

Е.А. Сиянова¹, М.Ю. Чернуха¹, Л.Р. Аветисян¹, И.А. Шагинян¹, А.Г. Прилипов¹,
Е.В. Усачев¹, Е.И. Кондратьева², Т.В. Припутневич³, А.Б. Гордеев³, Н.Ю. Каширская²,
Н.И. Капранов², Н.А. Ильенкова⁴, С.А. Красовский⁵, В.Д. Шерман²,
А.Ю. Воронкова², Е.Л. Амелина⁵, М.В. Усачева⁵

МОНИТОРИНГ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ ЛЕГКИХ У БОЛЬНЫХ МУКОВИСЦИДОЗОМ, ВЫЗВАННОЙ БАКТЕРИЯМИ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

¹ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, МЗ РФ, ²ФГБУ МГНЦ ФАНО России,
³ФГБУ НЦАГП им. В.И. Кулакова, МЗ РФ, Москва; ⁴ГБОУ ВПО КГМУ им. Ф.В. Войно-Ясенецкого,
г. Красноярск, ⁵ФГБУ НИИ пульмонологии ФМБА России, Москва, РФ



Бактерии *Pseudomonas aeruginosa* являются наиболее значимыми возбудителями хронической легочной инфекции у больных муковисцидозом (МВ) и обнаруживаются в легких детей больных МВ уже в возрасте 1–4 лет в 31% случаев, а среди больных старше 18 лет – в 60%. Цель исследования – изучение изолятов *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов с МВ, при мониторинге хронической инфекции легких. Исследованы 106 изолятов *P. aeruginosa*, выделенных от больных МВ детей и взрослых в динамике. Установлено, что у 59% пациентов развивается хроническая инфекция легких, обусловленная как персистенцией одного генотипа *P. aeruginosa*, так и приобретением другого генотипа после эрадикации исходного. Результаты исследования антибиотикочувствительности показали, что наиболее эффективными препаратами для лечения инфекций, вызванных *P. aeruginosa* у детей больных МВ, были колистин, цефтазидим, ципрофлоксацин и левофлоксацин, а у взрослых – ципрофлоксацин, левофлоксацин, тобрамицин. Штаммы *P. aeruginosa* характеризовались генетическим разнообразием, среди которых ST273, ST274, ST612, ST235 имели эпидемиологическое значение. Мониторинг фенотипических и генотипических свойств показал, что бактерии *P. aeruginosa* способны к быстрой адаптации и выживанию в измененных условиях окружающей среды, в т.ч. вызванной антибиотикотерапией.

Ключевые слова: муковисцидоз, *Pseudomonas aeruginosa*, мониторинг, хроническая инфекция, антибиотикорезистентность, гипермутабельность, MLST.

Цит.: Е.А. Сиянова, М.Ю. Чернуха, Л.Р. Аветисян, И.А. Шагинян, А.Г. Прилипов, Е.В. Усачев, Е.И. Кондратьева, Т.В. Припутневич, А.Б. Гордеев, Н.Ю. Каширская, Н.И. Капранов, Н.А. Ильенкова, С.А. Красовский, В.Д. Шерман, А.Ю. Воронкова, Е.Л. Амелина, М.В. Усачева. Мониторинг хронической инфекции легких у больных муковисцидозом, вызванной бактериями *Pseudomonas aeruginosa*. Педиатрия. 2018; 97 (2): 77–86.

Е.А. Sivanova¹, М.Ю. Chernukha¹, Л.Р. Avetisyan¹, И.А. Shaginyan¹, А.Г. Prilipov¹,
Е.В. Usachev¹, Е.И. Kondratieva², Т.В. Priputnevich³, А.Б. Gordeev³, Н.Ю. Kashirskaya²,
Н.И. Kapranov², Н.А. Ilyenkova⁴, С.А. Krasovskiy⁵, В.Д. Sherman², А.Ю. Voronkova²,
Е.Л. Amelina⁵, М.В. Usacheva⁵

MONITORING OF CHRONIC LUNG INFECTION IN PATIENTS WITH CYSTIC FIBROSIS CAUSED BY *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Контактная информация:

Кондратьева Елена Ивановна – д.м.н., проф.,
зав. научно-клиническим отделом муковисцидоза
ФГБНУ «МГНЦ», зав. отделением муковисцидоза
ГБУЗ МО «МОКДЦД», врач высшей категории
Адрес: Россия, 115478, г. Москва,
ул. Москворечье, 1
Тел.: (916) 255-33-85, E-mail: elenafpk@mail.ru
Статья поступила 17.10.17,
принята к печати 20.02.18.

Contact Information:

Kondratieva Elena Ivanovna – MD, prof., head
of scientific-clinical department of cystic fibrosis,
Research Centre of Medical Genetics; head of cystic
fibrosis department, Moscow Regional Consultative
and Diagnostic Center for Children, doctor of the
highest category
Address: Russia, 115478, Moscow,
Moskvorechye str., 1
Tel.: (916) 255-33-85, E-mail: elenafpk@mail.ru
Received on Oct. 17, 2017,
submitted for publication on Feb. 20, 2018.

Pseudomonas aeruginosa bacteria are the most significant pathogens of chronic pulmonary infection in patients with cystic fibrosis (CF) and are found in the lungs of CF patients at the age of 1–4 years in 31% of cases, and in 60% of patients older than 18 years. Objective of the research – to study *P. aeruginosa* isolates obtained from CF patients with chronic lung infection. 106 isolates of *P. aeruginosa* from children and adults with CF in dynamics were studied. The study revealed that 59% of patients have chronic lung infection, caused by both the persistence of one *P. aeruginosa* genotype, and developing of another genotype after eradication of the original. The results of antibiotic sensitivity study showed that the most effective drugs for treatment of infections caused by *P. aeruginosa* in children with CF were colistin, ceftazidime, ciprofloxacin and levofloxacin, and in adults – ciprofloxacin, levofloxacin, tobramycin. *P. aeruginosa* strains were characterized by genetic diversity, among which ST273, ST274, ST612, ST235 had epidemic significance. Monitoring of phenotypic and genotypic properties revealed that *P. aeruginosa* bacteria are capable of rapid adaptation and survival in changed environmental conditions, incl. caused by antibiotic therapy.

Keywords: cystic fibrosis, *Pseudomonas aeruginosa*, monitoring, chronic infection, antibiotic resistance, hypermutability, MLST.

Quote: E.A. Siyanova, M.Y. Chernukha, L.R. Avetisyan, I.A. Shaginyan, A.G. Prilipov, E.V. Usachev, E.I. Kondratieva, T.B. Priputnevich, A.B. Gordeev, N.Y. Kashirskaya, N.I. Kapranov, N.A. Ilyenkova, S.A. Krasovskiy, V.D. Sherman, A.Y. Voronkova, E.L. Amelina, M.V. Usacheva. Monitoring of chronic lung infection in patients with cystic fibrosis caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Pediatrics*. 2018; 97 (2): 77–86.

Муковисцидоз (МВ) или кистозный фиброз (cystic fibrosis) – тяжелое аутосомно-рецессивное генетическое заболевание, связанное с мутациями в гене *CFTR* (муковисцидозного трансмембранного регулятора проводимости). Для большинства пациентов неблагоприятный прогноз связан с хронической инфекцией легких, вызванной доминирующими возбудителями – *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia ceracia complex*, *Achromobacter spp.* и другими неферментирующими микроорганизмами, требующей постоянной дорогостоящей антибиотикотерапии (АБТ). Результаты Федеральной программы обязательного неонатального скрининга на МВ показали, что заболеваемость МВ среди населения РФ в среднем составляет 1 на 10 000, при региональном различии от 1:2500 до 1:17 000 [1].

Инфекционные процессы в легких с генерализацией инфекции и развитием сепсиса в 95% случаев являются причиной летальных исходов у больных МВ.

Бактерии *Pseudomonas aeruginosa* являются наиболее значимыми возбудителями хронической легочной инфекции у больных МВ. Вид *P. aeruginosa* входит в род *Pseudomonas* (sensu stricto), включающий соответствующую rRNA группу 1 и объединяющий 11 видов: *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas veronii*, *Pseudomonas monteilii*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas mendocina*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas luteola*, *Pseudomonas oryzihabitans*. Естественной средой обитания этих микроорганизмов являются почва и вода. *P. aeruginosa* может присутствовать на овощах и фруктах. Среди здоровых людей 10–20% являются носителями синегнойной палочки [1].

Синегнойная палочка обнаруживается в легких детей больных МВ уже в возрасте 1–4 лет в 31% случаев, а среди больных старше 18 лет – в 60% [2]. С увеличением возраста у больных формируются очаги хронической смешанной инфекции, вызванной *P. aeruginosa* и *S. aureus*, которая к 18 годам обнаруживается у 80% пациентов [1, 3].

В процессе адаптации синегнойной палочки к окружающей среде в легких больных МВ происходит изменение ее фенотипа. Эти микроорганизмы могут иметь мукоидный и немучоидный фенотип. Бактерии с мукоидным фенотипом способны к гиперпродукции альгината. Кроме того, колонии *P. aeruginosa* могут иметь SCV (small colony variants) фенотип – мелкие медленно растущие колонии. Бактерии с такими фенотипами характеризуются высокими адгезивными свойствами и способностью к образованию биопленок (БП). Бактерии, организованные в БП, защищены от антибактериальных препаратов (АБП) и факторов иммунной защиты макроорганизма. Способность к образованию БП является маркером хронической инфекции легких. Хроническая инфекция легких с периодическими обострениями приводит к снижению функции легких и к таким осложнениям, как пневмония, абсцесс, бронхоэктазы, «легочное сердце», и в итоге к неблагоприятному исходу [1].

Целью нашего исследования было изучение изолятов *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов больных МВ, при мониторинге хронической инфекции легких.

Материалы и методы исследования

Впервые в России в результате проводимого мониторинга микрофлоры нижних дыхательных путей у 315 больных с МВ с 2005 по 2015 гг. была собрана коллекция штаммов *P. aeruginosa*, выделенных из

мокроты детей (до 18 лет) и взрослых (от 18 до 32 лет), проходивших лечение в ФГБУ «РДКБ» МЗ РФ, ФГБУ МГНЦ РАМН, ФГУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России, Медицинских Центров муковисцидоза Самары и Красноярска. Наличие синегнойной инфекции было установлено у 123 пациентов (39%), среди них тяжелое течение наблюдали у 37 (30%) пациентов. В данном исследовании были изучены 213 изолятов *P. aeruginosa*, выделенных из мокроты 106 больных за 2005–2015 гг. – от 84 детей и 22 взрослых. В контрольную группу вошли 69 пациентов, не страдающих МВ.

Идентификацию бактерий проводили общепринятыми микробиологическими и биохимическими методами, используя алгоритм микробиологической диагностики мокроты, разработанный сотрудниками лаборатории молекулярной эпидемиологии госпитальных инфекций ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи [4]. Чувствительность к АБП штаммов *P. aeruginosa* определяли диско-диффузионным методом на агаре Мюллера–Хинтона согласно МУК 4.2.1890-04 и с использованием тест-системы АТВ pse 5 (Biomerieux, Франция). Контроль качества определения чувствительности проводили с помощью контрольного штамма *P. aeruginosa* ATCC 27853. Для интерпретации результатов антибиотикочувствительности *P. aeruginosa* использовали критерии NCCLS-CLSI [5]. С помощью диско-диффузионного метода определяли чувствительность к имипенему, азлоциллину, цефотаксиму, цефтазидиму, цефтриаксону, гентамицину, офлоксацину, цiproфлоксацину, левофлоксацину, тобрамицину. С помощью тест-системы АТВ определяли чувствительность к следующим АБП: ампициллин-сульбактаму (fam), тикарциллину (tic), тикарциллину pse (ticp), тикарциллин-клавулановой кислоте (tcc), тикарциллин – клавулановой кислоте pse (tccp), пиперациллину (pic), пиперациллину pse (picp), пиперациллин-тазобактаму (tzp), пиперациллин-тазобактаму pse (tzpp), меропенему (mero), амикацину (akn), колистину (col), ко-тримоксазолу (tsu). Способность штаммов *P. aeruginosa* образовывать БП определяли на поверхности 96-луночного полистиролового планшета [6]. Оптическую плотность (ОП) БП измеряли на спектрофотометре (длина волны 540 нм). Количественным выражением степени образования БП служили значения ОП, измеряемые на спектрофотометре. Для определения чувствительности *P. aeruginosa* к фагам использовали бактериофаги «Микроген» (Россия): пиобактериофаг поливалентный, интести-бактериофаг и синегнойный бактериофаг. Постановку тестов и интерпретацию результатов проводили в соответствии с Федеральными клиническими рекомендациями. Исследование продукции металло-β-лактамаз (МβЛ) проводили фенотипическим методом «двойных дисков с ЭДТА» [7]. Гипермутабельность изолятов *P. aeruginosa* исследовали с использованием метода серийных разведений на агаре Мюллер–Хинтона с добавлением рифампицина [8]. Генотипирование штаммов проводили методом RAPD-ПЦП (Random Amplified Polymorphic DNA) с произвольным праймером, размером 10 нуклеотидов Short 1 (AATCGGGCTG, «Синтол»).

Статистическую обработку результатов, используя численные и графические методы описательной

статистики, проводили в программе «Excel». Оценку достоверности различий значений по двум сравниваемым группам проводили по t-критерию Стьюдента.

Результаты

Микробиологическое исследование мокроты от больных МВ показало, что бактерии *P. aeruginosa* персистируют в легких в ассоциации с другими микроорганизмами. Моноинфекцию наблюдали в 28% случаев. Наиболее часто встречающимися ассоциациями были: *P. aeruginosa* + *Staphylococcus aureus* (16%), *P. aeruginosa* + *Candida spp.* (17%), *P. aeruginosa* + *Burkholderia cepacia complex* (BCC) (13%), *P. aeruginosa* + BCC + *S. aureus* (6%), *P. aeruginosa* + *S. aureus* + *Candida spp.* (6%).

В менее чем 2% случаев встречались ассоциации *P. aeruginosa* + НГОБ (неферментирующие грамотрицательные микроорганизмы), *P. aeruginosa* + BCC + *S. aureus* + *Achromobacter spp.*, *P. aeruginosa* + НГОБ + *Candida spp.*, *P. aeruginosa* + *Pseudomonas spp.* + *Stenotrophomonas maltophilia* (или НГОБ).

В динамике исследовали 44 больных МВ с синегнойной инфекцией. Посев мокроты от этих больных МВ до и после АБТ с интервалом 14–45 дней показал, что у 15 (35%) больных выделяли *P. aeruginosa* после АБТ, а у остальных 29 больных *P. aeruginosa* не была выявлена культуральным методом. При повторном посеве мокроты от 29 больных в течение 6 месяцев после АБТ *P. aeruginosa* вновь выделяли у 11 пациентов. Т.е. в течение 6 месяцев после АБТ у 26 (59%) пациентов из 44 вновь наблюдали высеv *P. aeruginosa*, что свидетельствует о сформировавшейся у этих больных хронической инфекции. Хронической инфекцией принято считать те случаи, когда идентификация *P. aeruginosa* происходила 2 и более раз в течение 6 месяцев или в случае обнаружения синегнойной палочки более чем в 50% образцов мокроты в течение предшествующих 12 месяцев [9].

Генетический мониторинг изолятов *P. aeruginosa* от 21 больного МВ с хронической синегнойной инфекцией показал, что у 81% больных изолят, выделенный на позднем этапе мониторинга, был генотипически идентичен ранее выделенному. Нами выявлена персистенция одного генотипа в течение 6 лет 7 мес. Только у 19% наблюдали смену генотипа (рис. 1). Учитывая данные посевов образцов в течение 6 месяцев и генотипирования выделенных изолятов, можно предположить, что АБТ при хронической инфекции, вызванной *P. aeruginosa*, была эффективна и эрадикацию наблюдали в 41% случаев.

Далее было изучено генетическое разнообразие штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от больных МВ. На рис. 1 представлена дендрограмма сходства изолятов *P. aeruginosa*, выделенных от 21 больного МВ в процессе мониторинга. Из дендрограммы следует, что генотипы изолятов, выделенных через разные временные промежутки (от 2 недель до 6 лет) от 21 больного МВ, имели высокую степень генетического родства

Различия чувствительности генетически идентичных штаммов *P. aeruginosa* к АБП

Пациент	№ штамма	Дата	Имипенем	Азлоциллин	Цефотаксим	Цефтазидим	Цефепим	Цефтриаксон	Гентамицин	Офлоксацин	Ципрофлоксацин	Левомецетин	Левовфлоксацин	Тобрамицин	Фосфомицин
3	76-1Л	10 окт. 2007	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	I
	122-1	23 май 2012	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
	76-2Л	10 окт. 2007	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	I	S	S
7	122-2	23 май 2012	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S
	231-1	20 дек. 2012	S	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S	S	R
9	277	22 фев. 2013	S	S	R	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S
	5	14 фев. 2012	S	S	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S
1	307	29 май 2013	R	S	R	S	I	R	I	S	S	R	S	S	S
	287	13 март 2013	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	I	S	S
	791-В	29 сент. 2014	R	R	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S
4	792-В	29 сент. 2014	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S
	70Л	10 июнь 2006	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
5	203-1	22 ноя. 2012	S	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
	146-1	25 июнь 2012	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	I
	146-2	25 июнь 2012	S	S	R	S	S	R	R	R	I	R	R	R	S
	167	6 июль 2012	R	I	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	S
	48В	3 окт. 2013	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S
	85В	29 сен. 2014	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S

S – чувствительность, R – резистентность.

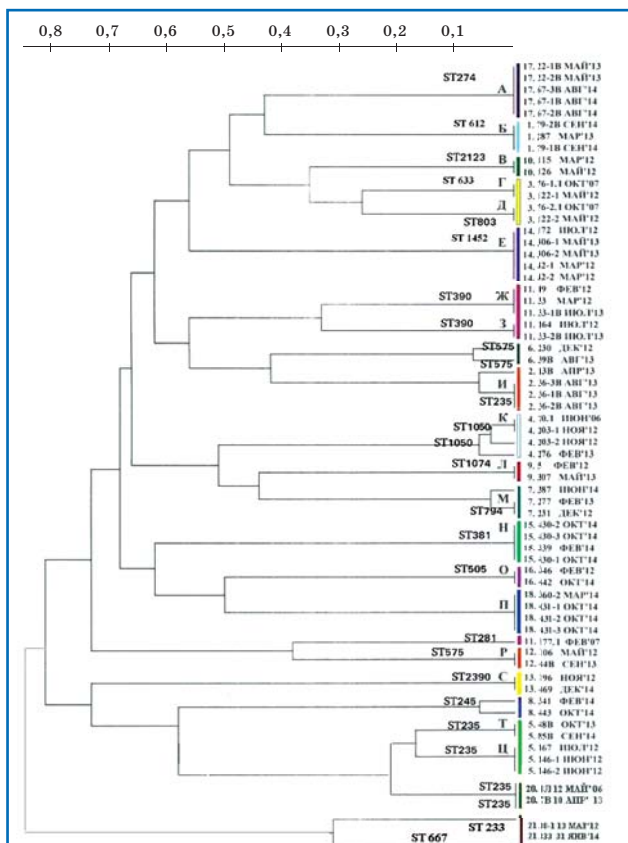


Рис. 1. Дендрограмма родства штаммов *P. aeruginosa*, выделенных в динамике от 18 больных. Буквами обозначены различные генотипы *P. aeruginosa*; цифрами 1–18 обозначены больные; ST – сиквенс-типы, выявленные в MLST.

ента генотипа (*ST274*, *ST612*, *ST2123*, *ST1452*, *ST281*, *ST390*, *ST575*, *ST235*, *ST1074*, *ST794*, *ST381*, *ST1050*, *ST2390*, *ST245*, *ST505*). Только у одного больного наблюдали изменение генотипа *P. aeruginosa*: *ST233* сменился на *ST667* (рис. 1). На дендрограмме видно, что в отличие от MLST метод RAPD имеет более высокую разрешающую способность и позволяет выявлять микроэволюционные изменения. На рис. 1 различные генотипы, выявленные в RAPD ПЦР, обозначены буквами.

У одного больного персистировали одновременно два генотипа *P. aeruginosa* – *ST633* и *ST803* в течение 5 лет с мукоидным и немучоидным фенотипом.

Изоляты, выделенные от больных в динамике, относящиеся к одному сиквенс-типу, имели разную чувствительность к антибиотикам (АБ) (табл. 1). Например, у штаммов *P. aeruginosa* 76-2Л и 122-2, принадлежащих к *ST803* и выделенных с интервалом 5 лет, резистентность к цефтазидиму сменилась чувствительностью. У штаммов 5 и 307, относившихся к *ST1074* (интервал выделения 1 год 3 месяца), наблюдали приобретение резистентности к имипенему и цефтриаксону. У штаммов *P. aeruginosa* 70Л и 203-1, принадлежавших к *ST1050*, чувствительность к имипенему, азлоциллину, цефепиму, цефтриаксону, гентамицину и тобрамицину сменилась резистентностью. При этом полученные фенотипические результаты были подтверждены данными секвенирования полного генома двух штаммов. Секвенирование показало,

(более 90%). У 20 больных МВ персистировала *P. aeruginosa* определенного для каждого паци-

Фенотипическое разнообразие штаммов *P. aeruginosa*

№ штамма	Свойства бактерий					Резистентность к АБ												
	Продукция альгината	Пигмент	scv-фенотип	Способность образовывать пленки	Мультирезистентность	Имипенем	Азлоциллин	Цефотаксим	Цефтазидим	Цефепим	Цефтриаксон	Гентамицин	Фосфомицин	Офлоксацин	Ципрофлоксацин	Левомецелин	Левифлоксацин	Тобрамицин
33-1В	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	
33-2В	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	
36-1В	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	
36-2В	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	
36-3В	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	
67-1В	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	
67-2В	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	
67-3В	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	
71-1В	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
71-2В	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	
71-3В	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	
72-1В	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
72-2В	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	
72-3В	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	
73-1В	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	
73-2В	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	
79-1В	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
79-2В	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	
92-1В	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	
92-2В	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	
92-3В	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	
92-4В	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	
146-1	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	
146-2	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	
203-1	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
203-2	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	
216-1	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	
216-2	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	
231-1	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	
231-2	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	
7Л	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	
8Л	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	

+/- - наличие/отсутствие признака; одним номером обозначены штаммы, выделенные из одного образца мокроты, а также номера 7Л и 8Л.

что у штамма 203-2 в отличие от 70L имеются два дополнительных гена *blaTem*, кодирующие резистентность к цефалоспорином, и *aph(3')-IIa* - резистентность к аминогликозидам, которые были приобретены в процессе персистенции (рис. 2). Кроме того, у второго штамма резистентность к бета-лактамам и имипенему обуславливается также редуцированной проницаемостью наружной мембраны OprD, причиной которой являются мутации в гене *oprD*, приводящие к потере активности белка.

Были изучены фенотипические особенности 213 штаммов *P. aeruginosa*, выделенных с 2005 по 2015 гг. из мокроты больных МВ: от 84 детей (163 изолята) и 22 взрослых (50 изолятов). 78% штаммов *P. aeruginosa* имели типичные пигменты на селективной среде: пиоцианин (сине-зеленый пигмент), пиовердин (зеленый), L-оксифеназин (желтый пигмент), пиорубин

(бурый). У 21% штаммов пигмент отсутствовал и только 1% штаммов продуцировал пиомеланин (черный пигмент). 97% штаммов обладали выраженной гемолитической активностью, а у 3% наблюдали слабовыраженный гемолиз. Изоляты *P. aeruginosa*, выделенные от больных МВ, обладали атипичными фенотипами. Были выявлены штаммы, продуцирующие альгинат экзополисахарида - мукоидный (*muc*) фенотип, а также медленно растущие колонии размером менее 1 мм - SCV-фенотип (*scv-small colony variants*). Мукоидный (*muc*) фенотип имели 26% штаммов *P. aeruginosa*, *scv*-фенотип - 10% штаммов (табл. 2).

Исследование антибиотикочувствительности 175 штаммов (125 изолятов *P. aeruginosa*, выделенных от детей с МВ, и 50 изолятов от взрослых) диско-диффузионным методом показало, что количество мультирезистентных изолятов,

№ штамма	Вид	Дата посева	Имипенем	Азлоциллин	Цефотаксим	Цефтазидим	Цефепим	Цефтриаксон	Гентамицин	Азитромицин	Офлоксацин	Ципрофлоксацин	Левомецетин	Левифлоксацин	Тобрамицин
70Л	<i>P. aeruginosa</i>	10.06.06	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
203-2	<i>P. aeruginosa</i>	22.11.12	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S	R	S	R

Резистентная клетка «донор»

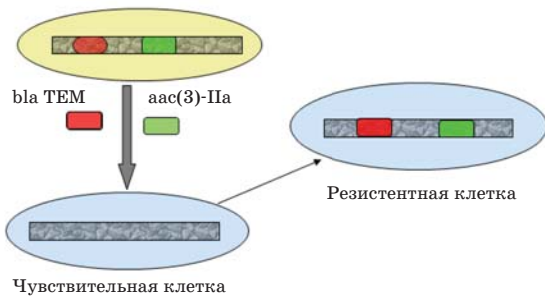


Рис. 2 Горизонтальный перенос генов резистентности к бета-лактамазам и аминогликозидам.

выделенных от детей, составило 67%, от взрослых – 74%. К мультирезистентным (MR) отнесли штаммы синегнойной палочки, обладающие устойчивостью к трем и более АБ, принадлежащим к разным фармакологическим группам [10] ($p > 0,05$).

К цефотаксиму были устойчивы 59% изолятов *P. aeruginosa*, выделенных от детей, к цефепиму – 25%. У взрослых к цефотаксиму были устойчивы 70% штаммов *P. aeruginosa*, к цефепиму – 46%. К имипенему были чувствительны 73% изолятов *P. aeruginosa*, выделенных от детей больных МВ, к азлоциллину – 76%, к цефтазидиму – 85%, к гентамицину – 60%, к офлоксацину, ципрофлоксацину и левофлоксацину – 78%, к тобрамицину – 75%, к фосфомицину – 76% (фосфомицин считали условно чувствительным). 66% изолятов, выделенных от взрослых, были чувствительны к имипенему, к азлоциллину – 68%, к цефтазидиму – 78%, к гентамицину – 86%, к офлоксацину – 84%, к ципрофлоксацину – 92%, к левофлоксацину – 80%, к тобрамицину – 86%, к фосфомицину – 86%. Таким образом, к цефепиму ($p < 0,05$) процент резистентных штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от взрослых, выше, чем от детей и составляет 25 и 46% соответственно (рис. 3а и 3б).

Результаты исследования антибиотикочувствительности *P. aeruginosa* с использованием тест-систем АТВ рse 5 (Biomerieux, Франция) показали, что 81% штаммов *P. aeruginosa* устойчивы к комбинированному АБ ампициллин-сульбактам (fam), 79% штаммов – к ко-тримоксазолу (tsu). 100% штаммов были чувствительны к колистину (col), 97% штаммов – к комбинированному препарату пиперациллин+тазобактам рse (tzpp), 92% штаммов – к препарату пиперациллин рse (picp), 82% штаммов – к меропенему (mero).

Проводили сравнение изолятов *P. aeruginosa*, выделенных от больных МВ, с изолятами от пациентов, не страдающих МВ (неМВ). В данную

группу вошли пациенты от 5 до 65 лет с острой синегнойной инфекцией верхних дыхательных путей, отитами и мочевыводящих путей. Были изучены фенотипы 70 изолятов *P. aeruginosa*, выделенных из клинических образцов неМВ пациентов (зев, нос, ухо, моча). У 69 из них не были обнаружены штаммы *P. aeruginosa* с атипичным фенотипом, продуцирующих альгинат, обладающих scv-фенотипом или не имеющих пигмента. Исследование антибиотикочувствительности выявило, что мультирезистентными были 40% штаммов, выделенных от больных неМВ, в отличие от больных МВ, у которых мультирезистентными являлись 69% штаммов ($p < 0,05$).

У штаммов *P. aeruginosa* изучена способность образовывать БП. В зависимости от показателей ОП данные штаммы были разделены на 3 группы: 1) с выраженной способностью образовывать БП (ОП составляла более 0,6); 2) с умеренной способностью образовывать БП (ОП составляла от 0,4–0,6); 3) с низкой способностью образовывать БП (ОП была менее 0,4) [6].

Среди изолятов *P. aeruginosa*, выделенных от детей больных МВ, 37% обладали слабой способностью образовывать БП и 63% обладали выраженной способностью образовывать БП. 66% изолятов, выделенных от взрослых, обладали выраженной способностью образовывать БП. Т.е. штаммы как от детей, так и от взрослых с МВ имели одинаковую способность образовывать БП.

Так как клиническое и эпидемиологическое значение имеют бактерии *P. aeruginosa*, продуцирующие МВЛ, фенотипическим скрининго-

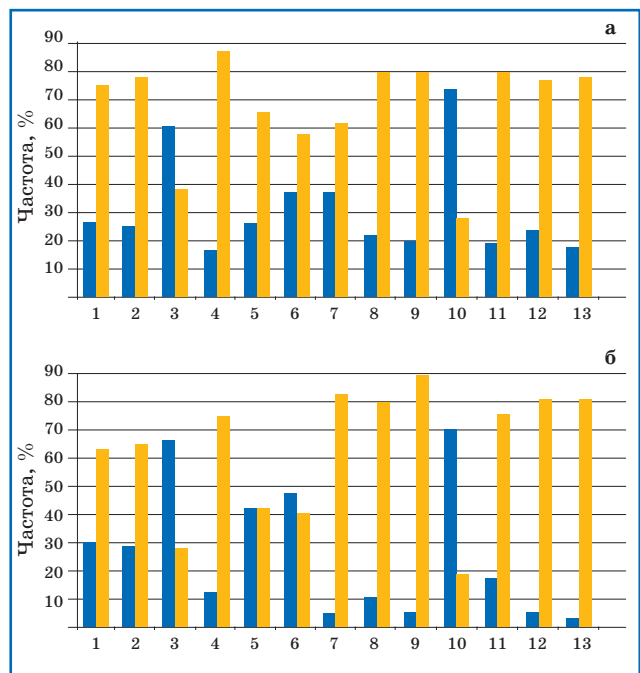


Рис. 3. Процентное соотношение резистентных и чувствительных к различным АБ изолятов *P. aeruginosa*, выделенных от детей (а) и взрослых (б) больных МВ. ■ – R, ■ – S; 1 – имипенем, 2 – азлоциллин, 3 – цефотаксим, 4 – цефтазидим, 5 – цефепим, 6 – цефтриаксон, 7 – гентамицин, 8 – офлоксацин, 9 – ципрофлоксацин, 10 – левомицетин, 11 – левофлоксацин, 12 – тобрамицин, 13 – фосфомицин.

вым методом проводили исследование продукции МβЛ среди штаммов, выделенных от больных МВ. Образование расширенной зоны между диском ЭДТА и диском, содержащим бета-лактамы АБ, интерпретировали как продукцию МβЛ синегнойной палочкой [7]. Продукция МβЛ выявлена у 23% штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от взрослых больных МВ, и у 19% штаммов, выделенных от детей больных МВ ($p > 0,05$).

Исследование гипермутабельности *P. aeruginosa*, выделенной от больных МВ и неМВ, проводили с помощью метода серийных разведений на 42 штаммах от взрослых больных МВ, 112 штаммах от детей с МВ и 32 штаммах от больных неМВ. К гипермутабельным относили изоляты *P. aeruginosa*, у которых частота мутаций была $\geq 1 \cdot 10^{-6}$ [11]. У взрослых больных МВ было выделено 7% гипермутабельных штаммов *P. aeruginosa*, у детей с МВ – 13%, а у больных неМВ гипермутабельные штаммы отсутствовали ($p > 0,05$). Эти данные дают основание предположить, что гипермутабельность микроорганизмов может быть маркером хронической инфекции.

Изучали чувствительность к бактериофагам 41 изолята *P. aeruginosa*, выделенных от взрослых больных МВ, 115 изолятов, выделенных от детей больных МВ, и 32 – от больных неМВ. Наличие литической активности поливалентного пубактериофага наблюдали при контроле 69% штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от больных неМВ, 39% штаммов, выделенных от взрослых больных МВ, и 50% – выделенных от детей МВ ($p > 0,05$ при сравнении штаммов от детей МВ и взрослых МВ и $p < 0,05$ при сравнении штаммов от больных МВ и неМВ). К интести-бактериофагу были чувствительны 78% штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от больных неМВ, 30% штаммов, выделенных от взрослых больных МВ, и 36% – выделенных от детей с МВ ($p > 0,05$ при сравнении штаммов от детей с МВ и взрослых, $p < 0,05$ при сравнении штаммов от больных МВ и неМВ). Процент чувствительных штаммов *P. aeruginosa* к синегнойному бактериофагу у больных неМВ составил 84%, у взрослых больных МВ – 59%, у детей больных МВ – 51% ($p > 0,05$ при сравнении штаммов от детей с МВ и взрослых, $p < 0,05$ при сравнении штаммов от больных МВ и неМВ). Чувствительность штаммов, выделенных от больных МВ, к бактериофагам была ниже, чем у штаммов, выделенных от пациентов неМВ, что ограничивает их применение при хронической инфекции.

Мониторинг хронической инфекции легких больных МВ показал возможность персистенции нескольких фенотипов синегнойной палочки у одного пациента, что может быть обусловлено как генетической гетерогенностью, так и фенотипическим разнообразием. Результаты исследования фенотипического разнообразия штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от больных МВ, показаны в табл. 2. Изоляты синегнойной палочки, выделенные из одного образца мокроты больного, различались по пигменту, продукции альгината, наличию scv-фенотипа,

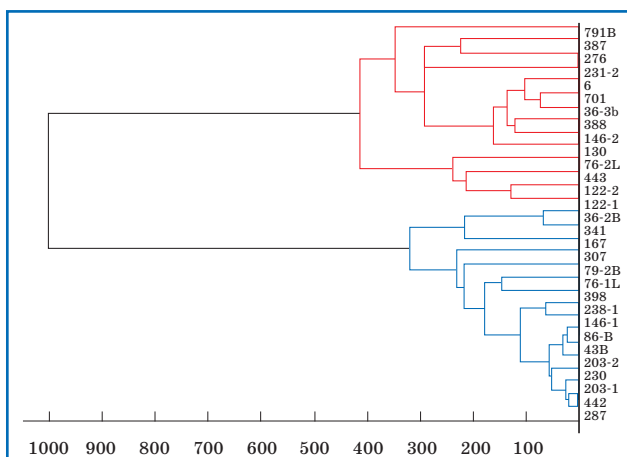


Рис. 4. Филогенетическое дерево, построенное на основании данных MALDI-TOF масс-спектрометрии для штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от больных МВ.



Рис. 5. Распространение генотипов *P. aeruginosa*, выделенных от больных МВ Российской Федерации. Цифрами обозначены сиквенс-типы (ST).

способности образовывать БП и антибиотикорезистентности. Исследование фенотипического разнообразия штаммов *P. aeruginosa* показало, что из мокроты 41,5% (44/106) пациентов (детей и взрослых) выделено более одного фенотипа *P. aeruginosa*. Из мокроты 30,2% (32/106) пациентов выделено одновременно два различных по фенотипу изолята *P. aeruginosa*, из мокроты 8,5% (9/106) больных – 3 фенотипа *P. aeruginosa*, из 1,9% (2/106) образцов мокроты пациентов – 4 фенотипа и у одного пациента – 5 различных по фенотипу штаммов *P. aeruginosa*. Генетически идентичные изоляты *P. aeruginosa*, выделенные из одного образца мокроты, отличались по продукции пигмента, альгината, морфологией колоний и обладали различной чувствительностью к АБ. Среди 14 пар штаммов *P. aeruginosa* с мукоидным и немучоидным фенотипами 9 (64%) пар имели гомологичные генотипы. Например, штамм *P. aeruginosa* 33-1В, в отличие от выделенного одновременно с ним штамма 33-2В, имел мукоидный фенотип, не продуцировал типичный пигмент и обладал низкой способностью к образованию БП, отличался чувствительностью к азлоциллину и цефтриаксону.

Установлено, что у одного больного могут одновременно персистировать два различных по генотипу клона, которые отличались также по фенотипу (мукоидный и немучоидный, продуцирующие разные пигменты).

Исследования генетически гомологичных штаммов *P. aeruginosa* с помощью MALDI-TOF

масс-спектрометрии показали, что данные штаммы характеризуются фенотипической гетерогенностью. Например, генетически идентичные штаммы *P. aeruginosa* 70Л и 203-1 (*ST1050*), 76-1Л и 76-1Л (*ST633*), 431 и 443 (*ST245*), как видно из дендрограммы (рис. 4), характеризуются различной экспрессией белков.

Для выявления эпидемически значимых клонов *P. aeruginosa*, циркулирующих среди больных МВ России, были исследованы молекулярно-генетическими методами изоляты от разных больных из разных регионов. В результате генотипирования 175 штаммов методом RAPD-PCR *P. aeruginosa*, выделенных из мокроты 90 больных, выявлено 92 генотипа. У 82,2% (74) больных определили изоляты *P. aeruginosa* индивидуальных для каждого пациента генотипов. У 17,8% пациентов были генотипы, которые встречались и у других больных МВ с синегнойной инфекцией. Из этих генотипов были отобраны образцы для MLST. В результате было выявлено, что генотип *ST235*, который является международным эпидемическим клоном, выявлен у 7 больных из Ставропольского края, Чувашии (Чебоксары), Москвы, Оренбургской области, Белгородской области, Башкирии (Салават). Больные из разных областей РФ, но 5 из них были госпитализированы в РДКБ, что дает основание предположить его госпитальное происхождение. Данный генотип также способен персистировать в легких больных МВ (рис. 1, 5).

Генотип *ST273* был обнаружен у 2 больных г. Москвы, *ST612* – у 2 пациентов г. Москвы и *ST274* – у 5 больных (у 3 из г. Москвы, двое из которых являются родственниками, у одного больного г. Самары выделен в 2013 г., и у одного из Красноярска – в 2014 г.). Наличие одинаковых генотипов *P. aeruginosa* у разных пациентов, возможно, связано с перекрестным инфицированием среди больных МВ.

Обсуждение

Результаты исследования подтвердили, что *P. aeruginosa* является доминирующим возбудителем хронической инфекции легких у больных МВ. У детей раннего возраста с МВ доминирующим возбудителем является *S. aureus*, а в возрасте 1 года и старше у 1/3 детей с МВ была обнаружена *P. aeruginosa*. С увеличением возраста частота высева *P. aeruginosa* возрастает и достигает к 18 годам 60%.

При этом, несмотря на массивную АБТ, у 59% пациентов развивается хроническая инфекция легких, которая может быть обусловлена как персистенцией одного генотипа *P. aeruginosa* (81%), так и приобретением другого генотипа после эрадикации исходного (19%). Хроническая инфекция легких с периодическими обострениями приводит к снижению функции легких и таким осложнениям, как пневмония, абсцесс, бронхоэктазы, «легочное сердце», и в итоге к неблагоприятному исходу.

Тяжесть течения хронической синегной-

ной инфекции усугубляется персистенцией *P. aeruginosa* в ассоциации с другими микроорганизмами – бактериями и грибами. Известно о возможности взаимного использования компонентов регуляторной системы «Quorum sensing» близкородственными бактериями, например *P. aeruginosa* и *Burkholderia cepacia cepacia* [1], результатом которого является взаимное усиление вирулентности.

Результаты мониторинга хронической синегнойной инфекции легких у больных МВ показали фенотипическое разнообразие штаммов *P. aeruginosa*. Из мокроты 42% пациентов были выделены штаммы *P. aeruginosa* с различными фенотипами, которые имели разную антибиотикочувствительность. 26% исследованных штаммов *P. aeruginosa* имели *mus*-фенотип, 10% штаммов – *scv*-фенотип, 66% обладали способностью образовывать БП. Выделение изолятов *P. aeruginosa* с *mus*- и *scv*-фенотипами может быть маркерами хронической инфекции легких у больных МВ [1]. Д. Эмерсон в своей работе показал, что изоляты *P. aeruginosa* с *scv*-фенотипом образуют БП с трехмерной структурой и большей биомассой, чем *P. aeruginosa* с типичным фенотипом [12]. Микробиологическое исследование Т. Бьярнскольта тканей легких больных МВ, умерших от хронической синегнойной инфекции, показало высева *P. aeruginosa* с мукоидным фенотипом из бронхиального дерева. В нижних дыхательных путях больных МВ бактерии образуют БП [13]. В составе БП бактерии обладают устойчивостью в 100–1000 раз выше к действию АБ [14]. Существование различных фенотипов синегнойной палочки отражает ее адаптационные возможности и способствует длительной персистенции в легких больных.

Исследование фенотипического разнообразия показало необходимость постоянного мониторинга микробиологических показателей мокроты больных МВ. Большинство изолятов (68%) *P. aeruginosa* распознавались на средах на основе морфологических характеристик колоний и типичному пигменту, 21% не образовывали пигмент, 1% имели атипичный пигмент, 10% имели *scv*-фенотип. Поэтому микробиологи в своих исследованиях мокроты больных МВ должны учитывать наличие атипичных свойств *P. aeruginosa*. У изолятов с атипичными фенотипами необходимо изучать основные биохимические характеристики: положительный оксидазатест, наличие роста при 42 °С, результаты идентификации на коммерческих биохимических тест-системах, MALDI-TOF масс-спектрометрии, ПЦР, MLST для постановки правильного диагноза и назначения эффективной терапии больному, у которого были выделены такие формы *P. aeruginosa*.

Анализ чувствительности к АБ показал, что выделенные штаммы обладают резистентностью ко многим АБ. Процент мультирезистентных штаммов, выделенных от больных МВ, был равен 69% и выше, чем процент мультирезистентных

изолятов (40%) *P. aeruginosa*, выделенных от больных, не страдающих МВ ($p < 0,05$). Это обусловлено длительной персистенцией бактерий *P. aeruginosa* у больных МВ и приобретением устойчивости к АБ в результате горизонтального переноса генов и мутаций.

Результаты исследования антибиотикочувствительности показали, что наиболее эффективными препаратами для лечения инфекций, вызванных *P. aeruginosa*, у детей больных МВ были колистин (к нему чувствительны 100% штаммов), цефтазидим (85%), ципрофлоксацин (78%) и левофлоксацин (78%), а у взрослых – ципрофлоксацин (92%), левофлоксацин (80%), тобрамицин (86%), фосфомицин (86%). В настоящее время наблюдается тенденция к появлению единичных штаммов, резистентных к колистину.

Генетическое разнообразие штаммов *P. aeruginosa* было подтверждено методом RAPD-PCR, позволившим идентифицировать 92 различных генотипа, 4 (*ST273*, *ST274*, *ST612*, *ST235*) из которых обнаруживали у более чем одного больного, среди которых был выделен международный эпидемический генотип *ST235*. Ранее преобладание данного генотипа было выявлено в России при исследовании *P. aeruginosa*, циркулирующей в период 2006–2010 гг. в ФНЦТИО им. акад. В. И. Шумакова [15]. Данный генотип обладает высокой контагиозностью и трансмиссивностью в различных группах населения. Клоны этого генотипа были выделены при госпитальных инфекциях в медицинских учреждениях Франции, Японии, России и других странах [15, 16].

82,2% больных имели изоляты *P. aeruginosa* индивидуальных генотипов, что говорит о том, что источники заражения были разные. Наши результаты согласуются с данными зарубежных исследований, из которых также следует, что изоляты *P. aeruginosa*, выделенные от больных МВ с хронической инфекцией легких, являются преимущественно моноклональными и уникальными для каждого пациента [17]. Высокое генетическое разнообразие циркулирующих среди больных МВ России клонов *P. aeruginosa* свидетельствует о том, что источники *P. aeruginosa* могут быть разными, ими могут быть окружающая среда, окружающие люди, а также они могут иметь госпитальное происхождение.

В результате мониторинга установлено, что возможна длительная персистенция в течение 5 лет одновременно двух генотипов *P. aeruginosa* в легких больного МВ.

Показано, что в результате длительной АБТ при хронической инфекции происходит изменение чувствительности бактерий *P. aeruginosa* к АБ, что было подтверждено секвенированием полного генома изолятов *P. aeruginosa*, выделенных при мониторинге. Выявление гипермутабельных штаммов *P. aeruginosa*, выделенных у больных МВ (взрослых – 7% и детей – 13%), может свидетельствовать о способности этих бактерий к быстрой адаптации и выживанию в

измененных условиях окружающей среды, в т.ч. вызванной АБТ. Этот факт надо учитывать при назначении лечения при выявлении у больного МВ таких бактерий.

Заключение

Таким образом, постоянный микробиологический мониторинг является методом, позволяющим правильно определить этиологию хронической инфекции легких, назначить правильную АБТ, оценить эффективность лечения и применить профилактические мероприятия для предупреждения распространения синегнойной инфекции среди больных МВ. К первоочередным мероприятиям можно отнести профилактику перекрестной инфекции, госпитализируя больного МВ в отдельные боксы или обеспечивая разделение потоков при оказании амбулаторной помощи. Подробно разработанные профилактические мероприятия приведены в Национальном консенсусе «Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия» [18].

Финансирование и конфликт интересов: авторы статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования и конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

КОЛИСТИН

Эффективность навсегда



Всегда верная защита против *Pseudomonas aeruginosa*

Эксклюзивным дистрибьютором препарата Колистин на территории Российской Федерации является фармацевтическая компания

РИНФАРМ



Контакты компании "Ринфарм":

141002, Московская область, г. Мытищи
Новомиытищинский пр-т, д. 5, корп. 1А, 1Б
телефон/факс: +7 (495) 933 03 85
info@rinpharm.com
www.rinpharm.com

Более подробную информацию Вы можете получить на официальном сайте препарата

www.colistin.ru На правах рекламы

1. Шагинян И.А., Чернуха М.Ю. Муковисцидоз. Н.И. Капранов, Н.Ю. Каширская, ред. Глава 4. Микробиология и эпидемиология инфекционных осложнений у больных муковисцидозом. М.: «МЕДПРАКТИКА-М», 2014: 108–148.
2. Шагинян И.А., Капранов Н.И., Чернуха М.Ю., Алексеева Г.В., Семькин С.Ю., Аветисян Л.Р., Каширская Н.Ю., Пивкина Н.В., Данилина Г.А., Батов А.Б., Бусуек Г.П. Микробный пейзаж нижних дыхательных путей у различных возрастных групп детей, больных муковисцидозом. ЖМЭИ. 2009; 5: 15–20.
3. Ciofu O, Mandsberg LF, Bjarnsholt T, Wassermann T, Hoiby N. Genetic adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* during chronic lung infection of patients with cystic fibrosis: strong and weak mutators with heterogeneous genetic backgrounds emerge in mucA and/or lasR mutants. *Microbiology*. 2010; 156: 1108–1119.
4. Чернуха М.Ю., Аветисян Л.Р., Шагинян И.А., Алексеева Г.В., Авакян Л.В., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И., Семькин С.Ю., Сиянова Е.А., Медведева О.С., Красовский С.А., Усачева М.В., Кондратьева Е.И., Амелина Е.Л., Чучалин А.Г., Гицбург А.Л. Алгоритм микробиологической диагностики хронической инфекции легких у больных муковисцидозом. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2014; 4: 312–324.
5. CLSI, ed. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twentieth Informational Supplement M100-S20. CLSI, Wayne, PA, USA, 2010.
6. O'Toole GA. Microtiter dish biofilm formation assay. *J. Visualized Experiments*. 2011; <http://www.jove.com/details.php?id=2437>
7. Шевченко О.В., Эйдельштейн М.В., Степанова М.Н. Методические рекомендации. Металло-бета-лактамазы: значение и методы выявления у грамотрицательных неферментирующих бактерий. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2007; 9 (3): 211–218.
8. Oliver A, Cantón R, Campo P, Vaquero F, Blázquez. High frequency of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infection. 2000; 288 (5469): 1251–1254.
9. Lee TW, Brownlee KG, Conway SP, Denton M, Littlewood JM. Evaluation of a new definition for chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. *J. Cyst. Fibros*. 2003; 2: 29–34.
10. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012; 18 (3): 268–281.
11. Kenna DT, Doherty CJ, Foweraker J, Macaskill L, Barcus VA, Govan JR. Hypermutability in environmental *Pseudomonas aeruginosa* and in populations causing pulmonary infection in individuals with cystic fibrosis. *Microbiology*. 2007; 153: 1852–1859.
12. Emerson J, Rosenfeld M, McNamara S, Ramsey B, Gibson RL. *Pseudomonas aeruginosa* and other predictors of mortality and morbidity in young children with cystic fibrosis. *Pediatr. Pulmonol.* 2002; 34: 91–100.
13. Bjarnsholt T, Jensen PØ, Fiandaca MJ, Pedersen J, Hansen CR, Andersen CB, Pressler T, Givskov M, Høiby N. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in the respiratory tract of cystic fibrosis patients. *Pediatr. Pulmonol.* (2009); 44: 547–558. 10.1002/ppul.21011
14. Ehrlich GD, Hu FZ, Shen K, Stoodley P, Post JC. Bacterial Plurality as a General Mechanism Driving Persistence in Chronic Infections. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2005; 437: 20–24.
15. Аветисян Л.Р., Воронина О.Л., Чернуха М.Ю., Кунда М.С., Габриэлян Н.И., Лукин В.Г., Шагинян И.А. Персистенция штаммов *Pseudomonas aeruginosa* среди пациентов ФНЦ трансплантологии и искусственных органов. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2012; 4: 99–104.
16. Kitao T, Tada T, Tanaka M, Narahara K, Shimojima M, Shimada K, Miyoshi-Akiyama T, Kirikae T. Emergence of a novel multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain producing IMP-type metallo-beta-lactamases and AAC(6)-Iae in Japan. *J. Antimicrob Agents*. 2012; 39 (6): 518–521.
17. Smith EE, Buckley DG, Wu Z, Saenphimmachak C, Hoffman LR, D'Argenio DA, Miller SI, Ramsey BW, Speert DP, Moskowitz SM, Burns JL, Kaul R, Olson MV. Genetic adaptation by *Pseudomonas aeruginosa* to the airways of cystic fibrosis patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006; 103: 8487–8492.
18. Шагинян И.А., Чернуха М.Ю., Аветисян Л.Р. Микробиология и эпидемиология хронической респираторной инфекции при муковисцидозе. Национальный консенсус «Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия». М., 2016: 47–65.

© Коллектив авторов, 2017

DOI: 10.24110/0031-403X-2018-97-2-86-93
<https://doi.org/10.24110/0031-403X-2018-97-2-86-93>

Т.А. Тихомиров, О.А. Дмитренко, А.А. Тихомиров, Н.И. Фегорова, Н.Г. Короткий

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ КОЛОНИЗАЦИИ БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ И ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЯМИ ВИДА *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, СОДЕРЖАЩИХ ГЕНЫ ТОКСИНОВ, ОБЛАДАЮЩИХ СВОЙСТВАМИ СУПЕРАНТИГЕНОВ

ГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ, ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ, ФГБУ РДКБ МЗ РФ, Москва, РФ

Контактная информация:

Тихомиров Тимур Александрович – клинический аспирант каф. дерматовенерологии педиатрического факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ
 Адрес: Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1
 Тел.: (917) 540-24-84,
 E-mail: Timur-tihomirov@mail.ru
 Статья поступила 2.06.17,
 принята к печати 30.01.18.

Contact Information:

Tikhomirov Timur Aleksandrovich – clinical post-graduate student of Dermatovenereology Department, Pediatric Faculty, Pirogov Russian National Research Medical University
 Address: Russia, 117997, Moscow, Ostrovityanova str., 1
 Tel.: (917) 540-24-84,
 E-mail: Timur-tihomirov@mail.ru
 Received on Jun. 2, 2017,
 submitted for publication on Jan. 30, 2018.