



КОНСЕНСУС «МУКОВИСЦИДОЗ: ОПРЕДЕЛЕНИЕ, ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ, ТЕРАПИЯ», РАЗДЕЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ И ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ РЕСПИРАТОРНОЙ ИНФЕКЦИИ ПРИ МУКОВИСЦИДОЗЕ»*

© И.А. Шагинян⁴, М.Ю. Чернуха⁴, Н.И. Капранов¹, Е.И. Кондратьева¹, Н.Ю. Каширская¹, Е.Л. Амелина², И.К. Ашерова¹⁴, И.К. Волков⁸, Т.Е. Гембицкая², Е.К. Гинтер¹, Н.А. Ильенкова⁹, И.П. Каримова¹⁷, С.А. Красовский², Н.Б. Мерзлова¹², Л.П. Назаренко⁶, Л.С. Намазова-Баранова⁵, А.Ф. Неретина¹⁰, В.С. Никонова¹, А.В. Орлов¹⁵, С.С. Постников¹⁸, Т.А. Протасова¹⁶, С.Ю. Семыкин¹³, Д.Ф. Сергиенко¹¹, О.И. Симонова⁵, И.Д. Успенская⁷, Л.А. Шабалова¹, В.Д. Шерман¹

¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва;

²ФГБУ «Научно-исследовательский институт пульмонологии» ФМБА России, Москва;

³НИИ пульмонологии Научно-практического исследовательского центра ГБОУ ВПО «ПСПб ГМУ им. академика И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург;

⁴ФГБУ «ФНИЦЭМ» им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва;

⁵ФГБУ «Научный центр здоровья детей» Минздрава России, Москва;

⁶ФГБНУ «НИИ медицинской генетики», Томск;

⁷ФГБУ «Нижегородский НИИ детской гастроэнтерологии» Минздрава России, Нижний Новгород;

⁸ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва;

⁹ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск;

¹⁰ГБОУ ВПО «Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Воронеж;

¹¹ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России, Астрахань;

¹²ГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет им. Е.А. Вагнера» Минздрава России, Пермь;

¹³ФГБУ «Российская детская клиническая больница» Минздрава России, Москва;

¹⁴ГУЗ ЯО «Детская клиническая больница № 1», Ярославль;

¹⁵ГБУЗ «Детская городская больница Святой Ольги», Санкт-Петербург;

¹⁶ГАУЗ «Кемеровская областная клиническая больница», Кемерово;

¹⁷ГБУЗ «Челябинская областная детская клиническая больница», Челябинск;

¹⁸ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Контактная информация: E-mail: nikolay.i.kapranov@gmail.com – Николай Иванович Капранов, E-mail: elenafpk@mail.ru – Елена Ивановна Кондратьева, E-mail: kashirskayanj@mail.ru – Наталья Юрьевна Каширская, shaginyan@gamaleya.org – Игорь Андроникович Шагинян, chernukha@gamaleya.org – Марина Юрьевна Чернуха

Статья принята к печати 11.01.2016

* Рукописный документ представлен полностью, без каких-либо сокращений. Обсуждение консенсуса проходило в рамках XI Национального конгресса «Муковисцидоз у детей и взрослых. Взгляд в будущее», 24–25 мая 2013 г. (Москва), заседаний научного совета экспертов Общероссийской общественной организации «Всероссийская ассоциация для больных муковисцидозом» 14 февраля 2013 г., 24 апреля 2014 г. (Москва), Школы практического врача «Современные технологии диагностики и терапии при муковисцидозе» 15 мая 2014 г. (Москва). Консенсус утвержден в окончательном варианте на XII Национальном конгрессе с международным участием «Актуальные проблемы муковисцидоза» 22–24 апреля 2015 г.

Резюме. Основными возбудителями инфекции легких у больных муковисцидозом (МВ) являются *P. aeruginosa*, *S. aureus* и *H. influenzae*. В последнее десятилетие клиническую значимость приобретают неферментирующие грамотрицательные микроорганизмы (НФМО) – *Burkholderia cepacia complex* (Bcc), *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans*, нетуберкулезные микобактерии, грибы рода *Aspergillus*. Установлено, что в 2/3 случаев хроническая инфекция легких вызывается ассоциацией микроорганизмов, причем у госпитализированных больных, в отличие от амбулаторных больных, эти ассоциации представлены двумя, тремя и более видами микроорганизмов. Наиболее часто встречающейся ассоциацией является сочетание *P. aeruginosa*+*S. aureus* (18,2 %), а также *P. aeruginosa*+*Bcc* (9,1 %). В составе ассоциаций часто выделяли других представителей НФМО – *A. xylosoxidans*, *S. maltophilia*, *A. baumannii*. С увеличением возраста у больных формируются постоянные очаги хронической легочной инфекции, основными возбудителями которой являются *P. aeruginosa* и *S. aureus*. Особое значение для больных муковисцидозом имеют метициллинустойчивые стафилококки и штаммы с муконидным фенотипом *P. aeruginosa*. В России от больных муковисцидозом выделены бактерии *Bcc*, преимущественно принадлежащие к геномовару III A-B. *cepacia*. Штаммы *Bcc*, колонизируя нижние дыхательные пути больных МВ, способны длительно персистировать и передаваться от пациента к пациенту. Особенностью бактерий *P. aeruginosa*, *S. aureus* и *Bcc* является устойчивость ко многим антибиотикам. Под действием антибиотикотерапии формируются штаммы микроорганизмов с нетипичным фенотипом (мелкие колонии – small colony variants). Трудности для диагностики представляют инфекции, вызванные *Bcc* и другими НФМО, для идентификации которых необходимо использовать широкий арсенал бактериологических, биохимических, молекулярно-биологических методов, а также масс-спектрометрию.

Ключевые слова: муковисцидоз; хроническая инфекция; *P. aeruginosa*; *S. aureus*; *Burkholderia cepacia complex*.

CONSENSUS "CYSTIC FIBROSIS: DEFINITION, DIAGNOSTIC CRITERIA, TREATMENT", SECTION "MICROBIOLOGY AND EPIDEMIOLOGY OF CHRONIC RESPIRATORY INFECTIONS IN CYSTIC FIBROSIS"*

© I.A. Shaginyan⁴, M.Y. Chernukha⁴, N.I. Kapranov¹, E.I. Kondratyeva¹, N.Y. Kashirskaya¹, E.L. Amelina², I.K. Asherova¹⁴, I.K. Volkov⁸, T.E. Gembitskaya³, E.K. Ginter¹, N.A. Ilyenkova⁹, I.P. Karimova¹⁷, S.A. Krasovsky², N.B. Merzlova¹², L.P. Nazarenko⁶, L.S. Namazova-Baranova⁵, A.F. Neretina¹⁰, V.S. Nikonova¹, A.V. Orlov¹⁵, S.S. Postnikov¹⁸, T.A. Protasova⁶, S.Y. Semykin¹³, D.F. Sergienko¹¹, O.I. Simonova⁵, I.D. Uspenskaya⁷, L.A. Shabalova¹, V.D. Sherman¹

¹FSBI "Medical Genetic Research Center", Moscow, Russia;

²FSBI "Scientific Research Institute of Pulmonology" FMBA of Russia, Moscow, Russia;

³Research Institute of Pulmonology Scientific-Practical Research Centre of SBEE HPE "PSPb GMU. Academician I.P. Pavlov" of the Ministry of Health, Saint Petersburg, Russia;

⁴N.F. Gamaleya Federal Scientific Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia;

⁵FSBI "Scientific Center of Children Health" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia;

⁶FSBI "Sri of Medical Genetics", Tomsk, Russia;

⁷FSBI "Nizhny Novgorod Research Institute of Pediatric Gastroenterology" of RMPH, Nizhny Novgorod, Russia;

⁸"First Moscow State Medical University. I.M. Sechenov" of RMPH, Moscow, Russia;

⁹"Krasnoyarsk State Medical University. Professor V.F. Voyno-Yasenetsky" of RMPH, Krasnoyarsk, Russia;

¹⁰"Voronezh State Medical Academy n. a. N.N. Burdenko" Ministry of Health of Russia, Voronezh, Russia;

¹¹"Astrakhan State Medical Academy" of RMPH, Astrakhan, Russia;

¹²"Perm State Medical University n. a. E.A. Wagner" of MOH of Russia, Perm, Russia;

¹³FSBI "Russian Children's Clinical Hospital" of MOH of Russia, Moscow, Russia

* The document is presented without any reductions. The discussion of this consensus document took place within: the XI National Congress "Cystic fibrosis in children and adults. Looking into the future. "24–25 May 2013 (Moscow); the meetings of the Scientific Council of Experts of the Russian public organization "All-Russian Association for patients with Cystic Fibrosis" February 14, 2013 and April 24, 2014 (Moscow); the School for Doctors "Modern technologies in diagnosis and treatment of cystic fibrosis", May 15, 2014 (Moscow). Consensus was approved in final form at XII National Congress with international participation "Actual problems of cystic fibrosis," April 22–24, 2015.

¹⁴"Children's clinical hospital No 1", Yaroslavl, Russia;

¹⁵"Children's City Hospital of St. Olga", St. Petersburg, Russia;

¹⁶"Kemerovo regional clinical hospital", Kemerovo, Russia;

¹⁷GBUZ "Chelyabinsk regional children's clinical hospital", Chelyabinsk, Russia;

¹⁸"Russian national research medical University named after N. And. Pirogov" of rmpf, Moscow, Russia

Contact Information: E-mail: nikolay.i.kapranov@gmail.com – Nikolay I. Kapranov, elenafpk@mail.ru – Elena I. Kondratyeva, kashirskayanj@mail.ru – Nataliya Yu. Kashirskaya, shaginyan@gamaleya.org – Igor A. Shaginyan, chernukha@gamaleya.org – Marina Yu. Chernukha

For citation: Pediatrician, 2016, vol. 7, No. 1, pp. 80–96

Accepted: 11.01.2016

Abstract. The main causative agents of lung infection in patients with cystic fibrosis (CF) are *P. aeruginosa*, *S. aureus* and *H. influenzae*. In the last decade, gram-negative nonfermentative microorganisms (NFMO) – *Burkholderia cepacia complex* (Bcc), *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans* and non-tuberculous mycobacteria, fungi of the genus *Aspergillus* have acquired the clinical significance. It is found that the chronic lung infection in 2/3 of the cases caused by association of microorganisms. Among hospitalized patients, in contrast to outpatients, these associations are represented by two, three or more species of microorganisms. The associations of *P. aeruginosa*+*S. aureus* (18,2 %) and *P. aeruginosa*+Bcc (9,1 %) are the most common. Other representatives – *A. xylosoxidans*, *S. maltophilia* and *A. baumanii* – is often identified in the associations of microorganisms. The focuses of chronic lung infections are formed in patients with increasing age. The dominant pathogens are *P. aeruginosa* and *S. aureus*. The methicillinresistant staphylococci and *P. aeruginosa* strains with a mucoid phenotype are of particular importance for cystic fibrosis patients. Bcc isolates from cystic fibrosis patients in Russia often belong to genomovar III A-B. *cenocepacia*. The Bcc strains colonize the lower airways of patients with CF and are able for long-term persistence and transmission from patient to patient. The resistance to many antibiotics is the main feature of the *P. aeruginosa*, *S. aureus* and Bcc strains. The strains of microorganisms with atypical phenotype (small colony variants) are formed under the action of the antibiotic. Infections caused by Bcc and other NFMO are difficult to identify and we need to use a wide range of bacteriological, biochemical, molecular biological techniques and mass spectrometry.

Keywords: cystic fibrosis; chronic lung infection; *P. aeruginosa*; *S. aureus*; *Burkholderia cepacia complex*.

МИКРОБИОЛОГИЯ И ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ РЕСПИРАТОРНОЙ ИНФЕКЦИИ ПРИ МУКОВИСЦИДОЗЕ. ВВЕДЕНИЕ

Хроническая инфекция нижних дыхательных путей является ключевым признаком у больных муковисцидозом (МВ). Она является ведущим фактором, определяющим тяжесть клинического течения и прогноз заболевания. При изучении микрофлоры нижних дыхательных путей различных возрастных групп детей, больных МВ, исследователями различных стран установлено, что основными возбудителями инфекции легких у больных МВ являются *P. aeruginosa*, *S. aureus* и *H. influenzae*. Показано [9, 20], что в первые годы жизни у больных МВ доминирует золотистый стафилококк, а затем основным возбудителем становится синегнойная палочка. При анализе данных микробиологических исследований установлено, что условно-патогенные микроорганизмы выделяются у 61,9% детей в возрасте до 1 года, у 92,9% – в возрасте 1–4 года, у 93,8% – в возрасте 5–7 лет и в возрасте 8–14 и 15–18 у 100% детей. Это свидетельствует о том, что колонизация легких микробиологическими организмами больных МВ начинается фактически

с первых дней после рождения и достигает максимума уже к 5 годам жизни. При этом, если в группе детей до 1 года *S. aureus* выявляется только у 28,6% детей, а *P. aeruginosa* – у 19%, то в возрасте 5–7 лет золотистый стафилококк обнаружен у 87,5% детей, а *P. aeruginosa* – у 31,2% детей. Таким образом, в возрасте до 1 года более чем у 1/3 больных МВ нижние дыхательные пути еще не обсеменены микроорганизмами, в возрасте 1–4 лет нижние дыхательные пути обсеменены почти у всех больных (92,9%), а к 8–18 годам – у 100% больных. Хроническая стафилококковая, синегнойная или смешанная инфекция начинает диагностироваться у 25% детей уже в возрасте 1–4 года, в возрасте 5–7 лет – у 50% больных, в возрасте 8–14 лет – у 65% и к 18 годам – у 80% больных МВ [7, 10].

В последнее десятилетие очевидную клиническую значимость приобретают недостаточно изученные микроорганизмы – неферментирующие грамотрицательные микроорганизмы (НФМО) – *Burkholderia cepacia complex* (Bcc), *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans*, нетуберкулезные микобактерии, грибы рода *Asper-*

gillus. При этом каждый патоген способен вызвать воспаление, которое может в той или иной степени привести к повреждению дыхательных путей, снижению легочной функции, ухудшению клинического статуса.

Согласно международным рекомендациям о хронической инфекции, вызванной *P. aeruginosa*, может свидетельствовать идентификация патогена не менее 2 раз за последние 6 месяцев. Аналогичными критериями можно руководствоваться при выявлении у больного в монокультуре *S. aureus* и *Bcc*, а также при смешанной инфекции. С практической точки зрения приемлемыми являются и критерии, предложенные Lee et al. (2003), согласно которым обнаружение патогена более чем в 50% образцов мокроты или смызов в течение предшествующих 12 месяцев может трактоваться как хроническая инфекция.

Установлено, что в 2/3 случаев хроническая инфекция легких вызывается не монокультурой, а ассоциацией микроорганизмов, причем у госпитализированных больных, в отличие от амбулаторных больных, эти ассоциации представлены, как правило, не двумя, а тремя и более видами микроорганизмов. За рубежом [31, 35] эти показатели в два раза ниже — в 35% исследуемых образцов бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) выявляют рост двух микроорганизмов и в 10% случаев ассоциации представлены тремя и более видами микроорганизмов. По данным российских авторов [7, 10], наиболее часто встречающейся ассоциацией является сочетание *P. aeruginosa*+*S. aureus* (18,2%), а также *P. aeruginosa*+*Bcc* (9,1%). В 18% случаев от больных в составе микробных ассоциаций выделяли одновременно *P. aeruginosa* мукOIDНЫЙ и немукOIDНЫЙ фенотипы. В составе ассоциаций, кроме *P. aeruginosa*, часто выделяли других представителей НФМО — *S. maltophilia*, *A. baumannii* [13, 26], что, вероятно, обусловлено тропизмом этих видов микроорганизмов к легочной ткани. Полученные данные послужили основанием для заключения, что для больных МВ характерным проявлением инфекционных осложнений является смешанная инфекция и что *Bcc* является типичным представителем госпитальной микрофлоры [7, 18].

Таким образом, при анализе микрофлоры детей, больных МВ, можно утверждать, что с увеличением возраста у больных формируются постоянные очаги хронической легочной инфекции, основными возбудителями которой являются *P. aeruginosa* и *S. aureus*.

Особенностью бактерий *P. aeruginosa*, *S. aureus* и *Bcc* является устойчивость ко многим антибиотикам.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ОСНОВНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ХРОНИЧЕСКОЙ РЕСПИРАТОРНОЙ ИНФЕКЦИИ ПРИ МУКОВИСЦИДОЗЕ

Микроорганизмы, инфицирующие больного МВ, определяют лечение, качество жизни, перспективы для трансплантации и общую выживаемость. Точная и своевременная идентификация возбудителей инфекций дыхательных путей имеет существенное значение для обеспечения своевременного начала лечения соответствующими антибиотиками с целью элиминации бактериальных патогенов и организации надлежащего инфекционного контроля для профилактики распространения патогенных микроорганизмов среди больных МВ.

Ниже приведены основные микробиологические характеристики доминирующих возбудителей хронической респираторной инфекции и представлен алгоритм ее микробиологической диагностики.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS

В настоящее время род *Staphylococcus*, относящийся к семейству *Micrococcaceae*, включает 45 видов [35]. Вид *S. aureus* — золотистый стафилококк — является одним из значимых патогенов для пациентов с МВ. Он вызывает хроническую инфекцию легких, приобретаемую в обществе и во время лечения в госпитальных условиях [31].

Бактерии *S. aureus* представляют собой грамположительные неподвижные кокки, при микроскопии располагающиеся в виде характерных скоплений — гроздей. Стафилококки не образуют спор, но могут образовывать капсулы. У больных МВ могут выделяться 3 морфологических типа колоний — мукOIDНЫЕ, немукOIDНЫЕ и с SCV (small colony variants)-фенотипом [31]. SCV-фенотип представляет собой мелкие без гемолиза и пигмента медленно растущие колонии на 5% кровяном и шоколадном плотных агаризованных средах.

Особое значение для больных муковисцидозом имеют метициллинустойчивые стафилококки, которые обладают устойчивостью ко многим антибиотикам. Метициллинустойчивые (MRSA) стафилококки обнаруживаются во многих больницах большинства стран мира. MRSA распространяются от человека к человеку, обычно с рук медперсонала [8]. Однако могут встречаться и другие механизмы передачи, например воздушно-капельный. Некоторые штаммы являются чрезвычайно трансмиссионными, распространяясь внутри палат, между палатами и из больницы в больницу [8].

НЕФЕРМЕНТИРУЮЩИЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ

Среди возбудителей хронической инфекции легких у больных МВ значимое место занимают

НФМО, общими признаками которых являются природная устойчивость ко многим антибиотикам, высокая резистентность к дезинфектантам и распространение в больничных стационарах от больного к больному [11]. НФМО, наиболее часто вызывающие инфекции, принадлежат к нескольким родам и условно могут быть разделены на оксидазоположительные — роды *Pseudomonas* (кроме видов *P. luteola* и *P. oryzihabitans*), *Burkholderia*, *Moraxella*, *Chryseobacterium* и оксидазоотрицательные — роды *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter*, *Bordetella* (кроме *B. pertussis*, *B. avium*, *B. bronchiseptica*, *B. hinpii*) [16, 23, 32].

Большинство из упомянутых выше родов и видов НФМО обладают высокой степенью фенотипического и генотипического родства с бактериями рода *Pseudomonas*, и многие из них еще в 90-х годах прошлого века относились к данному роду. Все эти микроорганизмы могут быть выделены из окружающей среды, однако клинической значимостью характеризуются только отдельные виды некоторых родов.

PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Первоначальная классификация рода *Pseudomonas*, состоящего из пяти соответствующих rRNA-групп, подверглась радикальному пересмотру, закончившемуся изменением классификации многих видов рода *Pseudomonas* и объединением в отдельные роды. Эти роды включают *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Comamonas*, *Shewanella*, *Ralstonia*, *Methylobacterium*, *Sphingomonas*, *Acidovorax* и *Brevundimonas*. Род *Pseudomonas* (*sensu stricto*) включает соответствующую rRNA-группу 1 и объединяет 11 видов: *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. veronii*, *P. monteilii*, *P. stutzeri*, *P. mendocina*, *P. pseudoalcaligenes*, *P. alcaligenes*, *P. luteola*, *P. oryzihabitans*.

Псевдомонады являются аэробными неспорообразующими грамотрицательными палочками, которые могут быть прямыми или слегка изогнутыми. Они составляют от 1,5 до 5 мкм в длину и от 0,5 до 1,0 мкм в ширину и обладают строгим дыхательным метаболизмом с использованием кислорода как конечного акцептора электронов. Некоторые изоляты могут расти в анаэробных условиях с использованием нитратов или аргинина в качестве конечных акцепторов электронов. Псевдомонады подвижны благодаря присутствию одной или более полярных флагелл. Клинические изоляты являются оксидазоположительными (за исключением *P. luteola*, *P. oryzihabitans*) и каталазоположительными, а также растут на агаре Мак-Конки как лактозонегативные колонии [23].

Псевдомонады широко распространены в природе с преимущественным обитанием в окружающей среде, связанной с водой. Они обнаружены в воде, почве, на растениях, включая овощи и фрукты. Из-за их способности выживать в водной среде эти микроорганизмы, особенно *P. aeruginosa*, стали одной из основных проблем как возбудители госпитальных инфекций [23]. Бактерии *P. aeruginosa* являются ведущей причиной нозокомиальных инфекций дыхательного тракта. Особое значение имеют для больных МВ. Основную роль в патогенезе инфекции легких у больных МВ играет мукоидный фенотип *P. aeruginosa* и воспалительные реакции больного [4, 9, 31].

БАКТЕРИИ BURKHOLDERIA CEPACIA COMPLEX (BCC)

Бактерии *Bcc* — это группа грамотрицательных, неспорообразующих бактерий. В мазках, окрашенных по Граму, эти микроорганизмы представляют собой полиморфные прямые грамотрицательные палочки размером 0,5–1,0 × 1,5–5 мкм. После культивирования на 5 % кровяном агаре при $t=30^{\circ}\text{C}$ в течение 48 часов бактерии *Bcc* образуют серые гладкие колонии с ровными краями размером 1–2 мм с резким характерным запахом гнили. При наличии пигмента колонии могут быть окрашены в желтый цвет различной интенсивности. Вокруг колоний могут образовываться зоны гемолиза. На средах — Эндо и Мак-Конки колонии *Bcc* размером 1 мм окрашены в светло-розовый цвет (лактозонегативные).

В настоящее время вид *B. cepacia sensu lato* включает 20 близкородственных видов (табл. 1).

Таблица 1

Представители *Burkholderia cepacia complex*

Современное наименование	Геномовар	Год (впервые выделен)
<i>B. cepacia sensu lato</i>		1992
<i>B. cepacia sensu stricto</i>	I	1992
<i>B. multivorans</i>	II	1997
<i>B. cenocepacia</i>	III	2003
<i>B. stabilis</i>	IV	2000
<i>B. vietnamiensis</i>	V	1995
<i>B. dolosa</i>	VI	2003
<i>B. ambifaci</i>	VII	2001
<i>B. anthina</i>	VIII	2002
<i>B. pyrrocinia</i>	IX	1997
<i>B. ubonensis</i>	X	2008
<i>B. latens</i>	XI	2008
<i>B. diffusa</i>	XII	2008
<i>B. arboris</i>	XIII	2008
<i>B. seminalis</i>	XIV	2008
<i>B. metallica</i>	XV	2008
<i>B. contaminans</i>	XVI	2008
<i>B. lata</i>	XVII	2008
<i>B. pseudomultivorans</i>	XVIII	2014
<i>B. stagnalis</i>	XIX	2015
<i>B. territorii</i>	XX	2015

Все геномовары могут выделяться от больных муковисцидозом, однако преобладающим является геномовар III — *B. cenocepacia*, обнаруженный в 70 % случаев инфекции, вызванной *Bcc* в Англии, Бельгии, США, Канаде [33].

В России от больных муковисцидозом, как и при исследовании образцов от больных с пневмонией в отделениях интенсивной терапии различных клиник города Москвы, также были выявлены бактерии *Bcc*, преимущественно принадлежащие к геномовару III A-B. *cenocepacia* [1, 4].

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ БАКТЕРИЙ *BCC* И ПАТОГЕНЕЗ ВЫЗВАННОЙ ИМИ ИНФЕКЦИИ

О колонизации легких *Bcc* у больных муковисцидозом впервые сообщено в начале 1970-х гг. [17]. Приблизительно у 20 % больных, колонизированных *Bcc*, возникал так называемый «цепация синдром», характеризующийся некротизирующей пневмонией с лихорадкой, бактериемией, увеличением скорости оседания эритроцитов и лейкоцитозом, который приводил к быстрому летальному исходу. Было высказано предположение, что появление *Bcc* является основной причиной неблагоприятного исхода у больных МВ. В настоящее время установлено, что *Bcc* представляет особую опасность для больных МВ. Хроническая микробная колонизация основных дыхательных путей ведет к развитию легочной инфекции — основной причины заболеваемости и смертности у больных МВ. Установлено, что особенностью инфекции при МВ является персистенция ассоциаций микроорганизмов в 59,4 % случаев. Особенностью персистенции штаммов *Bcc* является тяжелое течение в виде смешанной инфекции в ассоциации с бактериями *P. aeruginosa*. Бактерии *Bcc*, способные персистировать у больных МВ, характеризуются устойчивостью ко многим антибиотикам. Доказана длительная (до 1 года 5 мес.) персистенция штаммов *Bcc*, выделенных от одного больного, с помощью мониторинга микрофлоры нижних дыхательных путей. Штаммы *Bcc*, колонизируя нижние дыхательные пути больных МВ, способны длительно персистировать и передаваться от пациента к пациенту [3, 6, 7].

ДРУГИЕ, БОЛЕЕ РЕДКО ВСТРЕЧАЮЩИЕСЯ ВОЗБУДИТЕЛИ ХРОНИЧЕСКОЙ РЕСПИРАТОРНОЙ ИНФЕКЦИИ

Achromobacter xylosoxidans

A. xylosoxidans — оксидазо- и каталазоположительный грамотрицательный неферментирующий микроорганизм, способный вызывать оппортунистические инфекции. Обладает природной резистентностью ко многим антибиотикам.

В последнее время хроническая инфекция, вызванная *Achromobacter xylosoxidans*, у больных МВ встречается часто. Согласно полученным данным третий по частоте встречаемости из НФМО является *Achromobacter xylosoxidans*, который при исследовании образцов от больных детей за 2012–2013 гг. выделяли в 9 % случаев [4].

Род *Acinetobacter*

Номенклатура видов *Acinetobacter* находится в процессе развития. В настоящее время получили наименование 7 видов. Для рутинных клинических целей в номенклатуре достигнут компромисс и организмы обозначаются как комплекс *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii*. Большинство клинических лабораторий могут дифференцировать биовар *anitratus* от биовара *lwoffii* на основе окисления глюкозы (*anitratus*) или неокисления последней (*lwoffii*).

Подобно *P. aeruginosa*, бактерии рода *Acinetobacter* распространены в окружающей среде. У 25 % здорового населения этим микроорганизмом колонизированы кожные покровы, а у 7 % колонизирована глотка.

Виды *Acinetobacter* чаще всего вызывают внутрибольничную пневмонию. В больничном учреждении факторами риска для возникновения внутрибольничной пневмонии являются интубация, лечение антибиотиками, пребывание в палатах интенсивной терапии. Описан ряд инфекций, связанных с использованием медицинских приборов, например нозокомиальные менингиты. Чаще всего пневмонии как внутрибольничные инфекции возникали у больных раком и с травмами, а у ожоговых больных возникала раневая инфекция [11].

Stenotrophomonas maltophilia

Этот микроорганизм, ранее обозначавшийся как *Pseudomonas maltophilia* (до 1988), позднее *Xanthomonas maltophilia* (1995–1997), является распространенным комменсалом, легко выделяемым из воды, почвы и сточных вод. Значимость этого микроорганизма при выделении не всегда ясна и может зависеть от наличия факторов риска. Так, в одном исследовании, проведенном в общем госпитале в 1979 г., показано, что только 6 (4,6 %) из 128 изолятов оказались клинически значимыми, то есть вызывали внутрибольничную инфекцию (ВБИ). С другой стороны, исследования в раковом центре показали, что ВБИ вызывали 114 (48 %) из 237 изолятов. *S. maltophilia* наиболее часто связана с пневмонией, особенно у больных с МВ, но может также вызывать широкий круг других ВБИ. Наибольшее число инфекций встречает-

ся в больничных учреждениях, где факторы риска включают злокачественные опухоли, использование центральных венозных катетеров и лечение антибиотиками. В исследовании 91 случая бактериемий, вызванных *S. maltophilia*, у 78% больных были злокачественные опухоли, а источником инфекции был центральный венозный катетер. Показатель смертности от ВБИ в данном исследовании составил 38%.

Недавно описаны несколько необычных проявлений инфекции, вызванной *S. maltophilia*. Так, в сообщении о 114 инфекциях из ракового центра у 17 больных наблюдали инфекции слизистой оболочки и кожных покровов и/или инфекции мягкой ткани, 6 имели метастатические цеплюлиты, представлявшие собой кожные узлы с окружающими цеплюлитами и 1 — повреждение в виде гангренозной эктимы.

Каждый из рассматриваемых нами НФМО микроорганизмов способен вызывать развитие хронической пневмонии у больных с МВ, исход которой, как правило, неблагоприятен для больного [11].

МИКОБАКТЕРИИ, НЕ ПРИНАДЛЕЖАЩИЕ К ВИДУ *MYCOSAFTERIUM TUBERCULOSIS*

В последние годы возросло количество случаев инфицирования больных муковисцидозом микобактериями, не относящимися к виду *M. tuberculosis* (*Nontuberculous mycobacteria* (NTM)). Из мокроты пациентов выделяли *Mycobacterium avium-intracellulare* (MAI), *Mycobacterium chelonei*, *Mycobacterium fortuitum* [22]. Среди пациентов в США бактерии NTM идентифицировали в 12,5% случаях, причем наиболее часто выделяли *Mycobacterium avium complex* (MAC). На втором месте по частоте высе-ва были *Mycobacterium abscessus* [28]. Особенностью культивирования микобактерий является длительный период роста на питательной среде Левенштейна-Йенсена. Кроме того, у больных муковисцидозом образцы мокроты контаминированы *P. aeruginosa* и другими микроорганизмами. Рекомендуется обрабатывать образцы мокроты от больных муковисцидозом для устранения контаминации перед посевом 0,25% N-ацетил-L-цистеином и 1% гидроксидом натрия (NALC-NaOH), а затем добавлять 5% *oxalic acid* (OXA). Особое значение для идентификации и типирования этих микроорганизмов имеют молекулярно-генетические методы (ПЦР, мультилокусное секвенирование, секвенирование генома). Для точной постановки диагноза необходимо выделение культуры микобактерий и дальнейшее генетическое типирование с использованием молекулярно-генетических методов [19].

АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ

Использование анаэробных культуральных методик указывает на обнаружение в дыхательных путях больных МВ большого числа анаэробов [4, 36]. В исследовании М.М. Tunney et al. анаэробные бактерии, прежде всего *Prevotella*, *Veillonella*, *Propionibacterium* и *Actinomyces*, были изолированы в 64% образцов мокроты у пациентов с МВ. Колонизация *P. aeruginosa* достоверно повышает вероятность присутствия анаэробов в мокроте. Сходные анаэробные штаммы были обнаружены в бронховальвуллярной жидкости у детей с МВ. В двух исследованиях показано, что микроорганизмы из рода *Prevotella* особенно часто встречаются у больных МВ [36]. Более того, высказывается предположение об их провоспалительном действии, что подтверждается резким увеличением концентрации данных микроорганизмов в период обострения. Тем не менее точно определить клиническое значение этих бактерий на сегодня не представляется возможным.

АЛГОРИТМ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ХРОНИЧЕСКОЙ РЕСПИРАТОРНОЙ ИНФЕКЦИИ

- Идентификация возбудителей хронической респираторной инфекции является важнейшим звеном в прогнозе жизнедеятельности больного МВ, в связи с этим в настоящее время в лабораторной диагностике используются современные микробиологические, молекулярно-генетические и молекулярно-биологические методы.
- Правильная микробиологическая диагностика мокроты больных МВ представляет трудности, так как микробная флора дыхательных путей у таких больных представлена часто ассоциациями, а некоторые микроорганизмы проявляют атипичные для своего вида фенотипические свойства, например ауксотрофные *P. aeruginosa* и *SCV S. aureus*. Разработанный нами алгоритм микробиологической диагностики хронической респираторной инфекции включает несколько этапов, позволяющих рационально и максимально достоверно провести диагностику смешанной хронической инфекции легких.

Материалом при исследовании нижних дыхательных путей у больных МВ являются мокрота при кашле, мазок из зева после кашля, ларингенальный или назофарингеальный аспират, индуцированная гипертоническим раствором мокрота, бронховальвуллярный лаваж, материал щеточной биопсии при бронхоскопии.

По данным Equi et al., чувствительность и специфичность результатов посевов мазка из зева после кашля по сравнению с результатами посевов спон-

танной мокроты составляет 34 и 100% соответственно. Чувствительность показывает процент положительного результата, полученного методом посева мазка из зева, по сравнению с положительным результатом, полученным при посеве мокроты. Специфичность показывает процент отрицательного результата, полученного методом посева мазка из зева, по сравнению с отрицательным результатом, полученным при посеве мокроты [4].

Установлено, что любая задержка, в частности хранение при комнатной температуре (20–25 °C), приводит к увеличению количества быстро растущих бактерий, что может привести к угнетению роста истинных патогенов, и, наоборот, хранение в холодильнике (4 °C) может привести к гибели термофильных патогенных микроорганизмов.

Перед посевом мокроту предварительно отмывают в стерильном изотоническом растворе хлорида натрия и гомогенизируют механическим перемешиванием в течение 10 мин стерильными микробиологическими бусами или химическим методами — обработка дитиотройтом.

Обязательным для установления диагноза хронической инфекции, вызванной ассоциацией возбудителей, является неоднократное в течение 6 месяцев выделение чистой культуры микроорганизмов, так называемый «золотой стандарт». Поэтому посев мокроты осуществляют на универсальные среды — 5% кровяной и шоколадный агары с накладыванием на поверхность дисков с гентамицином и оптохином для выявления *Haemophilus influenza* и *Streptococcus pneumoniae* и селективные среды для выделения *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Bcc*, *Candida spp.*, *Enterobacteriaceae* и НФМО (ЖСА, цетримидный агар, BCSA, Сабуро, Эндо).

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ОСНОВНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ

Идентификация золотистого стафилококка

Идентификацию стафилококков проводят на селективной среде — желточно-солевом агаре (ЖСА). На основании фенотипических свойств — наличия пигмента и лецитиназной активности штаммы стафилококков относят к виду *S. aureus*. Для подтверждения принадлежности стафилококка к виду *S. aureus* также необходимо использовать тест на коагулазу. Летициназоположительные стафилококки, характеризующиеся положительным тестом на коагулазу, относят к виду *S. aureus*.

У больных МВ встречаются атипичные формы золотистого стафилококка, которые трудно выделять и идентифицировать общепринятыми методами, благодаря их замедленному росту и нетипичным для стафилококков свойствам. Такие

атипичные формы называют штаммами с фенотипом мелких колоний (SCV). Бактерии медленно растут, в результате через 48 часов роста формируются очень маленькие без пигмента и гемолиза колонии, имеющие fried-egg-фенотип («яичницы глазуньи») или точечный фенотип, редко — мукоидный фенотип. SCV-стафилококки имеют также другие атипичные, нехарактерные для метаболически нормальных стафилококков, свойства. Могут быть лецитиназоотрицательными, слабо коагулазоположительными, характеризоваться отсутствием фермента маннитола, ауксотрофными по гемину, тимидину и менадиону и характеризоваться возможностью возврата в родительскую форму. Часто ассоциируются с персистентной инфекцией и обладают резистентностью к антибиотикам [11].

По данным Gómez-González et al., распространность SCVs *S. aureus* в клинических экземплярах составляет приблизительно 1%, а среди больных муковисцидозом — до 17%. SCV *S. aureus* может часто высеваться от пациентов, которые получали гентамицин или другие аминогликозиды [16].

Лабораторная диагностика, определение чувствительности к антибиотикам атипичных форм золотистого стафилококка может иметь существенное значение для выбора тактики антимикробной терапии стафилококковой инфекции у больных МВ.

В результате проведенных исследований было выявлено 12 штаммов SCV [4]. При этом в 6 случаях наблюдали смешанную инфекцию с *Pseudomonas aeruginosa*. Четыре из выделенных штаммов были резистентными более чем к трем группам антибиотиков, у двух из которых выявлен ген *MecA*. Поэтому при выделении штаммов с SCV-фенотипом необходимо подтвердить принадлежность к виду *S. aureus* с использованием молекулярно-генетических методов (ПЦР, MLST) и исследовать их на антибиотикочувствительность.

При исследовании антибиотикочувствительности 208 штаммов стафилококков диско-диффузионным методом или с помощью АТВ-стрипов (BioMerieux) было показано [4], что 31 (15%) штамм устойчив к оксациллину. Пятнадцать из этих штаммов были коагулазоположительными, что позволило, учитывая также пигментообразование и лецитиназную активность, отнести их к MRSA, а остальные 16 штаммов — к метициллинрезистентным коагулазоотрицательным стафилококкам (КОС).

Для определения устойчивости стафилококков к метициллину обычно используют диско-диффузионный метод [8]. Применяют диски с оксациллином (1 мкг), так как оксациллин является наиболее стабильным антибиотиком при хранении. Идентифи-

кацию осуществляют в условиях, способствующих экспрессии устойчивости, а именно на среде Мюллера–Хинтона с добавлением 4% NaCl, инкубуя чашки Петри в течение 24 часов при 37 °C. Некоторые исследователи предлагают проводить инкубацию в течение 48 часов при 30 °C [8].

В связи с имеющейся гетерогенностью устойчивости к метициллину ряд исследователей рекомендуют проведение идентификации гена *tesA* молекулярно-генетическими методами с использованием ДНК-зондов или амплификацией гена в ПЦР.

При выявлении у стафилококков устойчивости к метициллину диско-диффузионным методом и идентификации гена *tesA* генетическими методами такие штаммы рекомендуется далее тестировать на устойчивость к ванкомицину, так как большинство VISA и гетеро-VRSA обычно устойчивы к метициллину.

Национальный комитет по клиническим лабораторным стандартам (NCCLS) установил, что стафилококки, у которых рост ингибитируется 4 и менее мкг/мл ванкомицина, являются чувствительными, 8–16 мкг/мл — умеренно устойчивыми и 32 и более мкг/мл — резистентными. В соответствии с этими показателями в литературе умеренно устойчивые к ванкомицину штаммы *S. aureus* (MIC ванкомицина=8 мкг/мл) обозначают VISA, а резистентные (MIC=32 и более мкг/мл) — VRSA.

Большинство VISA-изолятов первоначально выглядят в виде смешанной популяции, состоящей из различных по морфологии и пигменту колоний. Преобладают большие кремового цвета колонии и маленькие колонии серого цвета. Однако при тестировании различных по морфологии и цвету колоний на устойчивость к ванкомицину они демонстрируют идентичные профили антибиотикограмм и ДНК при тестировании с помощью пульс-электрофореза.

Так как способность формирования биопленок является свойством штаммов, способных вызывать хроническую инфекцию, оптимальным для полной характеристики штаммов является определение способности к формированию биопленок штаммами золотистого стафилококка. Было изучено формирование биопленок у 106 штаммов стафилококков, выделенных от больных МВ [4]. Из 106 изученных штаммов у 16 (16,9%) наблюдали выраженную способность к формированию биопленки, у 54 (57,2%) — умеренную, у 36 штаммов (38%) — низкую.

Таким образом, для точной идентификации видов стафилококков необходимо использовать комплекс бактериологических, биохимических, молекулярно-генетических методов.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ НЕФЕРМЕНТИРУЮЩИХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Идентификация *Pseudomonas aeruginosa*

Род *Pseudomonas* (*sensu stricto*) включает 11 видов. Для больных муковисцидозом наиболее значимым является *Pseudomonas aeruginosa*.

Типичные изоляты синегнойной палочки идентифицируют по таким свойствам, как пигментообразование, положительный тест на оксидазу, рост при 42 °C, характерный земляничный запах, рост на цетримидном агаре. При этом от больных МВ с хронической синегнойной инфекцией часто изолируют атипичные формы *P. aeruginosa*, которые трудно идентифицировать без применения молекулярно-генетических методов (ПЦР) [29].

Псевдомонады хорошо растут на стандартных лабораторных средах, таких как триптиказный соевый агар с 5% бараньей кровью или шоколадный агар. Подобная среда может быть использована для выделения микроорганизмов из клинических проб, например цереброспинальной жидкости, тканевой жидкости или жидкости после перitoneального диализа, когда наиболее вероятным является выделение смешанной флоры. С целью выделения *P. aeruginosa* из образцов, содержащих смешанную флору, используются селективные среды. Агар Мак-Конки — наиболее часто используемая селективная среда для выделения большинства псевдомонад, включая мукоидные штаммы *P. aeruginosa* от больных муковисцидозом. Селективные среды, содержащие селективные агенты, такие как цетримид, ацетамид, нитрофурантонин и 9-хлор-9-[4-(диэтиламино) фенил]-9, 10-дигидро-10-фенилакридингидрохлорид (C390) также могут быть использованы для изоляции *P. aeruginosa* из клинических образцов и образцов окружающей среды [4, 36].

Большинство изолятов *P. aeruginosa* легко распознаются на первичной питательной среде на основе морфологических характеристик колоний, продукции диффундирующего пигмента, а также характерного запаха культуры «земляничного мыла» или, как его характеризуют зарубежные микробиологи, запаха «винограда или зерна тако». Колонии обычно имеют плоскую поверхность и склонность к ползучему росту, неровные края и металлический блеск, который часто связан с аутолизом колоний. Существуют и другие виды колоний, включающие гладкие, колиформные колонии, а также слизистые, карликовые и мукоидные формы. Мукоидный вариант колоний преобладает в образцах из респираторного тракта больных муковисцидозом. *P. aeruginosa* производит целый ряд водорастворимых пигментов. Когда пиовердин сочетается с голубым водораство-

римым пигментом феназином, пиоцианин приобретает светло-зеленый цвет. Этот микроорганизм также может продуцировать один из двух водорасстворимых пигментов: пиорубрин (красный) или пиомеланин (коричневый или черно-коричневый). Идентификация *P. aeruginosa* может быть подтверждена на основе положительного теста на оксидазу. Могут также встречаться беспигментные штаммы *P. aeruginosa*, очень часто это штаммы с повышенным содержанием мукоида, выделенные из секрета респираторного тракта больных муковисцидозом. На практике обнаружение мукоидных штаммов, представляющих собой грамотрицательные неферментирующие глюкозу палочки, выделенных из образцов респираторного тракта больных муковисцидозом, является достаточным для идентификации микроорганизма как *P. aeruginosa*. Однако если выделяется беспигментный штамм, необходимо проследить основные биохимические характеристики, включая рост при 42 °C, гидролиз ацетамида, редукцию нитратов с образованием нитрогенного газа.

Значимым признаком для *P. aeruginosa*, как и для остальных представителей неферментирующих бактерий, является природная устойчивость к многим антибиотикам, что, вероятно, обусловлено, с одной стороны, тем, что для многих микроорганизмов основной экологической нишей является почва, а среди почвенных микроорганизмов известно достаточное число штаммов — продуцентов антибиотиков, а с другой — многообразием у этих представителей различных внекромосомных элементов (плазмид, бактериофагов), способных нести в составе генома детерминанты лекарственной устойчивости.

Исследование чувствительности штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от больных муковисцидозом, с помощью тест-системы АТВ и диско-диффузионным методом показало, что 100% штаммов *P. aeruginosa* были чувствительны к колистину, 85,5% — к цефтазидиму, 82% — к меропинему, 71% к имипенему, азлоциллину, левофлоксацину и тобрамицину, 75% — к офлоксацину и ципрофлоксацину, 97% — пиперациллин+тазобактам, 92% — пиперациллину.

82% штаммов *P. aeruginosa* были устойчивы к ампициллину — сульбактаму, 79% — к ко-тимоксазолу, 79% — к цефотаксиму, 62,5% — к цефтриаксону и 83% — к левомицетину.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ БАКТЕРИЙ ВСС

Идентификация бактерий комплекса *Vcc* является многоэтапной и единственной в практике, где необходима комбинация фенотипических и генотипических методов, т.е. использование полифазного

таксономического подхода. На 1-м этапе для выделения *Vcc* из образца осуществляют посев на селективную среду. Для выделения бактерий комплекса *Vcc* из мокроты больных муковисцидозом наиболее оптимальной является BCSA-агар (*Burkholderia* *seracina* selective agar), содержащий 1% лактозы, 1% сахарозы на обогащенной основе казеина и дрожжевого экстракта с добавлением 600 мкг/мл полимиксина В, 10 мкг/мл гентамицина и 2,5 мкг/мл ванкомицина. На этой среде растут преимущественно бактерии комплекса *Vcc*, но наряду с ними могут расти *B. gladioli*, виды *Ralstonia* и *S. maltophilia*.

После выделения бактерий на селективной среде необходимо осуществить их идентификацию с помощью молекулярно-генетических методов. Могут использоваться и другие дополнительные тесты: определение гемолитической, протеазной активности, способности образования биопленки. На современном этапе для типирования используется метод мультилокусного секвенирования и секвенирование генома [3, 4, 6, 7].

УСТОЙЧИВОСТЬ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ

Из анализа антибиотикограмм штаммов *Vcc* [5], выделенных от 67 больных детей от 5 до 17 лет и от 38 взрослых больных, в процессе динамического наблюдения выявлено, что все штаммы являются мультирезистентными. Установлено, что абсолютно все штаммы резистентны к амикацину, гентамицину, тобрамицину и имипенему. К ко-тимоксазолу резистентны 88,6%, к хлорамфениколу — 58,7%, к цефепиму — 80,8%, к цефоперазону — 76,5%, к ципрофлоксацину — 85,5%, к цефриаксону — 60,8%. Низкий процент резистентности был выявлен по отношению к меропенему и цефтазидиму — 14,1 и 17,9% соответственно. 71,8% штаммов были чувствительны к цефтазидиму, 56,4% — к меропенему. 90,9% штаммов *Vcc* были чувствительны к комбинированному антибиотику пиперациллин-тазобактаму. При исследовании чувствительности к антимикробным препаратам также установлено, что все штаммы полирезистентны к 5 антибиотикам: имипенему, ко-тимазолу, тобрамицину, гентамицину и амикацину, что может свидетельствовать об их госпитальном происхождении. Таким образом, можно сделать заключение, что в процессе лечения штаммы приобретают устойчивость к антимикробным препаратам, что делает возможным длительную персистенцию микроорганизма и препятствует эрадикации возбудителя. Надо отметить, что данные антибиотикограммы, полученные в результате исследования *in vitro*, могут не отражать «истинную» чувствительность возбудителя в условиях *in vivo*. Тест определения антибио-

тикочувствительности может зависеть как от свойств самого возбудителя, в том числе и от способности образовывать биопленку, так и от условий его культивирования. Зарубежными авторами было показано, что при исследовании 101 образца мокроты из каждого образца было выделено по 4 морфотипа колоний одного генотипа *P. aeruginosa* [15]. Среди одного морфотипа практически каждая колония имела антибиотикограмму, отличную от других колоний одного морфотипа. 48 колоний *P. aeruginosa*, выделенных из одного образца мокроты, имели различные антибиотикограммы. Однако приведенные выше данные не отрицают, а подтверждают необходимость постоянного мониторинга антибиотикочувствительности штаммов микроорганизмов у больных МВ.

Точная идентификация НФМО от больных МВ является наиболее сложной задачей. Очень часто нетипичные по фенотипическим свойствам микроорганизмы ошибочно могут диагностироваться как другие виды микроорганизмов. Ложная идентификация *P. aeruginosa* или *Bcc* может иметь нежелательные последствия, ведущие к выбору неправильной терапии и изоляции пациентов.

Например, в проведенном исследовании 2 штамма атипичной *P. aeruginosa* и 2 штамма *A. xylosoxidans* были неправильно идентифицированы API 20NE как *Bcc*, 12 штаммов *Bcc* биохимическими тестами (LaChema) были неправильно идентифицированы как другие НФМО [4]. Около 3,4% штаммов биохимическими тестами не удалось идентифицировать вообще. Для окончательной точной идентификации были использованы молекулярно-генетические методы.

Kiska et al. показали в своей работе, что точность идентификации НФМО 4 различных коммерческих тест-систем составляет 57–80%, а точность идентификации *Bcc* — 43–86%. При этом все тесты идентифицировали НФМО, не являющиеся *Bcc*, как *Bcc* [24].

В связи с этим методы, основанные на ПЦР, в частности real-time ПЦР, могут быть незаменимыми в сложных ситуациях.

Для точной идентификации *Bcc* необходимо соблюдать следующую схему:

- 1) посев мокроты на 5% кровяной агар, BCSA с дальнейшим выделением чистой культуры;
- 2) исследование чистой культуры молекулярно-генетическими методами: ПЦР на ген *recA* [1];
- 3) исследование мокроты молекулярно-генетическими методами [2].

ИДЕНТИФИКАЦИЯ *ACHROMOBACTER XYLOSOXIDANS*

A. xylosoxidans — оппортунистический патоген, оксидазо- и каталазоположительный грамотрицательный неферментирующий микроорганизм. Об-

ладает природной резистентностью ко многим антибиотикам.

В последнее время хроническую инфекцию, вызванную *A. xylosoxidans*, можно диагностировать как *Bcc* в связи с фенотипическим сходством с *Bcc* при культивировании на 5% кровяном агаре и ростом на BCSA — селективной для *Bcc* среде. Для подтверждения принадлежности бактерии к виду *A. xylosoxidans* необходимо использовать тест-системы API 20 NE (BioMerieux) и ПЦР для выявления локуса в 16S рДНК со специфическими праймерами AX-F1 и AX-B1 [25].

ИДЕНТИФИКАЦИЯ АНАЭРОБНОЙ ИНФЕКЦИИ

В результате процессов в легких при МВ, приводящих к нарушению мукозилиарного очищения, нарушается газообмен в легких и могут создаваться анаэробные условия, что способствует возникновению анаэробной инфекции. Исследования показали [4], что причиной легочной инфекции могут быть также анаэробные микроорганизмы. У 2 детей классические бактериологические методы не позволили идентифицировать возбудителя легочной инфекции. При исследовании мокроты с помощью real-time ПЦР были выявлены анаэробные микроорганизмы. Для выращивания и идентификации анаэробов необходимы специальные анаэробные условия (анаэростат). При отсутствии анаэростата методом выбора является ПЦР real-time, при использовании которой идентификация анаэробов возможна непосредственно в мокроте.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ РЕСПИРАТОРНОЙ ИНФЕКЦИИ У БОЛЬНЫХ МУКОВИСЦОДОЗОМ. ИСТОЧНИК ИНФЕКЦИИ

Около 40% здоровых людей являются носителями *S. aureus* на передней поверхности носовых ходов и на коже. В связи с этим важным источником хронической инфекции, вызванной золотистым стафилококком, могут быть здоровые лица, включая медперсонал, членов семей больных муковисцидозом и лица, с которыми общается больной муковисцидозом. Источником инфекции может быть также воздух медицинских палат, жилых комнат, в которых может циркулировать *S. aureus*. Особую опасность представляют метициллинустойчивые штаммы золотистого стафилококка (MRSA), которые, с одной стороны, свидетельствуют о приобретении больными таких штаммов, вероятнее всего, в больнице, а с другой — определяют проблему выбора antimикробных препаратов для лечения хронической инфекции, так как MRSA, как правило, устойчивы ко многим антибиотикам (28). Сообщается о возможности передачи MRSA пациентам с муковисцидозом от лиц без муковисцидоза (например,

медперсонала, родственников) или других пациентов с муковисцидозом. По данным российских исследователей [4], среди штаммов *S. aureus*, выделенных из мокроты больных с муковисцидозом, доля MRSA составляет около 20%. Предварительные результаты молекулярно-генетического типирования свидетельствуют о том, что определенная часть штаммов MRSA является внутрибольничными штаммами, тогда как другие, вероятно, имеют внегоспитальное происхождение. Инфицирование внутрибольничными штаммами свидетельствует о том, что госпитализация, хирургические вмешательства, использование катетеров могут быть факторами риска развития хронической респираторной инфекции у больных муковисцидозом.

P. aeruginosa также присутствует на коже 10–20% здоровых носителей, которые могут быть источником хронической инфекции у больных МВ, вызванной данным микроорганизмом [12, 14, 21]. Однако не исключается и возможность заражения больного в результате контактов с растениями и плодами, которые могут быть колонизированы синегнойной палочкой. Загрязненные водные источники, сточная система стационаров (раковины, туалеты, душевые), медицинские устройства, содержащие воду, могут быть резервуарами *P. aeruginosa* и приводить к инфицированию легких больных МВ. Установленная в некоторых исследованиях идентичность штаммов в водопроводной воде и у больных подтверждает возможность передачи бактерий из водопровода пациентам и наоборот. В стационарах не исключается роль рук медицинского персонала, а также воздуха палат в колонизации легких больных МВ [27, 30, 34, 37]. Таким образом, инфицирование *P. aeruginosa* происходит как прямым, так и непрямым контактным и воздушно-капельным путем. Госпитализация, контакты с больными МВ, инфицированными *P. aeruginosa*, медицинское оборудование, контаминированное *P. aeruginosa*, создают возможности для инфицирования больных МВ. В воде, как и во многих растворах, применяемых в медицине, *P. aeruginosa* может сохраняться до 1 года при комнатной температуре. Вода в бассейнах, загрязненная возбудителем, является идеальной средой для размножения *P. aeruginosa* и источником заражения. При молекулярно-генетическом типировании *P. aeruginosa* выявлены как достаточно значительные идентичные геногруппы, так и отдельные генотипы штаммов *P. aeruginosa*, что свидетельствует о разнообразии источников заражения больных, в том числе в госпитальных условиях.

Бактерии *Bcc*, насчитывающие в настоящее время 20 видов, обитают в почве и растениях. Они вызывают заболевание — гниль у лука. Их распростране-

ние во внешней среде, связанной с обитанием человека, остается недостаточно изученным. Бактерии *Bcc* иногда выявляют в клиниках у больных с раневой инфекцией, но определенную тропность они имеют у больных МВ и выделяются от больных с хронической инфекцией в 3–5% случаев, а в нашей стране он выше и у госпитализированных больных составляет 55%. По результатам многолетних исследований в отделении педиатрии РДКБ можно полагать, что передача *B. cereus* в стационаре осуществляется от пациента к пациенту и хроническая инфекция, вызванная данным возбудителем, является типичной внутрибольничной инфекцией, в связи с тем, что в стационаре постоянно выявляется один генотип и прослеживается клональность штамма *B. cereus* — геномовар 3A [3, 6, 10].

В целом выявление источников, путей передачи и резервуаров инфекции представляет собой трудную задачу, так как требует проведения постоянного мониторинга, требующего высокой квалификации микробиологов, эпидемиологов и лечащих врачей. Однако наиболее вероятными источниками инфекции являются пациенты с выраженной хронической инфекцией, особенно смешанной, вызванной несколькими видами микроорганизмов (перекрестная инфекция), контакты больных МВ со здоровыми носителями *S. aureus*, *P. aeruginosa*, и здесь наиболее значимыми и опасными являются носители среди медперсонала и родственников, с которыми постоянно контактируют больные, а также воздух и предметы окружающей среды, которые могут быть обсеменены микроорганизмами постоянно или временно. Вероятность передачи инфекции повышается со временем пребывания больного в стационаре, где находятся другие пациенты с хронической инфекцией, в связи с этим оптимальным является лечение таких больных в индивидуальных палатах и амбулаторно с разделением по времени приема согласно виду микроорганизмов, выделенных из дыхательных путей.

ПРОФИЛАКТИКА

Учитывая столь высокую чувствительность к колонизации микроорганизмами и дальнейшее развитие хронической инфекции легочной ткани больных МВ, а также то, что основные возбудители (*P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. cereus*) распространены в любом объекте внешней среды, всем больным МВ необходимо находиться в такой внешней среде, которая может постоянно подвергаться постоянной дезинфекции и дезактивации. Больные МВ должны быть ограничены в общении с большими контингентами людей, в связи с тем что 40% из них являются носителями золотистого стафилококка, а 10–20% — синегнойной палочки. При лечении

в стационаре во время обострения основного заболевания необходимо знать микробиологический статус больного (возбудителей хронической инфекции) и в соответствии с ним помещать в палату (при отсутствии индивидуальных палат) с пациентами, имеющими аналогичный микробиологический статус. Не должно допускаться размещение больных МВ в совместные палаты с хронической инфекцией легких, вызванной возбудителями разных видов. В этом случае возможно заражение больных от пациента к пациенту и развитие у них смешанной инфекции, которая имеет более тяжелое клиническое течение, чем моноинфекция. Одним из важнейших условий более благоприятного течения основного заболевания является его ранняя диагностика и проведение мероприятий, направленных на как можно более позднюю колонизацию легочной ткани возбудителями, вызывающими хроническую инфекцию. Выполнение условий, перечисленных выше, может способствовать увеличению продолжительности жизни больных МВ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева Г.В., Чернуха М.Ю., Шагинян И.А. Идентификация бактерий комплекса *Burkholderia cepacia* с помощью ПЦР // Полимеразная цепная реакция (ПЦР) и ее применение в бактериологии: учебно-методическое пособие для врачей-бактериологов / под ред. А.Л. Гинцбурга, Ю.М. Романовой. – М., 2006. – С. 117–26. [Alekseeva GV, Chernuha MJ, Shaginjan IA. Identification of bacteria of the *Burkholderia cepacia* complex using PCR. In: Polymerase chain reaction (PCR) and its application in bacteriology: Educational-methodical manual for doctors bacteriologic. Ed by A.L. Gincburga, Ju.M. Romanovoj. Moscow; 2006:117-26. (In Russ).]
2. Воронина О.Л., Кунда М.С., Аксенова Е.И., и др. Экспресс-диагностика микроорганизмов, поражающих дыхательные пути больных муковисцидозом // Клиническая лабораторная диагностика. – 2013. – № 11. – С. 53–8. [Voronina OL, Kunda MS, Aksanova EI, et al. Rapid diagnosis of microorganisms affecting the respiratory tract of patients with cystic fibrosis. *Klinicheskaja laboratornaja diagnostika*. 2013; (11):53-8. (In Russ).]
3. Воронина О.Л., Чернуха М.Ю., Шагинян И.А., и др. Характеристика генотипов штаммов *Burkholderia cepacia complex*, выделенных от больных в стационарах Российской Федерации // Мол. генетика. – 2013. – № 2. – С. 22–30. [Voronina OL, Chernuha MJ, Shaginjan IA, et al. Characterization of genotypes of strains of *Burkholderia cepacia* complex isolated from patients in hospitals of Russian Federation. *Mol genetika*. 2013;(2):22-30. (In Russ).]
4. Чернуха М.Ю., Аветисян Л.Р., Шагинян И.А., и др. Алгоритм микробиологической диагностики хронической инфекции легких у больных муковисцидозом // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2014. – Т. 16. – № 4. – С. 276–90. [Chernuha MJ, Avetisjan LR, Shaginjan IA, et al. Algorithm for microbiological diagnosis of chronic lung infection in cystic fibrosis patients. *Klin Mikrobiol Antimikrob. Himore*. 2014;16(4):276-90. (In Russ).]
5. Чернуха М.Ю., Аветисян Л.Р., Шагинян И.А., и др. Фенотипические и генотипические особенности штаммов бактерий *Burkholderia cepacia complex*, выделенных от больных муковисцидозом // Педиатрия. – 2014. – Т. 93. – № 4. – С. 24–31. [Chernuha MJ, Avetisjan LR, Shaginjan IA, et al. Phenotypic and genotypic characteristics of strains of the bacterium *Burkholderia cepacia* complex isolated from cystic fibrosis patients. *Pediatrija*. 2014;93(4):24-31. (In Russ).]
6. Чернуха М.Ю., Алексеева Г.В., Шагинян И.А., и др. Исследование вирулентных свойств госпитальных штаммов бактерий комплекса *B. Cepacia*, выделенных в стационарах города Москвы // ЖМЭИ. – 2005. – Т. 6. – С. 46–51. [Chernuha MJ, Alekseeva GV, Shaginjan IA, et al. Study of virulent properties of hospital strains of bacteria of the *B. Cepacia* complex, isolated in hospitals of Moscow // *J of Microbiol Epidemiol and Immunobiol*. 2005;6:46-51. (In Russ).]
7. Чернуха М.Ю., Шагинян И.А., Капранов Н.И., и др. Персистенция *Burkholderia cepacia* у больных муковисцидозом. ЖМЭИ. – 2012. – № 4. – С. 93–8. [Chernuha MJ, Shaginjan IA, Kapranov NI, et al. Persistence of *Burkholderia cepacia* in cystic fibrosis patients // *J of Microbiol Epidemiol and Immunobiol*. 2012;(4):93-8. In Russ).]
8. Шагинян И.А., Дмитренко О.А. Молекулярная эпидемиология внутрибольничных инфекций, вызываемых метициллинустойчивыми стафилококками // ЖМЭИ. – 2003. – № 3. – С. 99–109. [Shaginjan IA, Dmitrenko OA. Molecular epidemiology of nosocomial infections caused by staphylococci methicillininsusceptible // *J of Microbiol Epidemiol and Immunobiol*. 2003;(3):99-109. (In Russ).]
9. Шагинян И.А., Капранов Н.И., Чернуха М.Ю., и др. Микробный пейзаж нижних дыхательных путей у различных возрастных групп детей, больных муковисцидозом // ЖМЭИ. – 2010. – № 1. – С. 15–20. [Shaginjan IA, Kapranov NI, Chernuha MJ, et al. Microbial landscape of the lower respiratory tract in different age groups of children with cystic fibrosis. *J of Microbiol Epidemiol and Immunobiol*. 2010;(1): 15–20. (In Russ).]
10. Шагинян И.А., Капранов Н.И., Чернуха М.Ю., и др. Особенности микрофлоры нижних дыхательных путей у различных возрастных групп детей больных муковисцидозом // Сборник «Муковисцидоз в России». – Ярославль, 2011. – С. 64–71. [Shaginjan IA, Kapranov NI, Chernuha MJ, et al. Microflora of the lower respiratory tract in different age groups of

- children with cystic fibrosis. In: *Mukoviscidoz v Rossii. Jaroslavl'*; 2011:64-71. (In Russ.)
11. Шагинян И.А., Чернуха М.Ю. Неферментирующие грамотрицательные бактерии в этиологии внутрибольничных инфекций: клинические, микробиологические и эпидемиологические особенности // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2005. – Т. 7. – № 3. – С. 271–285. [Shaginjan IA, Chernuha MJ. Nonfermentative gram-negative bacteria in the etiology of nosocomial infections: clinical, microbiological and epidemiological features. *Klin Mikrobiol Antimikrob Himoter.* 2005;7(3):271-85. (In Russ.)]
12. Cheng K, Smith RL, Govan JR, et al. Spread of beta-lactam-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a cystic fibrosis clinic. *Lancet.* 1996;348(9028):639-42. doi: 10.1016/s0140-6736(96)05169-0.
13. Demco CA, Stern RC, Doershuk CF. *Stenotrophomonas maltophilia* in cystic fibrosis: incidence and prevalence. *Pediatr Pulmonol.* 1998;25(5):304-8. doi: 10.1002/(sici)1099-0496(199805)25:5<304::aid-ppul3>3.0.co;2-i.
14. Doring G, Jansen S, Noll J, et al. Distribution and transmission of *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia* in a hospital ward. *Pediatr Pulmonol.* 1996;21(2):90-100. doi: 10.1002/(sici)1099-0496(199602)21:2<90::aid-ppul5>3.0.co;2-t.
15. Foweraker JE, Laughton CR, Brown DFJ, Bilton D. Phenotypic variability of *Pseudomonas aeruginosa* in sputa from patients with acute infective exacerbation of cystic fibrosis and its impact on the validity of antimicrobial susceptibility testing. *J Antimicrob Chem.* 2005; 55(6): 921-7. doi: 10.1093/jac/dki146.
16. Gilligan PH, Lum G, Vandamme PAR, Whittier S. *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Ralstonia*, *Brevundimonas*, *Comamonas*, *Delftia*, *Pandorea*, and *Acidovorax*. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Yolken RH, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. Washington: ASM Press; 2003.
17. Gold R, Jin E, Levison H, Isles A, Fleming PC. Ceftazidime alone and in combination in patients with cystic fibrosis: lack of efficacy in treatment of severe respiratory infections caused by *Pseudomonas cepacia*. *J Antimicrob Chemother.* 1983;12(Suppl A): 331-6. doi: 10.1093/jac/12.suppl_a.331.
18. Govan JRW, Baklandreau J, Vandamme P. *Burkholderia cepacia* – Friend and Foe. *ASM News.* 2000; 66: 124-5.
19. Group., Cystic Fibrosis Trust Microbiology Laboratory Standards Working. Laboratory standards for processing microbiological samples from people with cystic fibrosis. Report of the UK Cystic Fibrosis Trust Microbiology Laboratory Standards Working Group, September 2010.
20. Hauser AR, Jain M, Bar-Meir M, McColley SA. Microbes and outcomes in cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev.* 2011;24:1-70.
21. Jones AM, Govan JRW, Doherty CJ, et al. Identification of airborne dissemination of epidemic multiresistant strains of *P. aeruginosa* at a CF centre during a crossinfection outbreak. *Thorax.* 2003;58(6):525-7. doi: 10.1136/thorax.58.6.525.
22. Kilby JM, Gilligan PH, Yankaskas JR, et al. Nontuberculous mycobacteria in adult patients with cystic fibrosis. *Chest.* 1992;102(1):70-5. doi: 10.1378/chest.102.1.70.
23. Kiska DL, Gilligan PH. *Pseudomonas*. In: Murray P.R., Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Yolken RH, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. Washington: ASM Press; 2003.
24. Kiska DL, Kerr A, Jones MC, et al. Accuracy of four commercial systems for identification of *Burkholderia cepacia* and other Gram-negative non-fermenting bacilli recovered from patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol.* 1996;34:886-91.
25. Lambiase A, Catania MR, Del Pezzo M, et al. *Achromobacter xylosoxidans* respiratory tract infection in cystic fibrosis patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2011;30(8):973-80. doi: 10.1007/s10096-011-1182-5.
26. Liu L, Coenye T, Burns JL, et al. Ribosomal/DNA-directed PCR for identification of *Achromobacter* (Alcaligenes) *xylosoxidans* recovered from sputum samples from cystic fibrosis patients. *J Clin Microbiol.* 2002;40(4):1210-3. doi: 10.1128/jcm.40.4.1210-1213.2002.
27. Munck A, Bonacorsi S, Mariani-Kikdjan P, et al. Genotypic characterization of *Pseudomonas aeruginosa* strains recovered from patients with cystic fibrosis after initial and subsequent colonization. *Pediatr Pulmonol.* 2001; 32(4):288-92. doi: 10.1002/ppul.1121.
28. Olivier KN, Handler A, Less JH, Tudor J, Knowles MR. Clinical impact of nontuberculous mycobacteria on the course of cystic fibrosis lung disease: results of multicenter nested cohort study. *Pediatr Pulmonol.* 2000;102-103.
29. Sadikot RT, Blackwell TS, Christman JW, Prince AS. Pathogen-host interactions in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171(11):1209-23. Epub 2005 Feb 1. Review. doi: 10.1164/rccm.200408-1044so.
30. Saiman L, Siegel J. Infection control recommendations for patients with cystic fibrosis: microbiology, important pathogens, and infection control practices to prevent patient-to-patient transmission. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2003;24(s5):6-52. doi: 10.1086/503485.
31. Saiman L, Siegel J. Infection control recommendations for patients with cystic fibrosis: microbiology, important pathogens, and infection control practices to prevent patient- to-patient transmission. *Infection control and hospital epidemiology.* Suppl. May. 2003; 24(5):1-52.

32. Schreckenberger PC, Daneshvar MI, Weyant RS, Hollis DG. *Acinetobacter, Achromobacter, Chryseobacterium, Moraxella*, and other nonfermentative gram-negative rods. In: Murray PR, Baron El, Jorgensen JH, Pfaffer MA, Yolken RH, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. Washington: ASM Press; 2003.
33. Sousa SA, Ramos CG, Leitão JH. *Burkholderia cepacia Complex: Emerging Multihost Pathogens Equipped with a Wide Range of Virulence Factors and Determinants*. *Int J Microbiol*. 2011;1-9. doi: 10.1155/2011/607575.
34. Speert DP, Campbell ME. Hospital epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* from patients with cystic fibrosis. *J Hosp Infect*. 1987;9(1):11-21. doi: 10.1016/0195-6701(87)90089-2.
35. Takahashi T, Satoh I, Kikuchi N. Phylogenetic relationships of 38 taxa of the genus *Staphylococcus* based on 16S rRNA gene sequence analysis. *Int J Syst Bacteriol*. 1999;49(2):725-8. doi: 10.1099/00207713-49-2-725.
36. Wellinghausen N, Köthe J, Wirths B, et al. Superiority of molecular techniques for identification of Gram-negative, oxidase-positive rods, including morphologically nontypical *Pseudomonas aeruginosa*, from patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol*. 2005;43(8):4070-5. doi: 10.1128/JCM.43.8.4070-4075.2005.
37. Witchurch CB, Tolker-Nielsen T, Ragas PC, Mattick JS. Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation. *Science*. 2002;295(5559):1485-7. doi: 10.1126/science.295.5559.1487.

◆ Информация об авторах

Игорь Андronикович Шагинян – д-р мед. наук, заведующий лабораторией молекулярной эпидемиологии госпитальных инфекций. ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. E-mail: shaginyan@gamaleya.org.

Марина Юрьевна Чернуха – д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии госпитальных инфекций. ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. E-mail: chernukha@gamaleya.org.

Николай Иванович Капранов – д-р мед. наук, профессор, з.д.н. РФ, главный научный сотрудник научно-консультативного отдела муковисцидоза. ФГБНУ «Медико-генетический научный центр». E-mail: nikolay.i.kapranov@gmail.com.

Елена Ивановна Кондратьева – д-р мед. наук, профессор. Руководитель научно-консультативного отдела муковисцидоза. ФГБНУ «Медико-генетический научный центр». E-mail: elenafpk@mail.ru.

Наталья Юрьевна Каширская – д-р мед. наук, профессор. Главный научный сотрудник лаборатории генетической эпидемиологии. ФГБНУ «Медико-генетический научный центр». E-mail: kashirskayanj@mail.ru.

Елена Львовна Амелина – канд. мед. наук. Руководитель лаборатории муковисцидоза. ФГБУ «Научно-исследовательский институт пульмонологии» Федерального медико-биологического агентства России. E-mail: eamelina@mail.ru.

Ирина Карловна Ашерова – д-р мед. наук. Заведующая отделением пульмонологии. ГУЗ Ярославской области «Детская клиническая больница № 1». E-mail: irina_asherova@mail.ru.

Igor A. Shaginyan – MD, PhD, Dr Med Sci, Head of Laboratory Molecular Epidemiology of Hospital Infections. FSBI "N.F. Gamaleya Federal Research Centre of Epidemiology and Microbiology" of the Ministry of health of Russia. E-mail: shaginyan@gamaleya.org.

Marina Yu. Chernukha – MD, PhD, Leading Scientist, Laboratory Molecular Epidemiology of Hospital Infections. FSBI "N.F. Gamaleya Federal Research Centre of Epidemiology and Microbiology" of the Ministry of health of Russia. E-mail: chernukha@gamaleya.org.

Nikolay I. Kapranov – MD, PhD, Dr Med Sci, Professor, Chief. Scientific Researcher of the Scientific Advisory Department of Cystic Fibrosis. FSBSI "Research Centre for Medical Genetics". E-mail: nikolay.i.kapranov@gmail.com.

Elena I. Kondratyeva – MD, PhD, Dr Med Sci, Professor Head of the Research Department of Cystic Fibrosis. FSBSI "Research Centre of Medical Genetics". E-mail: elenafpk@mail.ru.

Nataliya Yu. Kashirskaya – MD, PhD, Dr Med Sci, Professor, Leading Research Fellow, Laboratory of Genetic Epidemiology. FSBSI "Research Centre of Medical Genetics". E-mail: kashirskayanj@mail.ru.

Elena L. Amelina – MD, PhD, Head of Cystic Fibrosis Laboratory. FSBI "Scientific Research Institute of Pulmonology" of the Federal Medical-Biological Agency of Russia. E-mail: eamelina@mail.ru.

Irina K. Asherova – MD, PhD, Dr Med Sci, Head of the Pulmonary Department. SIH of the Yaroslavl Region "Children's Clinical Hospital N 1". E-mail: irina_asherova@mail.ru.

Игорь Константинович Волков – д-р мед. наук, профессор. ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва.

Татьяна Евгеньевна Гембицкая – д-р мед. наук, профессор. Заведующая отделом терапевтической пульмонологии НИИ пульмонологии ГБОУ ВПО ПСПБГМУ им. академика И.П. Павлова Минздрава России. E-mail: mukoviscidoz_otd@mail.ru.

Евгений Константинович Гинтер – д-р биол. наук, профессор, академик РАН. Научный руководитель ФГБНУ «Медико-генетический научный центр». 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1. E-mail: ekginter@mail.ru.

Наталья Анатольевна Ильенкова – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой детских болезней. ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России. E-mail: ilenkova1@mail.ru.

Ирина Петровна Каримова – канд. мед. наук. Заведующая отделением пульмонологии. ГБУЗ «Челябинская областная детская клиническая больница». E-mail: eamelina@mail.ru.

Станислав Александрович Красовский – канд. мед. наук, с.н.с. лаборатории муковисцидоза. ФГБУ «Научно-исследовательский институт пульмонологии» Федерального медико-биологического агентства России. E-mail: sa_krasovsky@mail.ru.

Нина Борисовна Мерзлова – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой госпитальной педиатрии. ГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет им. Е.А. Вагнера» Минздрава России. E-mail: nmerzlova@yandex.ru.

Людмила Павловна Назаренко – д-р мед. наук, профессор, з.вр. РФ, зам. директора по научной и лечебной работе. ФГБНУ «НИИ медицинской генетики». E-mail: Ludmila.nazarenko@medgenetics.ru.

Лейла Сеймурновна Намазова-Баранова – д-р мед. наук, профессор. Директор НИИ педиатрии. ФГБУ «Научный центр здоровья детей» Минздрава России. E-mail: namazova@nczd.ru.

Алла Фёдоровна Неретина – д-р мед. наук, профессор. ГБОУ ВПО «Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России. E-mail: neretinaalla@mail.ru.

Виктория Сергеевна Никонова – канд. мед. наук, старший научный сотрудник научно-консультативного отдела муковисцидоза. ФГБНУ «Медико-генетический научный центр». E-mail: nikonovavs@mail.ru.

Александр Владимирович Орлов – канд. мед. наук, доцент, заведующий инфекционно-боксированным отделением № 3. СПб ГБУЗ «Детская городская больница Святой Ольги». E-mail: orlovcf@rambler.ru.

Сергей Сергеевич Постников – д-р мед. наук, профессор кафедры клинической фармакологии. ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России. E-mail: clinpharm@rambler.ru.

Igor K. Volkov – MD, PhD, Dr Med Sci, Professor. I.M. Sechenov First Moscow State Medical University. Moscow, Russia.

Tatyana E. Gembitskaya – MD, PhD, Dr Med Sci, Professor, Head of Therapeutics Pulmonology Department. Pulmonology Scientific Research Institute of Pavlov First Saint Petersburg State Medical University. E-mail: mukoviscidoz_otd@mail.ru.

Evgeniy K. Ginter – MD., PhD, Dr Med Sci, Professor. Director of the FSBSI “Research Centre of Medical Genetics”. 1, Moskvorechye St., Moscow, 115478, Russia. E-mail: ekginter@mail.ru.

Nataliya A. Il'enkova – M.D., PhD, Dr Med Sci, Professor, Head of Child Diseases Department. Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky. E-mail: ilenkova1@mail.ru.

Irina P. Karimova – MD, PhD, Head of Pulmonology Department. GBUZ "Chelyabinsk regional children's clinical hospital". E-mail: karimova_med@mail.ru.

Stanislav A. Krasovskiy – MD, PhD, Research Fellow of the Laboratory of Cystic Fibrosis. FSBI "Scientific Research Institute of Pulmonology" of the Federal Medical-Biological Agency of Russia. E-mail: sa_krasovsky@mail.ru.

Nina B. Merzlova – MD, PhD, Dr Med Sci, Professor, Head of Department of Hospital Pediatrics. "Perm State Medical University n. a. E.A. Wagner" of the MOH of Russia. E-mail: nmerzlova@yandex.ru.

Ludmila P. Nazarenko – MD, PhD, Dr Med Sci, Professor, Federal State Budgetary Institution “Research Institute of Medical Genetics”. E-mail: Ludmila.nazarenko@medgenetics.ru.

Leila S. Namazova-Baranova – MD, PhD, Dr Med Sci, Professor. Director of the Research Institute of Pediatrics, FSB Institution "Scientific Center of Children's Health" of the Ministry of Health of the Russian Federation. E-mail: namazova@nczd.ru.

Alla F. Neretina – MD, PhD, Dr Med Sci, Professor. Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko. E-mail: neretinaalla@mail.ru.

Victoria S. Nikonova – MD, PhD, Scientific Researcher of Department of Cystic Fibrosis. FSBSI “Research Centre of Medical Genetics”. Russia. E-mail: nikonovavs@mail.ru.

Aleksandr V. Orlov – MD, PhD, Associate Professor, Head of Infectious Boxed Department N 3. Saint Petersburg "Child hospital of St. Olga". E-mail: orlovcf@rambler.ru.

Sergei S. Postnikov – MD, PhD, Dr Med Sci, Professor. Department of Clinical Pharmacology. The Pirogov Russian National Research Medical University. E-mail: clinpharm@rambler.ru.

Татьяна Александровна Протасова – заведующая отделением острых респираторных инфекций, руководитель областного центра муковисцидоза для детей. ГАУЗ «Кемеровская областная клиническая больница». E-mail: protasova-oori@yandex.ru.

Сергей Юрьевич Семыкин – канд. мед. наук. Заведующий отделением педиатрии. ФГБУ «Российская детская клиническая больница» Минздрава России. E-mail: dr.semykin@mail.ru.

Диана Фикретовна Сергиенко – д-р мед. наук, доцент кафедры факультетской педиатрии. ГБОУ ВПО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: gazken@rambler.ru.

Ольга Игоревна Симонова – д-р мед. наук, профессор, заведующая отделением пульмонологии и аллергологии. ФГБУ «Научный центр здоровья детей» Минздрава России. E-mail: oisimonova@mail.ru.

Ирина Дмитриевна Успенская – д-р мед. наук, заведующая «Клиникой патологии тонкой кишки». ФГБУ «Нижегородский НИИ детской гастроэнтерологии» Минздрава России. E-mail: uspenskaya.i.d@gmail.com.

Лидия Абрамовна Шабалова – канд. мед. наук, старший научный сотрудник научно-консультативного отдела муковисцидоза. ФГБНУ «Медико-генетический научный центр». E-mail: shabalova.lidia@yandex.ru.

Виктория Давидовна Шерман – канд. мед. наук, старший научный сотрудник научно-консультативного отдела муковисцидоза. ФГБНУ «Медико-генетический научный центр». E-mail: tovika@yandex.ru.

Tatiyana A. Protasova – Head of the Department of Acute Respiratory Infections, the Head of the Regional Center for Cystic Fibrosis for Kids. SAHI "Kemerovo Regional Clinical Hospital". E-mail: protasova-oori@yandex.ru.

Sergei Yu. Semykin – MD PhD, Head of Pediatrics Department. FSBI "Russian Pediatric Clinical Hospital". E-mail: dr.semykin@mail.ru.

Diana F. Sergienko – MD PhD, Dr Med Sci, Associate Professor of Department of Faculty Pediatrics. Astrakhan State Medical University. E-mail: gazken@rambler.ru.

Olga I. Simonova – MD, PhD, Dr Med Sci, Professor, Head of Pulmonology and Allergology Department. FSB Institution "Scientific Center of Children's Health" of the Ministry of Health of the Russian Federation. E-mail: oisimonova@mail.ru.

Irina D. Uspenskaya – MD, PhD, Dr Med Sci, Head of "Clinical Pathology of the Small Intestine". FSBI "Nizhny Novgorod research Institute of Pediatric Gastroenterology". E-mail: uspenskaya.i.d@gmail.com.

Lidiya A. Shabalova – MD, PhD, Scientific Researcher of Department of Cystic Fibrosis. FSBSI "Research Centre of Medical Genetics". E-mail: shabalova.lidia@yandex.ru.

Victoria D. Sherman – MD, PhD, Scientific Researcher of Department of Cystic Fibrosis. FSBSI "Research Centre of Medical Genetics". Russia. E-mail: tovika@yandex.ru.