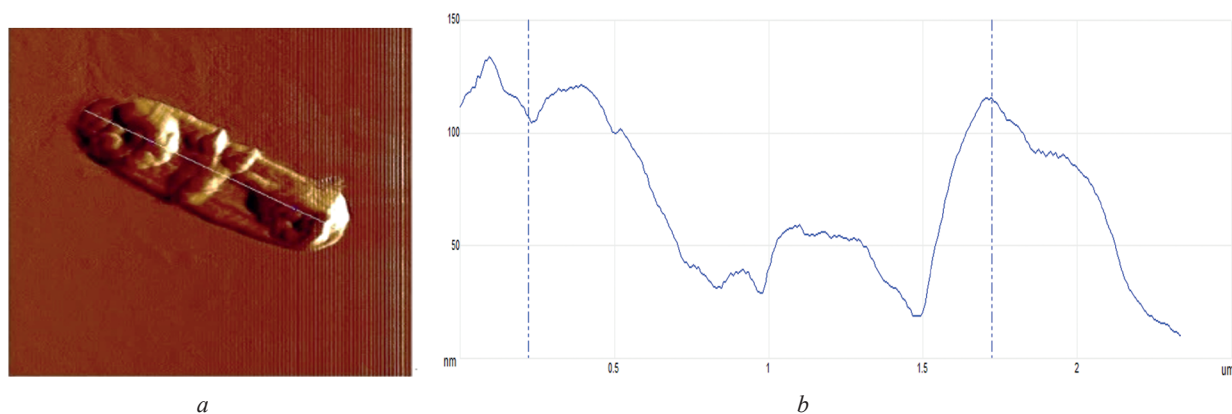


Рис. 4. Топография поверхности ПФ *M. tuberculosis* (a) и анализ микропрофилей сечения бактериальной структуры (b) (группа 1)

Fig. 4. Surface topography of the rod-shaped form of *M. tuberculosis* (a) and analysis of cross-sectional microprofiles of the bacterial structure (b) (group 1)

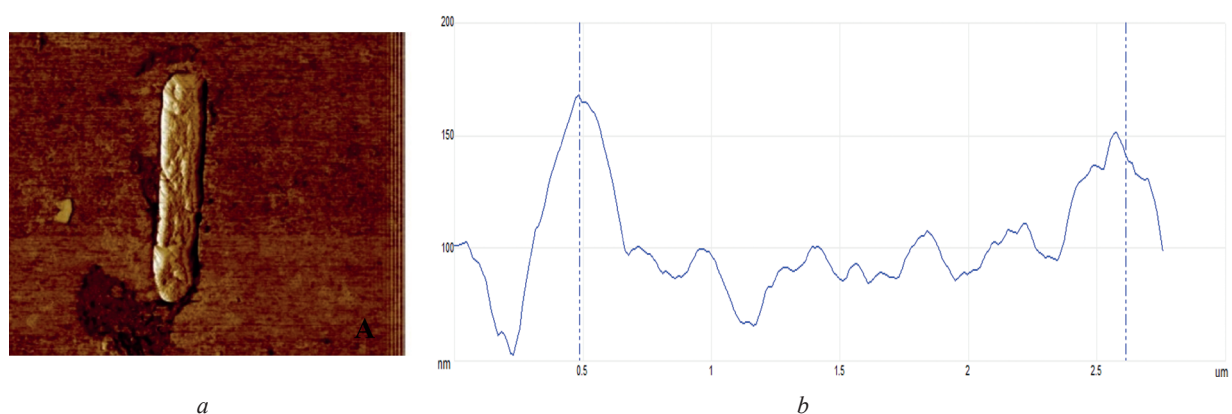


Рис. 5. Топография поверхности ПФ *M. tuberculosis* (a) и анализ микропрофилей сечения бактериальной структуры (b) (группа 2)

Fig. 5. Surface topography of the rod-shaped form of *M. tuberculosis* (a) and analysis of cross-sectional microprofiles of the bacterial structure (b) (group 2)

Некоторые исследователи полагают, что наличие дополнительных «сшивок» пептидогликана клеточной стенки имеет важное значение для поддержания стабильно жесткой поверхности возбудителя [6, 8, 9]. Субполярные области составляли 15–20 % длины клетки и содержали добавленный зарождающийся, несшитый пептидогликан, где поверхностный материал начинал постепенно увеличивать жесткость, что свидетельствовало о процессе «механического созревания» возбудителя.

В целом можно сказать, что коэффициент жесткости поверхности микобактерий группы 2 значительно превышал соответствующие значения в группе 1:  $Me - 58,3$  [48,2; 67,6] пН/μм против  $Me - 7,0$  [5,2; 7,4] пН/μм,  $p < 0,0001$ . Коэффициент жесткости поверхности штамма *M. tuberculosis* (H37Rv), чувствительного к ПТЛП, составил 5–7 пН/μм.

Таким образом, у палочковидных морфоваров группы 2 отмечается смещение механически жестких зон к середине бактериальной структуры в отличие от группы 1, где зоны жесткости, как правило, ближе к полюсам и значительно меньше. Это отражает более выраженную механическую устойчивость возбудителя и определяет его вирулентные свойства. Наличие микобактерий с аномально ригидной поверхностью может указывать на возможность выживаемости в макрофагах, и такие микробные состояния обеспечивают адаптацию к стрессорам, опосредованным хозяином.

**Заклучение.** С помощью АСМ изучены особенности морфологии морфоваров *M. tuberculosis*, осажденных на поверхность кремниевых подложек с подслоем полиэтиленimina, а также иммобилизованных с применением антител к липоарабиноманнану, ESAT-6 и Ag85. Дана характеристика различных морфоваров микобактерий (палочковидных, кокковидных, спороподобных форм возбудителя).

Определен коэффициент жесткости поверхности микобацилл. Выявлены статистически значимые различия в коэффициенте жесткости поверхности микобактерий культур группы 2 по сравнению с культурами группы 1:  $Me = 58,3$  [48,2; 67,6] пН/μм против  $Me = 7,0$  [5,2; 7,4] пН/μм,  $p < 0,0001$ . Это дополнительно отражает вирулентность возбудителя и его гетерогенность. Установлено, что поверхностные рецепторы (адгезины) у разных морфоваров неодинаковы.

У ПФ, вне зависимости от профиля резистентности, закономерно сохраняется экспрессия Ag85 и частично – ЛАМ. В то же время секреторный антиген ESAT-6 может экспрессироваться только в кокковидных морфоварах при повышении вирулентности возбудителя.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список использованных источников

1. Global tuberculosis report 2024 / World Health Organization. – Geneva, 2024. – 69 p. – URL: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/379339/9789240101531-eng.pdf?sequence=1> (date of access: 10.06.2025).
2. Оценка эффективности 9 и 6-месячных режимов лечения пациентов с множественно лекарственно-устойчивым или рифампицин-устойчивым туберкулезом в Республике Беларусь / Н. В. Яцкевич, Г. Л. Гуревич, Е. М. Скрягина, Э. Гурбанова // Туберкулез и болезни легких. – 2023. – Т. 101, № 6. – С. 34–41.
3. Persistence of *Mycobacterium tuberculosis* in response to infection burden and host-induced stressors / T. Parbhoo, H. Schurz, J. M. Mouton, S. L. Sampson // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2022. – Vol. 12. – Art. 981827. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.981827>
4. Pieters, J. *Mycobacterium tuberculosis* and the Macrophage: Maintaining a Balance / J. Pieters // *Cell Host and Microbe*. – 2008. – Vol. 3, N 6. – P. 399–407. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2008.05.006>
5. Параметры структуры микомембраны и нуклеоида морфоваров *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью / А. Н. Асташонок, Н. В. Яцкевич, А. Л. Иванова [и др.] // *Новости медико-биологических наук*. – 2024. – Т. 24, № 3. – С. 171–181.
6. Abrahams, K. A. Synthesis and recycling of the mycobacterial cell envelope / K. A. Abrahams, G. S. Besra // *Current Opinion in Microbiology*. – 2021. – Vol. 60. – P. 58–65. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2021.01.012>
7. Consolidated guidance on tuberculosis data generation and use: module 1: tuberculosis surveillance / World Health Organization. – 2024. – URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240075290> (date of access: 10.06.2025).
8. The Mycobacterial Cell Wall—Peptidoglycan and Arabinogalactan / L. J. Alderwick, J. Harrison, G. S. Lloyd, H. L. Birch // *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. – 2015. – Vol. 5, N 8. – Art. a021113. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021113>
9. Meyer, F. M. Cell wall synthesizing complexes in Mycobacteriales / F. M. Meyer, M. Bramkamp // *Current Opinion in Microbiology*. – 2024. – Vol. 79. – Art. 102478. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2024.102478>

### References

1. World Health Organization. *Global tuberculosis report 2024*. Geneva, 2024. 69 p. Available at: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/379339/9789240101531-eng.pdf?sequence=1> (accessed 10.06.2025).
2. Yatskevich N. V., Gurevich G. L., Skryagina E. M., Gurbanova E. Evaluation of the efficacy of 9 and 6-month treatment regimens of patients with multidrug-resistant or rifampicin-resistant tuberculosis in the Republic of Belarus. *Tuberkulez i bolezni legkikh* [Tuberculosis and lung diseases]. 2023, vol. 101, no. 6, pp. 34–41 (in Russian).
3. Parbhoo T., Schurz H., Mouton J. M., Sampson S. L. Persistence of *Mycobacterium tuberculosis* in response to infection burden and host-induced stressors. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2022, vol. 12, art. 981827. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.981827>
4. Pieters J. *Mycobacterium tuberculosis* and the Macrophage: Maintaining a Balance. *Cell Host and Microbe*, 2008, vol. 3, no. 6, pp. 399–407. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2008.05.006>
5. Astashonok A. N., Yatskevich N. V., Ivanova A. L., Skryagina E. M., Zhavnerko G. K., Poleshchuk N. N. Parameters of the mycomembrane and nucleoid structure of multidrug-resistant *M. tuberculosis* morphovars. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk* [News of Medical and Biological Sciences]. 2024, vol. 24, no. 3, pp. 171–181 (in Russian).
6. Abrahams K. A., Besra G. S. Synthesis and recycling of the mycobacterial cell envelope. *Current Opinion in Microbiology*, 2021, vol. 60, pp. 58–65. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2021.01.012>
7. World Health Organization. *Consolidated guidance on tuberculosis data generation and use: module 1: tuberculosis surveillance*. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240075290> (accessed 10.06.2025).

8. Alderwick L. J., Harrison J., Lloyd G. S., Birch H. L. The Mycobacterial Cell Wall—Peptidoglycan and Arabinogalactan. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2015, vol. 5, no. 8, art. a021113. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021113>

9. Meyer F. M., Bramkamp M. Cell wall synthesizing complexes in Mycobacteriales. *Current Opinion in Microbiology*, 2024, vol. 79, art. 102478. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2024.102478>

### Информация об авторах

*Яцкевич Наталья Викторовна* – канд. мед. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии (Долгиновский тракт, 157, 220080, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: yahoravanatallia@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0001-8691-1849>

*Асташонюк Андрей Николаевич* – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: micro.87@mail.ru

*Иванова Анастасия Леонидовна* – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии (Долгиновский тракт, 157, 220080, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: strinovich96@gmail.com

*Скрягина Елена Михайловна* – д-р мед. наук, профессор, заместитель директора. Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии (Долгиновский тракт, 157, 220080, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: alena.skrahina@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-1460-0272>

*Полещук Николай Николаевич* – д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: pnn@belriem.by

### Information about the authors

*Natalia V. Yatskevich* – Ph. D. (Med.), Associate Professor, Leading Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Phthysiology, Minsk, Republic of Belarus (157, Dolginovsky Tract, 220080, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yahoravanatallia@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0001-8691-1849>

*Andrey N. Astashonok* – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health (23, Filimonova Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: micro.87@mail.ru

*Anastasia L. Ivanova* – Junior Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Phthysiology (157, Dolginovsky Tract, 220080, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: strinovich96@gmail.com

*Elena M. Skryagina* – D. Sc. (Med.), Deputy Director. Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Phthysiology, Minsk, Republic of Belarus (157, Dolginovsky Tract, 220080, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alena.skrahina@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-1460-0272>

*Nikalay N. Poleshchuk* – D. Sc. (Med.), Professor, Chief Researcher. Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health (23, Filimonova Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: pnn@belriem.by