

Невидимите роднини на туберкулозата

В Националния център по заразни и паразитни болести изолират нов за науката микобактерий

Преди две години от клинична проба на пациент в Националната референтна лаборатория по туберкулоза (НРЛ по ТБ) към Националния център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ) е изолиран нетуберкулозен микобактерий. Последвалите изследвания показват, че става дума за нов за науката вид, който е успешно описан и публикуван от българските учени. Откритието е потвърдено чрез съвременни молекулярно-генетични анализи, доказващи, че микроорганизмът се различава от всички известни досега нетуберкулозни микобактерии.

Това разказа пред „Аз-буки“ гл. ас. Юлиана Атанасова, г.м., ръководител на Националната референтна лаборатория по туберкулоза към НЦЗПБ. Лабораторията участва във всички етапи на микробиологичната диагностика на туберкулозата в България. Тя прилага уникални за страната методи за прецизна видова идентификация на микобактериите и за определяне на тяхната лекарствена чувствителност. НРЛ по ТБ е международно сертифицирана и изпълнява ключова роля в микробиологичната диагностика и контрола на туберкулозата у нас.

Зина СОКОЛОВА



Стажанти по време на обучение

Нетуберкулозните микобактерии са близки родственици на причинителя на туберкулозата – *Mycobacterium tuberculosis*. Те принадлежат към същия род, имат сходна структура и също се отличават с дебела клетъчна стена, която ги прави изключително устойчиви във външната среда. След като през 1882 г. Роберт Кох описва причинителя на туберкулозата, учените откриват и други киселинно устойчиви бактерии. Дълго време обаче интересът към тях остава ограничен, защото се смята, че не причиняват опасни социално значими инфекции като туберкулозата – заболяване, което се предава от човек на човек и изисква продължително лечение.

Днес е известно, че нетуберкулозните микобактерии не са безобидни. Те обикновено не се предават между хората, заразяването става чрез вдишване, поглъщане или контактно, но могат да причинят сериозни заболявания, особено при пациенти със слаба имунна система, хронични белодробни заболявания или други съпътстващи състояния. „За тях се използват различни наименования – нетуберкулозни, атипични или екологични микобактерии. Описани са над 200 вида нетуберкулозни микобактерии“, обяснява ас. Юлиана Атанасова от НРЛ по ТБ.

За разлика от туберкулозата, която е заразно заболяване, нетуберкулозните микобактерии се срещат основно в околната среда – вода, почва, въздух, гниещи листа. Те се задържат в т.нар. биофилми – тънки слоеве от микроорганизми по влажни повърхности, където слънчевата светлина и дезинфектантите трудно достигат. През последните десетилетия, в резултат на урбанизацията тези бактерии все по-често се откриват в изкуствено създадената от човек среда, която осигурява благоприятни условия за тяхното разпространение. Изолират се от тръбопроводи, канализации, климатици, сауни, басейни и спа съоръжения.

Научният интерес към тях се засилва през 80-те и 90-те години на ХХ век, по време на СПИН епидемията. Тогава става ясно, че при пациенти с тежка имunosупресия нетуберкулозните микобактерии могат да предизвикат животозастрашаващи инфекции. По-късно се установява, че риск има не само при хора със СПИН, а и при пациенти на биологична терапия, след химиотерапия, с хронична obstructivна белодробна болест, муковисцидоза, бронхиектазии, след прекарана туберкулоза или с напредване на възрастта. Заболяванията, причинени от тези микроорганизми, се наричат микобактериози. Най-често те засягат белите дробове, но могат да причинят и кожни, мекотъканни, лимфни, ставни и дисеминирани инфекции. Диагнозата е трудна, защото симптомите наподобяват други заболявания, а инфекцията се развива бавно и незабележимо.



Юлиана Атанасова

„Ние постоянно сме в контакт с тези бактерии. При здрав човек имунната система обикновено се справя с тях. Проблем възниква, когато защитните механизми са отслабени или когато има условия за задържане на секрети и образуване на биофилми в организма“, уточнява ас. Атанасова. Част от големия брой описани микобактерии имат доказан потенциал да причиняват заболявания при човека. В същото време, те остават значително по-слабо проучени от причинителя на туберкулозата.

Националната референтна лаборатория по туберкулоза има възможност да осъществява микробиологична диагностика не само на туберкулоза, но и нетуберкулозни микобактерии. Ние сме единствената лаборатория у нас, която извършва видова идентификация на нетуберкулозни микобактерии и сме международно сертифицирани за тази дейност – казва ас. Атанасова. – По наша информация заболяемостта в страната е около 1 случай на 100 000 души.“

В Националната референтна лаборатория се изпълнява и научноизследователски проект на тема „Молекулярно-структурни корелации с антимикробната резистентност при *Mycobacterium bulgaricum* и сродни микобактерии“, финансиран от Фонд „Научни изследвания“ на МОН. Проектът е изключително актуален в контекста на интереса в световен мащаб към нетуберкулозните микобактерии като към нововъзникващ патоген. Насочен е към комплексно изследване на новоописания вид *M. bulgaricum* sp. nov., изолиран и характеризира от НРЛ по ТБ към НЦЗПБ. Основният фокус е върху изясняване на ултраструктурата на клетъчната стена чрез трансмисионна електронна микроскопия, както и върху анализа на антибиотичната резистентност чрез комбиниране на фенотипни тестове и геномни данни.

„Искаме да характеризираме детайлно *M. bulgaricum*, защото нетуберкулозните микобактерии все още са своеобразна *terra incognita*“, казва ас. Юлиана Атанасова.

Откритието поставя и нови въпроси. Все

още липсва информация за структурата на клетката, механизмите на устойчивост и потенциалната способност на новия микроорганизъм да причинява заболявания.

Изследването има интердисциплинарен подход, съчетаващ микробиологични, електронно-микроскопски и молекулярно-генетични методи за комплексна характеристика на вида. Ще се търси интегриране на морфологичните, генетичните и функционалните резултати с цел установяване на връзки между структура, вирулентност и резистентност.

Стремежът е да бъде извършен анализ на клетъчната структура чрез трансмисионна електронна микроскопия – един от най-съвременните методи, който визуализира устройството на клетъчната стена, проследява промените след антибиотично третиране. Сравнява морфологията с тази на други представители на род *Mycobacterium*, и изследва образуването на клетъчни агрегати и биофилми. Този метод позволява да се наблюдават структури с размери на нанометри и да се визуализира организацията на клетъчната обвивка с изключително висока разделителна способност.

Получените изображения ще бъдат сравнени с тези на добре проучени представители като *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* и *Mycobacterium abscessus*, за да се установят специфичните особености на новия вид. Съществува предположение, че особеностите в организацията на клетъчната стена оказват пряко влияние върху способността на бактериите да преживяват в неблагоприятни условия и да проявяват естествена антибиотична резистентност.

Паралелно с изучаването на структурата ще бъде изследвана чувствителността на новия вид към основните лекарствени препарати чрез определяне на минималните инхибиращи концентрации. Получените резултати ще бъдат сравнени с геномния анализ, което ще даде по-пълна представа за механизмите на антибиотична резистентност. Чрез определяне на минималните инхибиторни концентрации ще бъде създаден първичен профил на антибиотичната чувствителност на изследваните изолати. Това ще позволи да се оцени кои лекарствени средства са най-ефективни срещу този вид, и ще предостави ценна информация за бъдещи диагностични и лечебни подходи.

Проектът няма да се ограничи само до наблюдение на клетъчната структура. Ще бъдат анализирани и гените, свързани с антибиотична резистентност, като получените геномни данни ще бъдат сравнени с действителното поведение на бактериите. Този интегриран подход ще позволи да се установи дали наличието на определени гени действително се проявява чрез структурни особености и

повишена устойчивост към лечение.

Проучването ще допринесе за разработването на по-точни диагностични методи, описването на нови молекулярни и морфологични маркери и по-доброто разбиране на биологията на нетуберкулозните микобактерии. Натрупаните знания могат да подпомогнат и разработването на нови лекарства и профилактични средства в условията на нарастваща глобална антимикробна резистентност.

Очаква се проектът да предостави първата комплексна характеристика на *Mycobacterium bulgaricum*. Получените резултати ще разширят познанията за биологията на този нов вид, ще подпомогнат неговото разграничаване от други нетуберкулозни микобактерии и ще създадат научна основа за бъдещи диагностични и терапевтични изследвания.

В по-широк контекст проектът е в съответствие със съвременните приоритети на биомедицинските науки и глобалните стратегии за ограничаване на антимикробната резистентност. Чрез комбинирането на класически микробиологични методи със съвременни технологии в електронната микроскопия, молекулярната биология и биоинформатиката той ще генерира нови знания с висока научна стойност и потенциал за реално приложение в медицинската микробиология, инфекциозната патология и общественото здраве.

Освен фундаменталния си научен принос проектът ще подпомогне развитието на лабораторната диагностика в България, ще насърчи цифровизацията на научните изследвания и ще даде възможност за обучение и професионално развитие на млади учени.

Важен аспект на проекта е активното включване на млади изследователи. Чрез участието си в изпълнението на експериментите, обработката на резултатите, статистическия анализ и подготовката на научни публикации те ще придобият практически умения за работа със съвременни методи в микробиологията, трансмисионната електронна микроскопия, молекулярната биология и биоинформатиката.

Получените резултати ще бъдат представяни на национални и международни форуми и публикувани в рецензирани научни списания с международна видимост. Предвиждат се също публични лекции, участия в инициативи като Европейската нощ на учените, Дни на отворените врати, обучения и семинари за студенти и ученици, както и популяризиране на проекта чрез университетски интернет платформи и социални мрежи. По този начин проектът не само ще допринесе за развитието на фундаменталните научни знания, но и ще повиши обществената осведоменост за значението на микробиологичните изследвания.