

На правах рукописи

Сиянова Екатерина Алексеевна

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ
КАК ОСНОВА ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ
ХРОНИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ ЛЕГКИХ, ВЫЗВАННОЙ БАКТЕРИЯМИ
PSEUDOMONAS AERUGINOSA, У ПАЦИЕНТОВ С МУКОВИСЦИДОЗОМ**

1.5.11 – Микробиология (биологические науки)

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2025

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России)

Научный руководитель:

Чернуха Марина Юрьевна – доктор медицинских наук, зав. лабораторией молекулярной эпидемиологии госпитальных инфекций ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России

Официальные оппоненты:

Алешкин Андрей Владимирович – доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, профессор РАН, директор по новым продуктам ООО «Орфан-Био»

Лямин Артем Викторович – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры медицинской микробиологии и иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства»

Защита диссертации состоится « 20 » июня 2025 г. в 11 часов на заседании диссертационного совета 21.1.018.03 при ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России по адресу: 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России и на сайте Центра:

<http://www.gamaleya.org/>.

Автореферат разослан «___» _____ 2025 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор биологических наук

Ермолаева Светлана Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы и степень ее разработанности

Pseudomonas aeruginosa - это условно-патогенный микроорганизм, способный вызывать инфекции с широким спектром клинических проявлений – от локализованных повреждений органов и тканей до генерализованной инфекции (бактериемия, сепсис) [Мороз А.Ф., 1988; Брико Н.И., Покровский В.И., 2017]. Особое место *P. aeruginosa* занимает в развитии инфекций нижних дыхательных путей у больных с кистозным фиброзом (муковисцидозом), у которых этот возбудитель играет важную роль [Шагинян И.А., Капранов Н.И., 2010, Чернуха М.Ю., Шагинян И.А., 2021].

Муковисцидоз (МВ) - генетическое заболевание, при котором продолжительность жизни больного напрямую связана со степенью поражения бронхолегочной системы. Вследствие мутации гена CFTR (cystic fibrosis transmembrane regulator) снижение количества ионов хлора вызывает усиленную абсорбцию ионов натрия, что приводит к дегидратации околоклеточного пространства и сгущению секрета экзокринных желез. Накопление вязкого секрета является благоприятной средой для размножения бактерий и развития хронической инфекции легких (ХИЛ), которая является причиной смертности при МВ у 80-95% пациентов [Matsui H. 2005, Thomas S.R. 2003]. Средний возраст умерших пациентов в РФ составляет 23.7 лет [Регистр, 2021].

Согласно данным регистра 2021 г частота хронического инфицирования *P. aeruginosa* у пациентов с МВ составляет 33,6% (у детей – 25,4%, у взрослых – 53,2%). У пациентов, инфицированных *P. aeruginosa*, наблюдается более быстрое снижение функции легких, а после обострения, вызванного *P. aeruginosa*, не удается восстановить полноценную функцию легких. Такие пациенты получают больше курсов внутривенной антибактериальной терапии, госпитализируются чаще, имеют задержку в развитии и короткую продолжительность жизни. Кроме того, такие пациенты могут быть источником штаммов *P. aeruginosa* с высокой эпидемиологической значимостью.

P. aeruginosa относится к числу возбудителей госпитальных инфекций, поэтому госпитальные условия часто рассматривались как основной источник возбудителя для пациентов с МВ. В отличие от некоторых зарубежных стран [Cheng K., 1996, Jones A.M., 2001, Scott F.W., 2004, Jones A.M., 2005, Kidd T.J.,

2012], внутрибольничные вспышки инфекции, вызванной *P. aeruginosa*, среди больных МВ в РФ не регистрировали, хотя инфицирование госпитальными штаммами больных МВ было установлено. Ранее в работах лаборатории было предположено, что в преобладающем большинстве случаев больные с МВ в РФ инфицируются во внегоспитальных условиях (Сиянова Е. А, 2018, Аветисян Л.Р., 2019). До настоящего времени не изучено значение окружающей домашней среды, не установлены основные источники возбудителя и возможные факторы передачи бактерий *P. aeruginosa* в домашних условиях. В связи с этим актуальным является выявление домашних очагов инфекции и разработка рекомендаций для профилактики инфицирования *P. aeruginosa* в домашних условиях при ежедневных гигиенических и лечебных процедурах пациентов с МВ. Необходимым условием такого рода исследований является установление спектра штаммов *P. aeruginosa*, персистирующих в домашних очагах и сравнения его с хорошо охарактеризованными нозокомиальными клонами.

Легкие больных МВ являются экологической нишей, где под постоянным воздействием антибиотиков благодаря мутациям и горизонтальному переносу генов могут формироваться мультирезистентные эпидемически значимые клоны *P. aeruginosa* [Шагинян И.А., Чернуха М.Ю., 2017]. В связи с этим необходим постоянный мониторинг антибиотикочувствительности бактерий *P. aeruginosa* для исследования распространенности мультирезистентных эпидемически значимых клонов среди популяции больных МВ, а также для обеспечения врачей информацией для подбора адекватной антибиотикотерапии. Протокол лечения больных включает такие антибиотики, как беталактамы и карбапенемы, которые являются препаратами выбора для лечения тяжелых обострений. Инфицирование бактериями *P. aeruginosa*, имеющими гены металло- β -лактамаз (М β L), представляет серьезную угрозу в процессе лечения больных МВ и инфекционного контроля. Актуальным является исследование распространенности генов антибиотикорезистентности среди изолятов *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов с МВ.

Для профилактики распространения *P. aeruginosa* при оказании помощи больным МВ в стационарных и амбулаторных условиях важным является правильный подбор дезинфицирующих средств. Данные о чувствительности бактерий *P. aeruginosa*, циркулирующих у пациентов с МВ к дезинфектантам малочислены или отсутствуют.

В результате постоянной антибиотикотерапии бактерии *P. aeruginosa* могут приобретать атипичный фенотип, что затрудняет диагностику инфекции, вызванной *P. aeruginosa*, у больных муковисцидозом [Чернуха М.Ю., Шагинян И.А., Жуховицкий В.Г., 2017]. В результате больные с ложноотрицательным

результатом не получают необходимое им лечение. В связи с этим необходимо усовершенствовать алгоритм микробиологической диагностики хронической инфекции легких, вызванной *P. aeruginosa*, который позволит своевременно и точно поставить диагноз.

Таким образом, анализ результатов предшествующих исследований привел к выводу о необходимости разработки схемы мониторинга для включения ее в клинические рекомендации как основы мероприятий по снижению частоты ХИЛ, вызванной этим возбудителем.

Цель работы – разработать схему микробиологического мониторинга *P. aeruginosa* у пациентов с МВ на основе микробиологической характеристики изолятов, выделенных у пациентов с муковисцидозом и подтвержденной хронической инфекцией легких.

Задачи.

1. Собрать коллекцию штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от больных муковисцидозом с ХИЛ и из объектов внешней среды, связанной с такими больными.
2. Определить генотипы штаммов *P. aeruginosa*, распространенные среди больных муковисцидозом с подтвержденной ХИЛ, и провести сравнение с эпидемическими значимыми клонами *P. aeruginosa*
3. Охарактеризовать биологические свойства и антибиотикочувствительность изолятов *P. aeruginosa*.
4. Выявить распространенность и оценить значение генов металло- β -лактамаз для выявления эпидемически значимых штаммов *P. aeruginosa*.
5. Оценить эффективность современных дезинфектантов в отношении штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от больных муковисцидозом.
6. На основе полученных результатов предложить усовершенствованную схему микробиологического мониторинга *P. aeruginosa* у больных МВ и улучшенную тактику профилактики инфекции, вызванной *P. aeruginosa*, в условиях стационара и в домашней среде.

Новизна исследования

Впервые выявлены новые, ранее не описанные генотипы *P. aeruginosa*: ST4037, ST3993, ST4038, сведения о которых внесены в международную базу PubMLST (Public databases for molecular typing and microbial genome diversity - <https://pubmlst.org/>). Всего, в PubMLST внесены сведения о 34 изолятах *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов с МВ в РФ. Выявлен новый аллель гена «домашнего хозяйства» *trpE*, входящего в схему мультилокусного типирования, обозначенный как *trpE317*.

На основании полученных данных предложены дополнительные шаги в алгоритм микробиологической диагностики ХИЛ у больных с МВ: обязательное использование методов MALDI-TOF или ПЦР для идентификации изолятов, и методов ПЦР и ПЦР-РеалТайм для характеристики МБЛ-маркеров эпидемически значимых штаммов.

Показано распространение среди штаммов *P. aeruginosa*, циркулирующих у пациентов с МВ на территории РФ, международных клонов высокого эпидемического риска ST233, ST235, ST245, ST274, ST273, ST381. Впервые охарактеризована вспышка госпитальной инфекции, вызванной штаммом *P. aeruginosa* ST235, среди детей больных МВ.

Впервые в РФ осуществлен детальный мониторинг домашней среды детей с МВ, и выявлено эпидемиологическое значение ряда предметов - небулайзеров, стоков раковин, чистящей поверхности зубных щеток, - как возможных резервуаров бактерий *P. aeruginosa*, потенциально приводящих к вторичной инфекции.

Практическая значимость

Разработана схема микробиологического мониторинга ХИЛ, вызванной бактериями *P. aeruginosa*, с целью персонализированного подхода при профилактике и лечении ХИЛ у больных МВ. Доказано, что мониторинг должен включать не только бактериологические исследования, но и мониторинг антибиотикорезистентности возбудителя, мониторинг чувствительности к дезинфектантам с целью коррекции режимов дезинфекции, мониторинг микрофлоры домашней среды для предотвращения распространения *P. aeruginosa* и предупреждения инфицирования больных.

Разработаны рекомендации по тактике проведения профилактических мероприятий для предупреждения распространения инфекции, вызванной *P. aeruginosa*, как в условиях стационара, так и в домашних условиях. Полученные данные войдут при пересмотре в Национальный консенсус «Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия» и клинические рекомендации «Кистозный фиброз (муковисцидоз)».

На основе полученных данных о чувствительности *P. aeruginosa* к дезинфицирующим средствам обоснованы оптимальные режимы дезинфекции различными препаратами для предупреждения распространения штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от больных МВ.

Полученные данные о микробиологическом статусе больного передаются лечащим врачам-пульмонологам, на основе которых организуется прием пациентов в зависимости от характера микрофлоры для исключения их перекрестного инфицирования.

Полученные данные используются в лекционном курсе для студентов «МГИМО-МЕД» и аспирантов ФБГУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России по специальностям микробиология и эпидемиология.

Полученные результаты по исследованию антибиотикорезистентности штаммов *P. aeruginosa* включены в базу данных Референс-центра ФБГУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России по мониторингу распространения антибиотикорезистентности.

Собрана и охарактеризована по фенотипическим и генотипическим свойствам коллекция штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов с муковисцидозом (402 изолята). Два штамма *P. aeruginosa*, полностью секвенированные были депонированы в коллекцию ФБГУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России. (GIMC5040:PA85B, GIMC5041:PA431-2, 14.11.2022).

Методология и методы исследования

Методология исследования включала разработку алгоритма микробиологического мониторинга хронической инфекции легких у пациентов с муковисцидозом, вызванной бактериями *P. aeruginosa*, включающего усовершенствование алгоритма идентификации бактерий *P. aeruginosa* для пациентов с МВ. Методической основой послужили бактериологические, эпидемиологические, физические и современные молекулярно-генетические методы исследования.

Положения, выносимые на защиту

1. *P. aeruginosa* продолжает оставаться одним из ведущих возбудителей пневмонии и респираторной инфекции у больных МВ, несмотря на усовершенствование лечения и профилактики хронической инфекции легких у таких больных.

2. Широкое распространение среди больных МВ атипичных форм *P. aeruginosa* требует включения в алгоритм микробиологической диагностики этиологии ХИЛ у пациентов с МВ методов, обеспечивающих выявление и правильную идентификацию возбудителя *P. aeruginosa* (более длительное инкубирование, применение Maldi-TOF или ПЦР, а также исследование на наличие генов МβЛ).

3. Наиболее распространенными и эпидемически значимыми для пациентов с МВ в РФ являются два генотипа *P. aeruginosa*: ST235 и ST274.

4. Показано существование домашних эпидемических очагов синегнойной инфекции в местах проживания больных детей с МВ, что обосновывает необходимость постоянного микробиологического мониторинга

возможных резервуаров возбудителя в домашних условиях и их адекватную дезинфекцию

5. Показано, что изменения биологических свойств штаммов *P. aeruginosa* длительно персистирующих у пациентов с муковисцидозом влияют на устойчивость бактерий к режиму дезинфекции, заявленному производителем. В связи с этим для профилактики распространения *P. aeruginosa*, особенно в госпитальных условиях, необходимо изучать эффективность ДС, используемых в больнице или поликлинике, в отношении выделенных изолятов *P. aeruginosa*.

Апробация результатов. Тема диссертации утверждена на Ученом Совете ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» (Протокол №4 от 20.04.2023). Апробация диссертации состоялась 26.06.2024 года на совместной научной конференции отделов медицинской микробиологии и эпидемиологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» (Протокол №29 от 26.06.2024).

Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на 13 международных и всероссийских конференциях и конгрессах, в том числе на I Национальном конгрессе по наследственным заболеваниям легких с международным участием (Петергоф, 26-28.04.2024), 47 Европейской конференции по муковисцидозу (47th European Cystic Fibrosis Conference, Glasgow, 5–8 June 2024), XII Конгрессе с международным участием «Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) (Москва, 28-29 ноября 2024).

Декларация личного участия автора. Основные результаты, представленные в диссертации получены лично автором. Исследования по отдельным разделам работы проводились совместно с сотрудниками лабораторий ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России: индикации и ультраструктурного анализа микроорганизмов Соловьевым А.И., Поляковым Н.Б. (под руковод. к.м.н. Жуховицкого В.Г.), молекулярной генетики ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России (под руководством А.Г. Прилипова), анализа геномов Кунда М.С., Рыжовой Н.Н. и Аксеновой Е.И. (под руководством О.Л. Ворониной).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Основные научные положения диссертации соответствуют пп.11 (Геномный и метагеномный анализ микроорганизмов и их сообществ), 12 (Патогенные микроорганизмы, факторы вирулентности и патогенности), 20 (Санитарная микробиология) паспорта специальности 1.5.11 «Микробиология».

Публикации. По теме диссертации опубликовано 23 публикации, в том числе 6 статей, входящих в базы данных WoS, Scopus и РИНЦ, а также в перечень рецензируемых научных изданий рекомендуемых ВАК.

Степень достоверности результатов.

Достоверность результатов работы определяется использованием современных комплексных подходов к проведению бактериологических исследований и использованию в исследованиях молекулярно-генетических

методов и Maldi-TOF спектрометрии. Большое количество посевов образцов мокроты и мазков из дыхательных путей – 3900 проб, полученных от пациентов с МВ из различных регионов РФ в период с 2012 по 2022 гг., использование методов статистической обработки подтверждает обоснованность и достоверность полученных результатов исследований, выводов и практических рекомендаций.

Объем и структура диссертации.

Диссертация состоит из разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований, заключение, выводы, список литературы. Диссертация изложена на 193 страницах машинописного текста, иллюстрирована 42 рисунком, содержит 24 таблицы. Список литературы состоит из 197 источников, из них 61 – отечественные, 136 – зарубежные.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования.

С 2005 по 2022 гг. исследовано 3900 образцов биологического материала, полученного от 636 пациентов с МВ (525 детей в возрасте 0-18 лет и 111 взрослых): 3601 проба от детей и 299 от взрослых пациентов с МВ, - а также 247 смывов с объектов домашней среды 25 пациентов детского возраста. В качестве материала для бактериологических посевов служили мокрота или бронхоальвеолярный лаваж, у детей младшего возраста - мазок с задней стенки глотки, а также мазки из носа. Образцы были получены из ФГБУ «РДКБ» МЗ РФ, ФГБУ МГНЦ РАН, ФГУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России, в Самарской детской больнице, отделении пульмонологии детской больницы Святой Ольги (Санкт-Петербург) Медицинских Центров муковисцидоза Краснодарского края, Ростовской, Калужской, Тверской, Белгородской и других областей РФ, и наблюдавшихся амбулаторно в Российском центре муковисцидоза из различных регионов Российской Федерации.

Исследованы 472 штамма *P. aeruginosa*, 402 из которых были сохранены в коллекцию.

Проанализированы анкеты от 359 больных МВ и 185 историй болезни (хронической инфекцией легких, вызванной *P. aeruginosa*).

Бактериологические методы исследования. Идентификацию и характеристику бактерий *P. aeruginosa* проводили в соответствии с приказом №535 Минздрава России с модификациями и дополнениями согласно алгоритму микробиологической диагностики мокроты, разработанному сотрудниками лаборатории молекулярной эпидемиологии госпитальных инфекций ФГБУ

«НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» [Чернуха М.Ю., 2014]. Для идентификации бактерий атипичного фенотипа использовали Maldi-TOF масс-спектрометрию. Бактериологическое исследование микробной обсемененности объектов внешней домашней среды проводили, опираясь на методические рекомендации МУК 4.2.2942-11. Отбор проб с поверхностей изучаемых объектов осуществляли методом смывов.

Исследование антибиотикочувствительности.

Антибиотикочувствительность изолятов *P. aeruginosa* определяли диско диффузионным методом на агаре Мюллера-Хинтона согласно МУК 4.2.1890-04 и методом микроразведений в бульоне и рекомендациям МАКМАХ.

Изучение способности образовывать биопленки и исследование фагочувствительности. Способность штаммов *P. aeruginosa* к образованию биопленок (БП) определяли согласно методике O'Toole G.A. [O'Toole G.A., 2011]. Для исследования фагочувствительности использовали диагностические бактериофаги «Микроген» (Россия): пиобактериофаг поливалентный, кишечни-бактериофаг и синегнойный бактериофаг согласно инструкции производителя.

Исследование гипермутабельности изолятов *P. aeruginosa*. Мутабельность изолятов *P. aeruginosa* изучали методом серийных разведений на агаре Мюллера-Хинтона с добавлением рифампицина [Oliver A., 2000, Kenna D.T., 2007].

Фенотипическое и генотипическое исследование наличия генов MβL у изолятов *P. aeruginosa*. Изучение наличия MβL проводили фенотипическим скрининговым методом «двойных дисков с ЭДТА» [Шевченко О.В., 2007]. Экстракцию ДНК *P. aeruginosa* проводили, используя набор «АмплиПрайм ДНК-сорб-АМ». Скрининг генов MβL Vim1, Vim2, Imp1, Spm1, Gim1 *P. aeruginosa* проводили методом ПЦР [Черкашин Е.А., 2008, Кузнецова М. В., 2014]. Детекцию генов MβL групп VIM, IMP и NDM проводили методом ПЦР в режиме «реального времени» (rtPCR), используя набор MDR MBL-FL («Амплисенс») согласно его инструкции.

Генотипирование штаммов *P. aeruginosa*. Генотипирование проводили методом RAPD-ПЦР (Random Amplified Polymorphic DNA) с произвольным праймером, размером 10 нуклеотидов Short 1 (AATCGGGCTG, «Синтол») и MLST по методике Curran B. et al. [Curran B., 2004]. Для определения аллельного профиля штаммов использовали программную базу сайта PubMLST (URL: <http://www.pubmlst.org>).

Чувствительность штаммов *P. aeruginosa* к дезинфектантам. Исследование чувствительности изолятов *P. aeruginosa* к дезинфектантам проводили путем определения минимальной подавляющей концентрации ДС к

конкретному штамму в соответствии с Руководством Р 1.1.2.3.5.-10. по режимам, указанным в инструкции по применению конкретного ДС.

Статистические методы исследования. Для анализа данных и графического представления результатов применяли методы статистики с использованием программы «Excel». Расчёт значений по сравниваемым группам пациентов проводили при $p < 0.05$, используя t-критерий Стьюдента и критерий согласия Пирсона хи-квадрат. Индекс разнообразия популяции рассчитывали по формуле Хантер-Гастона [Hunter P.R., Gaston M.A., 1988].

Исследования проводились в соответствии с этическими принципами, которые берут начало в Хельсинской Декларации (ICH Harmonized Tripartite Guideline for GCP). До начала исследований от всех пациентов было получено информированное согласие, форма которого не противоречит международным этическим нормам и одобрена этическим комитетом ФГБНУ «МГНЦ» (Заключение этического комитета ФГБНУ «МГНЦ», протокол №2/2 от 10 февраля 2021).

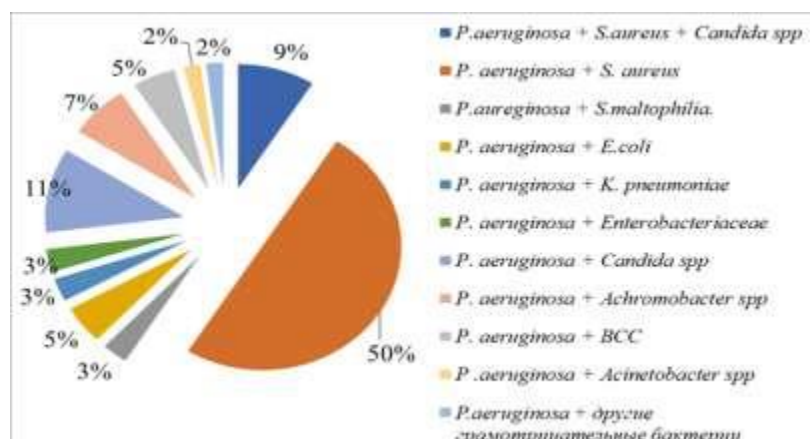
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Микробиологические особенности ХИЛ, вызванной *P. aeruginosa*.

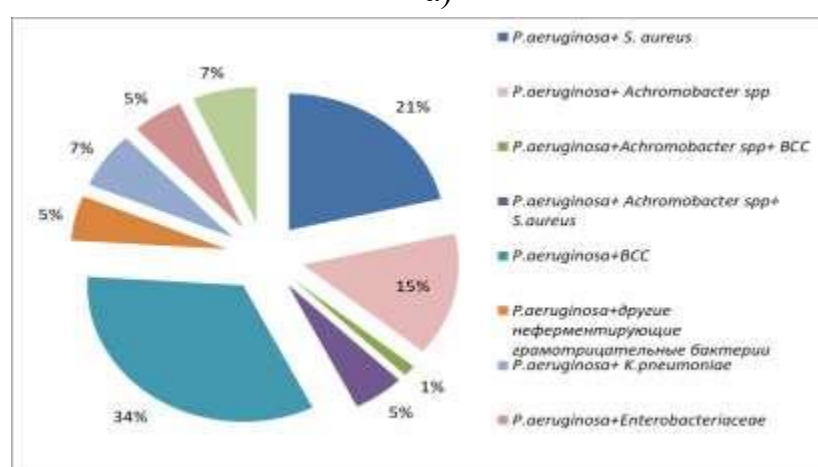
В результате проведенного мониторинга микрофлоры нижних дыхательных путей у больных муковисцидозом в период 2012-2021 гг. включительно от 636 пациентов с МВ (525 детей и 111 взрослых) выделено 793 изолята *P. aeruginosa*. 402 изолята сохранены в коллекцию лаборатории. Доля моноинфекции, вызванной *P. aeruginosa*, составляла 41% у детей и 30% у взрослых. Инфекция, вызванная *P. aeruginosa* в ассоциации с другими микроорганизмами среди детей и взрослых составила 59% и 70% соответственно (рисунок 1).

Результаты микробиологического мониторинга.

Исследования в динамике микрофлоры дыхательных путей 101 ребенка с синегнойной инфекцией, больных МВ, в течение от 6 месяцев до 9 лет показали, что за время наблюдения произошла смена возбудителей: *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae*, *E. asburiae*, *E. bovis*, *S. maltophilia*, *Candida spp.* на *P. aeruginosa* и установление моноинфекции *P. aeruginosa* у 34% детей. У 66% детей в динамике из нижних дыхательных путей высевали *P. aeruginosa* в ассоциации с другими микроорганизмами.



а)



б)

Рисунок 1. Частота встречаемости *P. aeruginosa* в ассоциации с другими микроорганизмами (а - среди взрослых с МВ, б - среди детей с МВ)

Микробный пейзаж нижних дыхательных путей детей МВ, инфицированных *P. aeruginosa*, отличался в зависимости от возраста детей. Проанализированные данные, собранные в течение 10 лет, показали, что частота встречаемости ассоциации *P. aeruginosa* + НГОБ (неферментирующие грамотрицательные бактерии) в младенческом возрасте (0-2 года) составляет 10.5%, далее в группе детей дошкольного возраста (3-6 лет) частота ассоциации *P. aeruginosa* + НГОБ незначительно снижается и составляет 8.9% за счет увеличения доли *S. aureus*, а у детей старше 7 лет происходит увеличение частоты встречаемости этой ассоциации до 14%.

Микробиологический мониторинг показал, что первый высев бактерий *P. aeruginosa* можно наблюдать в возрасте от 9 месяцев до 16 лет, а также фиксировали увеличение титра бактерий в течение 6 месяцев с 1 до 10^5 КОЕ/мл.

Мониторинг позволил выявить длительную персистенцию ассоциаций возбудителей ХИЛ при МВ. Наиболее часто встречалась *P. aeruginosa* в

ассоциации с *S. aureus* – 22%. Длительность персистенции в результате мониторинга такой ассоциации наблюдали от 3 мес. до 7 лет (Таблица 1).

Таблица 1 – Длительность выделения *P. aeruginosa* в динамике (моноинфекция и в ассоциации с другими патогенами)

Длительность выделения	Число пациентов с моноинфекцией (n=34 пациента)	Число пациентов с ассоциацией (n=67 пациентов)		
		<i>S. aureus</i> n=22	<i>Candida spp</i> n=3	НГОВ n=14
Менее года	10 (29%)	3 (14 %)	1 (33 %)	5 (36 %)
1 год	13 (38%)	7 (31,5 %)	1 (33 %)	4 (28 %)
2 года	4 (12%)	4 (18 %)	-	3 (21 %)
3 года	4 (12%)	2 (9 %)	-	1 (7 %)
4 года	2 (6%)	3 (14 %)	1 (33 %)	1 (7 %)
5 лет	1 (3%)	1 (4,5%)	-	-
6 лет	-	1 (4,5%)	-	-
7 лет	-	1 (4,5%)	-	-

Микробиологическая характеристика коллекции штаммов *P. aeruginosa*, выделенных из мокроты детей и взрослых больных муковисцидозом

Была проведена микробиологическая характеристика изолятов *P. aeruginosa*, выделенных из мокроты 199 больных МВ за 2005-2021 гг. – от 163 детей и 36 взрослых. В контрольную группу вошли 90 пациентов, не страдающих МВ.

В результате исследований обнаружено, что 62% изолятов *P. aeruginosa* (МВ) были способны образовывать биопленки. Выявлены изоляты без пигмента (23%), а также медленно растущие (8%) и изоляты с мукоидным фенотипом (27%).

9% штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от взрослых и 11% штаммов, выделенных от детей, больных муковисцидозом, имели высокую частоту мутаций ($f \geq 1 \cdot 10^{-6}$) и являлись сильными мутаторами. 59% гипермутабельных изолятов *P. aeruginosa* (МВ) имели атипичный фенотип, и были устойчивыми к фагам, 65% являлись множественнорезистентными и 71% были способны образовывать биопленки.

Среди изолятов *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов, не страдающих муковисцидозом не обнаружено сильных мутаторов и штаммов атипичного фенотипа. Что свидетельствует о высокой адаптационной способности изолятов *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов с МВ, и сложностью при их идентификации.

Для снижения инфицирования и предупреждения тяжелых осложнений, приводящих к смертельным исходам, необходима своевременная и точная идентификация как типичных, так и нетипичных форм *P. aeruginosa*. Для

правильной идентификации *P. aeruginosa* атипичного фенотипа в данной работе мы предложили алгоритм микробиологической диагностики ХИЛ, вызванной *P. aeruginosa*.

Молекулярно-эпидемиологический мониторинг ХИЛ, вызванной *P. aeruginosa*, у пациентов с МВ.

Для изучения генетического разнообразия и эпидемиологического значения штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов с МВ, методом *RAPD-PCR* было генотипировано 233 штаммов, выделенных из нижних дыхательных путей 151 больных (116 детей и 35 взрослых) с 2005-2022 гг. Выявлено 145 различных кластера возбудителя хронической синегнойной инфекции у больных муковисцидозом. У 14 % пациентов высевали *P. aeruginosa* таких генотипов, которые встречались и у других больных МВ с синегнойной инфекцией. У 86% пациентов выделяли уникальные генотипы, не встречающиеся у других больных (Таблица 2).

Таблица 2 – Описание *RAPD*- генотипов

Кол-во штаммов, исследованных методом <i>RAPD</i>	233
Кол-во <i>RAPD</i> - генотипов	145
Кол-во больных, изоляты от которых охарактеризовали методом <i>RAPD</i>	151
Кол-во больных, у которых штаммы одинаковые по генотипу, различные по фенотипу	40
Кол-во больных, у которых штаммы (из одного посева) различные по генотипу	2
Кол-во больных, у которых генотипы уникальные/неуникальные	130/21

Методом *MLST* определены 20 различных сиквенс-типов среди отобранных штаммов от пациентов из разных регионов Российской Федерации в процессе мониторинга. Среди которых шесть сиквенсов (ST 233, ST235, ST 245, ST 274, ST 273, ST 381) были высококонтагиозными и эпидемически значимыми (Таблица 3,4). Их регистрировали и в других странах у пациентов с МВ (<https://pubmlst.org/>). Наибольшее распространение в РФ получили 2 сиквенс-типа: ST 235 – 7 областей РФ, ST 274 – 5 областей (Таблица 4).

В международную базу *PubMLST* были внесены сведения о 31 изоляте *P. aeruginosa*, выделенном от больных МВ на территории РФ. 3 новых сиквенс-типа *P. aeruginosa*, выделенные от пациентов с муковисцидозом, отсутствовали ранее в международной базе *PubMLST* и были зарегистрированы под новыми номерами ST 4037, ST 3993, ST 4038. Последовательность нуклеотидов седьмой аллели, гена

trpE P. aeruginosa ST 3993 оказалась новой и впервые зарегистрирована в базе как *trpE* 317.

Таблица 3 – Результаты микробиологического мониторинга

Всего образцов	Количество пациентов с синегнойной инфекцией	Получено изолятов	Выявлено генотипов (MLST)	Число эпидемически значимых генотипов
Дети				
3601	525	661	20	6
Взрослые				
299	111	132	7	2
Контрольная группа				
90	90	90	2	2
Исследование в динамике				
69	27	90	15	5

Уникальные генотипы ST 4037, ST 3993, ST 4038 были выделены у пациентов с МВ Красноярского края, Чувашии и Ямало-Ненецкого автономного округа (ЯНАО), соответственно (Таблица 4).

С использованием молекулярно-генетических методов была показана персистенция бактерии *P. aeruginosa* одного генотипа в нижних дыхательных путях у 93% пациентов. Длительную персистенцию бактерий *P. aeruginosa* одного генотипа наблюдали у 4 пациентов, у пациента Д. (3 года), у больной М. одновременно двух генотипов (4 года), у пациентки С. (9 лет), а у пациента А. *P. aeruginosa* (генотип ST1050) выделяли в течение 15 лет (Рисунок 3).

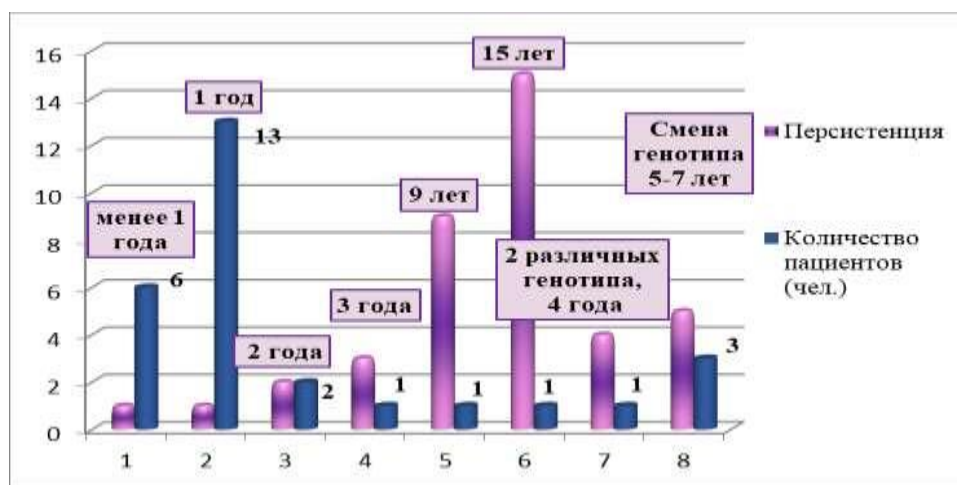


Рисунок 3. Длительность персистенции бактерий *P. aeruginosa*

Таблица 4 – Географическое распространение сиквенс-типов *P. aeruginosa*, выделенных от больных муковисцидозом в России.

ST	Всего штаммов данного сиквенс-типа	Области	Число штаммов
233	2	Воронежская обл.	2
235	21	Башкирия	2
		Белгородская обл.	1
		Красноярский край	2
		Ставропольский край	6
		Чувашия	2
		Москва и МО	6
245	2	Красноярский край	2
273	2	Москва и МО	2
274	5	Красноярский край	1
		Костромская обл.	1
		Москва и МО	1
		Самарская обл.	1
		Челябинская обл.	1
281	1	Тульская обл.	1
381	10	Красноярский Край	10
390	6	Тульская обл.	6
575	4	Москва и МО	2
		Брянская обл.	2
612	4	Белгородская обл.	3
		Москва и МО	1
667	1	Воронеж. обл.	1
794	4	Москва и МО	4
803	2	Р. Чувашия	2
1050	8	Москва и МО	8
1074	2	Тюменская обл.	2
2123	2	Москва и МО	2
2390	4	Москва и МО	4
3993	2	Р. Чувашия	2
4037	2	Красноярский Край	2
4038	5	ЯНАО	2

Мониторинг антибиотикочувствительности изолятов *P. aeruginosa* к антимикробным препаратам

Исследование антибиотикочувствительности изолятов *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов с МВ показало, что мультирезистентными являлись 43% (дети) и 61% (взрослые).

У детей наибольший процент штаммов был чувствителен к антимикробным препаратам меропенему (82%), тобрамицину (83%) и колистину (98 %) (Рисунок

4). У взрослых 100% изолятов были чувствительны к колистину, 66% - к тобрамицину, 51% - к азлоциллину, 47% - меропенему. Мониторинг антибиотикорезистентности в результате исследования фенотипическими методами показал, что в процессе длительной персистенции изоляты способны как приобретать устойчивость к антибиотикам, так в отдельных случаях терять.

При полногеномном секвенировании изолятов *P. aeruginosa* нами были определены гены резистентности к антибиотикам, интегрон 2 класса и гены системы эффлюкса различных семейств, а также мутации в генах-мишенях действия антибиотиков.

Выявлено наличие недавно открытого гена *crpP*, кодирующий АТФ-фосфотрансфераза, который инактивирует ципрофлоксацин (у 5 изолятов: 70L, 203-2, 159B, 122-1, 122-2).

Наиболее распространенными были гены, кодирующие резистентность к аминогликозидам, беталактамам, к фторхинолонам, а также фосфомицину.

Исследование полных геномов бактерий *P. aeruginosa* из нижних дыхательных путях больных МВ при ХИЛ показало, что наряду с генами резистентности к антибактериальным препаратам, обеспечивающим низкую чувствительность к антибиотикам, важную роль играют различные факторы вирулентности, в том числе система SSTT и система эффлюкса, экспрессия которой регулируется с помощью регуляторной системы Quorum sensing (QS).

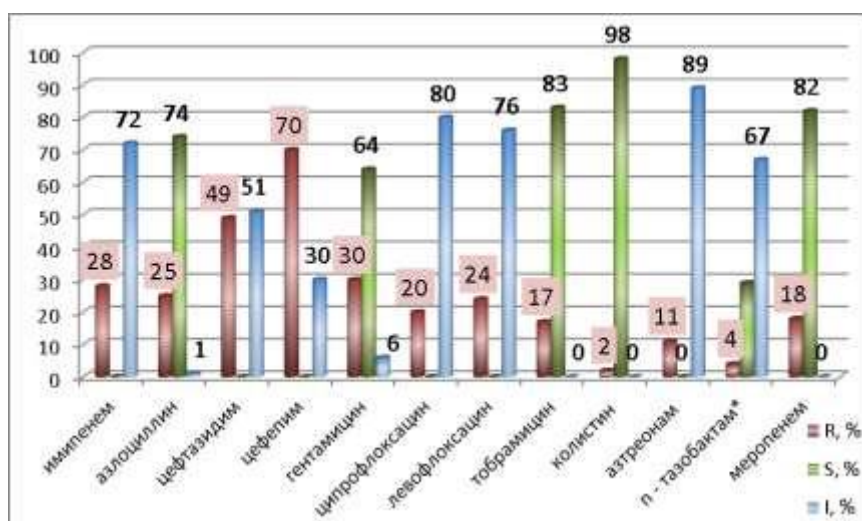


Рисунок 4. Чувствительность к антибиотикам изолятов *P. aeruginosa*, выделенных от детей в 2021-2022 гг.

Исследование на наличие генов металло-β-лактамаз *Pseudomonas aeruginosa*

Было изучено 82 изолята *P. aeruginosa*, выделенных от трех групп пациентов: 30 детей МВ и 23 взрослых МВ с ХИЛ, 20 пациентов ОРИТ и

хирургических отделений ГКБ им. Буянова с острой инфекцией, вызванной *P. aeruginosa* (пневмония, пиелонефрит, острая инфекция мочевыводящих путей, перитонит), не больных МВ, проходивших лечение в одно время, а также 5 изолятов *P. aeruginosa*, выделенных из домашней окружающей среды детей МВ. Гены MβL VIM типа были обнаружены у 4 изолятов *P. aeruginosa* (10%) от детей с МВ, 3 из которых относились к ST235 и были мультирезистентными, и 1 изолят (ST235), выделенного от взрослого с МВ (4,3%). Среди штаммов *P. aeruginosa*, выделенных из внешней среды, гены MβL обнаружены не были. Среди 20 изолятов *P. aeruginosa* HeMB гены MβL были выявлены у 6 изолятов, которые характеризовались мультирезистентностью, и с помощью генотипирования (RAPD-PCR и MLST) было показано, что они были генетически родственными, относились к ST 654 (кроме одного, который относился к ST111), что говорит об их возможном госпитальном происхождении.

Таким образом, полученные результаты - обнаружение генов MβL Vim типа у госпитальных штаммов (ST235 и ST 654), позволяют сделать вывод о том, что наличие генов MβL Vim типа является маркером госпитальной инфекции, которая для пациентов с МВ представляет особую опасность. Это требует соблюдения мер по профилактике распространения таких изолятов в госпитальных и вне госпитальных условиях, а также контроля обсеменённости внешней среды бактериями *P. aeruginosa*. Полученные результаты указывают на необходимость включения исследования на наличие генов MβL в алгоритм диагностики синегнойной инфекции у пациентов с МВ.

Мониторинг микрофлоры внешней среды в домашних условиях проживания пациентов

С целью изучения окружающей среды пациентов с МВ вне стационара были исследованы 247 смывов с объектов домашней среды детей МВ (25 детей однократно, 2 детей в динамике) (Таблица 5).

В результате исследование микрофлоры окружающей домашней среды больных детей МВ с ХИЛ, вызванной *P. aeruginosa*, нами были выявлены домашние очаги *P. aeruginosa*. При этом основными резервуарами являлись сливы раковин. Кроме того, мы показали, что зубные щетки и небулайзерные маски при их ненадлежащем уходе также могут быть факторами передачи, что может способствовать реинфицированию. С фильтров компрессора небулайзеров и зубных щеток выделяли также *A. lwoffii*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans* и *S. aureus*, которые могут инфицировать легкие больного МВ, в том числе в ассоциации с *P. aeruginosa* (Таблица 5).

Таблица 5 – Результаты исследования объектов домашней среды детей с ХИЛ, вызванной *P. aeruginosa*

Объекты	Всего образцов	Получено изолятов <i>P. aeruginosa</i>	Всего генотипов	Повторное выделение, %
Сливы раковин	25	10	4	1 (10%)
Зубные щетки	25	1	1	-
Фильтр компрессора	25	0	-	-
Небулайзеры	75	2	-	-

Исследование изолятов *P. aeruginosa* методом RAPD-PCR выявило циркуляцию одного генотипа бактерий *P. aeruginosa* в окружающей среде больного ребенка МВ. Циркуляция бактерий *P. aeruginosa* в домашней среде может привести к повторному инфицированию после антибактериальной терапии. В результате эрадикация *P. aeruginosa* может оказаться неэффективной.

Исследования эффективности дезинфекции небулайзеров и раковин в обследованных семьях показали, что они являются недостаточными. После проведения дезинфекции с поверхности 25% объектов небулайзера высевали микроорганизмы. Эффективность дезинфекции сливов наблюдали при обработке раковин в течение ночи (т.е. более 3-8 часов).

Исследования домашней среды в динамике двух детей показали, что применяемые в семье способы дезинфекции раковины были не эффективны в отношении бактерий *P. aeruginosa*. Недостаточная дезинфекция объектов домашней среды может быть фактором риска реинфекции бактериями *P. aeruginosa*.

Таким образом, показано, что для предупреждения распространения резистентных изолятов и предотвращения вспышечной заболеваемости больных МВ эпидемически значимыми клонами *P. aeruginosa* необходимо исследовать и осуществлять контроль их устойчивости к дезинфицирующим средствам, а также мониторировать режимы дезинфекции. Нами разработаны рекомендации по проведению профилактических мер в домашних условиях.

Чувствительность *Pseudomonas aeruginosa* к дезинфицирующим средствам

Было проведено исследование чувствительности изолятов *P. aeruginosa* к 70% этиловому спирту, дезинфектантам: Миродез Универсу, к Изумруду и Торихлору.

К 70% этиловому спирту при экспозиции 45 сек были чувствительны 100% (67) изолятов *P. aeruginosa*, выделенных от трех групп пациентов детей с МВ

(ДМВ), взрослых с МВ (ВМВ) и пациентов, не страдающих муковисцидозом (неМВ).

Исследование показало, что заявленный производителем режим обеззараживания дезинфектанта на основе ЧАС (четвертичные аммониевые соединения) и альдегида (Миродез Универ) оказался недостаточным для изолятов всех трех исследованных групп штаммов *P. aeruginosa*, включая множественнорезистентный штамм *P. aeruginosa* ST235, имеющий эпидемическое значение. 100% чувствительность изолятов *P. aeruginosa* была достигнута для Миродез Универ при увеличении концентрации в 2,5 раза по сравнению с заявленной производителем.

Заявленные производителями режимы обеззараживания дезинфектанта «Изумруд» на основе ЧАС, гуанидина и ПАВ и хлорсодержащего ДС «Торихлор» были эффективны в отношении 100% изолятов *P. aeruginosa* трех групп пациентов.

100 % изолятов *P. aeruginosa* (неМВ), 90% изолятов *P. aeruginosa* ДМВ, и 96% изолятов ВМВ были чувствительны к «Изумруд» с концентрацией 0.4%. Среди штаммов, для обеззараживания которых требовались большие концентрации ДС (0.5%), был изолят, который характеризовался наличием МβL VIM-типа.

Нами выявлена фенотипическая гетерогенность генотипически идентичных изолятов не только по отношению к антибиотикам, но и к дезинфицирующим средствам.

Меры профилактики инфицирования бактериями *Pseudomonas aeruginosa* в стационаре и в домашних условиях проживания пациентов МВ

На основе полученных данных разработана схема микробиологического мониторинга ХИЛ, вызванной бактериями *P. aeruginosa*. Мониторинг должен включать не только бактериологические исследования с целью идентификации, но и мониторинг антибиотикорезистентности штаммов, включающий выявление генов МβL, мониторинг чувствительности к дезинфектантам с целью коррекции режимов дезинфекции, а также мониторинг микрофлоры внешней домашней среды.

Усовершенствован алгоритм диагностики ХИЛ, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*. В алгоритм микробиологической диагностики *P. aeruginosa* внесены исследование генов антибиотикорезистентности МβL-маркеров эпидемически значимых штаммов и для точной идентификации *P. aeruginosa* с атипичным

фенотипом увеличение времени инкубации и обязательное использование методов Maldi-TOF, ПЦР (Рисунок 5).



а)



б)

Рисунок 5. Алгоритм идентификации *P. aeruginosa* у пациентов с МВ для правильной диагностики синегнойной инфекции.

на рисунке а) представлены этапы алгоритма 1-4,

б) представлены этапы алгоритма 4-8

Необходимо осуществлять персонализированный подход при профилактике и лечении пациентов с МВ в зависимости от микробиологического статуса

нижних дыхательных путей, меняющихся показателей состава ассоциаций *P. aeruginosa* с другими микроорганизмами, наличии моноинфекции, изменения данных антибиотикограмм, выявления генов резистентности и обнаружения эпидемических клонов *P. aeruginosa*.

Мониторинг ХИЛ, вызванной *P. aeruginosa*, необходим всем врачам различных специальностей, работающим с пациентами с муковисцидозом. Мониторинг позволит проводить эффективную диагностику, лечение и профилактические мероприятия для пациентов с МВ, что приведет к улучшению качества жизни и увеличению продолжительности жизни пациентов с муковисцидозом.

Выводы.

1. В результате исследования 3900 образцов биологического материала в течение 10 лет микробиологического мониторинга у 636 пациентов с МВ (525 детей и 111 взрослых) были выделены штаммы *P. aeruginosa*, циркулирующие на территории Российской Федерации, собрана и охарактеризована коллекция *P. aeruginosa*, включающая 402 штаммов.
2. Показано, что среди изолятов, выделенных от пациентов с МВ, преобладают клоны высокого эпидемического риска ST233, ST 235, ST245, ST274, ST273, ST381. Выявлены новые генотипы ST4037, ST3993, ST4038 *P. aeruginosa*, обнаруженные только среди изолятов от пациентов с МВ.
3. По результатам генотипирования в международную базу PubMLST по РФ аннотированы сведения о 34 изолятах *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов с МВ.
4. При сравнении изолятов *P. aeruginosa* от больных с МВ и больных контрольной группы, выявлена фенотипическая гетерогенность в популяции *P. aeruginosa* от пациентов с МВ. В том числе, изоляты, выделенные от пациентов с МВ демонстрируют в 23 % атипичные фенотипы, в 47 % – множественную устойчивость к антибиотикам. Среди бактерий, выделенных от контрольной группы больных (без МВ), изолятов *P. aeruginosa* с атипичным фенотипом не выявлено, множественной устойчивостью к антибиотикам обладали 11%.
5. Выявлены домашние очаги инфекции *P. aeruginosa* и показана роль объектов внешней среды, включая раковины, небулайзеры и другие предметы домашнего обихода, как резервуаров и факторов передачи возбудителя. Показано, что 60 % изолятов от больных муковисцидозом демонстрируют устойчивость к дезинфектантам при рекомендованных производителем режимах применения.
6. В целом, полученные данные позволяют усовершенствовать схему микробиологического мониторинга ХИЛ, вызванной бактериями *P. aeruginosa*,

для диагностики, лечения и профилактики ХИЛ у пациентов с МВ, на основе использования методов Maldi-TOF или ПЦР для идентификации *P. aeruginosa* с атипичным фенотипом, фено- и генотипического мониторинга антибиотикорезистентности, мониторинга чувствительности к дезинфектантам, мониторинга микрофлоры внешней домашней среды.

Список работ по теме диссертации, опубликованных в рецензируемых изданиях :

1. Чернуха, М.Ю. Алгоритм микробиологической диагностики хронической инфекции лёгких у больных муковисцидозом/ М.Ю. Чернуха, Л.Р. Аветисян, И.А. Шагинян, Г.В. Алексеева, Л.В. Авакян, Н.Ю. Каширская, Н.И. Капранов, С.Ю. Семькин, Е.А. Сиянова, О.С. Медведева, С.А. Красовский, М.В. Усачева, Е.И. Кондратьева, Е.Л. Амелина, А.Г. Чучалин, А.Л. Гинцбург // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. - 2014. - Т.16. - №4. - С.312-324.
2. Аветисян, Л.Р. Антибиотикочувствительность *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и бактерий *Burkholderia cepacia* complex, персистирующих в легких больных муковисцидозом / Л.Р. Аветисян, М.Ю. Чернуха, И.А. Шагинян, Н.И. Капранов, Е.А.Сиянова, О.С. Медведева, Е.И.Кондратьева, Г.В. Алексеева, С.А. Красовский, М.В. Усачева, Е.Л. Амелина // ЖМЭИ. - 2015. - №6. - С.3-10.
3. Чернуха, М.Ю. Применение системы MALDI Biotyper и алгоритма микробиологической диагностики для идентификации неферментирующих микроорганизмов, выделенных из дыхательных путей у больных муковисцидозом/ М.Ю. Чернуха, И.А. Шагинян, В.Г. Жуховицкий, Л.Р. Аветисян, Д.Г. Кулястова, Е.А.Сиянова, О.С. Медведева, Н.Б. Поляков, А.И. Соловьев, Д.А. Грумов, Е.И. Кондратьева, Н.Ю. Каширская, Н.И. Капранов, В.Д. Шерман, А.Ю. Воронкова, В.С. Никонова, Е.Л. Амелина, С.А. Красовский, М.В. Усачева // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. - 2017. - Том 19. - №4. - С.327-334.
4. Сиянова, Е.А. Мониторинг хронической инфекции легких у больных муковисцидозом, вызванной бактериями *Pseudomonas aeruginosa*/ 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 // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. - 2018. - Том 97.- №2. - С.77- 86.

5. Шагинян, И.А. Эпидемиологическая значимость молекулярной изменчивости генома изолятов *Pseudomonas aeruginosa*, вызывающих хроническую инфекцию легких у больных муковисцидозом / Шагинян И.А., Аветисян Л.Р., Чернуха М.Ю., Сиянова Е.А., Бурмистров Е.М., Воронкова А.Ю., Кондратьева Е.И., Чучалин А.Г., Гинцбург А.Л. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. - 2019. - Т.21. - №4. - С.340- 351.

6. Аветисян, Л.Р. Персистенция и адаптация бактерий *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia complex*, *Achromobacter* spp. при хронической инфекции легких у пациентов с муковисцидозом / Аветисян Л.Р., Чернуха М.Ю., Бурмистров Е.М., Сиянова Е.А., Медведева О.С., Русакова Е.В. // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. –2023. – №2. – DOI: 10.24411/2304-9081-2023-12002

Список других публикаций по теме диссертации

7. Сиянова, Е.А. Фенотипические особенности штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных из дыхательных путей больных муковисцидозом с инфекцией легких / Сиянова Е.А., Чернуха М.Ю., Аветисян Л.Р., [и др.] // Тезисы XIV Международного конгресса МАКМАХ/ESCMID по Антимикробной терапии. -Москва, 2014. - Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. - 2014. - Т.16. -№2. - Приложение - С.35.

8. Аветисян, Л.Р. Мониторинг антибиотикочувствительности штаммов *Burkholderia cepacia complex* (Bcc), *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных от больных муковисцидозом / Аветисян Л.Р., Шагинян И.А., Чернуха М.Ю., Сиянова Е.А., Медведева О.С., Алексеева Г.В., Капранов Н.И., [и др.] // Тезисы XII Национальный конгресс с международным участием “Актуальные проблемы муковисцидоза”. Москва, 2015.- С.22.

9. Чернуха, М.Ю. Генетические особенности штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* и бактерий *Burkholderia cepacia complex* / Чернуха М.Ю., Шагинян И.А., Аветисян Л.Р., Сиянова Е.А., Медведева О.С., Алексеева Г.В., Капранов Н.И., [и др.] // Тезисы, XII Национальный конгресс с международным участием “Актуальные проблемы муковисцидоза”. – Москва, 2015. - С.85.

10. Аветисян, Л.Р. Фенотипическая гетерогенность *Pseudomonas aeruginosa* как фактор ограничивающий эффективность антибиотикотерапии при муковисцидозе/ Аветисян Л.Р., Чернуха М.Ю., Шагинян И.А., Сиянова Е.А., [и др.] // Тезисы XVIII Международного конгресса МАКМАХ/ESCMID по Антимикробной терапии. - Москва, 2016. - Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. - 2016. - Т.18. - №2. - Приложение - С.11.

11. Chernukha, M.Yu. Microbiological monitoring of lower respiratory tract infection in patients with cystic fibrosis / Chernukha M.Yu., Shaginyan I.A., Avetisyan L.R.,

- Siyanova E.A., Alekseeva G.V., Medvedeva O.S., [et al.] // Abstracts of the 39 European cystic fibrosis Conference, Basel, 2016. - Journal of Cystic Fibrosis. - 2016. - V.15. - Suppl.- S.68.
12. Chernukha, M.Yu. Phenotypic heterogeneity of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* limits the antibiotic treatment efficacy in cystic fibrosis patients / Chernukha M.Yu., Avetisyan L.R., Shaginyan I.A., Siyanova E.A., E.I. Kondratyeva, [et al.] // Abstracts of the 40 European cystic fibrosis Conference, Seville, 2017. - Journal of cystic fibrosis. - Vol.16. - Suppl 1. - p.S 116.
13. Шагинян, И.А. Молекулярные основы фенотипической гетерогенности бактерий *P. aeruginosa*, вызывающих хроническую инфекцию у больных муковисцидозом / Шагинян И.А., Аветисян Л.Р., Чернуха М.Ю., Сиянова Е.А., [и др.] // Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика.-2017». - Москва, 18-20 апреля 2017. - Том 1. - С.250.
14. Avetisyan, L. Monitoring of chronic *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in cystic fibrosis patients / Avetisyan L., Chernukha M., Siyanova E., Shaginyan I., Prilipov A., [et al.] // Abstracts of the 41 European cystic fibrosis Conference, Belgrade, 2018. - Journal of Cystic Fibrosis. -2018. - Vol.17. - Suppl.3. - S.70.
15. Сиянова, Е.А. Мониторинг продукции металло-бета-лактамаз штаммами *Pseudomonas aeruginosa*, выделенными при хронической синегнойной инфекции легких у больных муковисцидозом / Сиянова Е.А., Чернуха М.Ю., Аветисян Л.Р., [и др.] // Тезисы XXIII Международный конгресс МАКМАХ по Антимикробной терапии. - Москва, 2021. - Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. - Т.23. - Приложение - С. 39.
16. Chernukha, M. Yu. Mutations in chromosomal genes responsible for T3SS of *P. aeruginosa* strains isolated from CF patient lungs / Chernukha M. Yu., Avetisyan L.R., Siyanova E.A., Burmistrov E.M., Medvedeva O.S., Rusakova E.V., Kondrateva E.I., [et al.] // Abstracts of the 44th European Cystic Fibrosis Conference (Digital Conference), 2021. - Journal of Cystic Fibrosis - 2021. - Vol.20. - Suppl.1. – S.83.
17. Avetisyan L.R. Microevolution of *Pseudomonas aeruginosa* in the lungs of patients with cystic fibrosis / Avetisyan L.R., Chernukha M. Yu., Siyanova E.A., Medvedeva O.S., Burmistrov E.M., Rusakova E.V., Kondrateva E.I., [et al.] // Abstracts of the 44th European Cystic Fibrosis Conference (Digital Conference), 2021. - Journal of Cystic Fibrosis - 2021. - Vol.20. - Suppl.1. – S.82.
18. Аветисян, Л.Р. Молекулярные механизмы формирования резистентности к антибиотикам у бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, циркулирующих в легких больного муковисцидозом / Аветисян Л.Р., Чернуха М.Ю., Сиянова Е.А. // Материалы V Съезда эпидемиологов, медицинских микробиологов и

паразитологов Армении (с международным участием). - Ереван, 8 апреля 2022, с.79-83.

19. Avetisyan, L. Microbiological monitoring of chronic lung infection with *Achromobacter* spp. in cystic fibrosis patients / L. Avetisyan, M. Chernukha, E. Rusakova, E. Celikina, E. Siyanova, O. Medvedeva, N. Polyakov, E. Kondratieva, A. Voronkova. // Abstracts of the 45th European Cystic Fibrosis Conference, 8-11 June 2022. - Journal of Cystic Fibrosis. -2022. - Vol. 21, Suppl. - S.101.

20. Сиянова, Е.А. Антибиотикочувствительность изолятов *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных от пациентов с муковисцидозом при хронической инфекции легких, на современном этапе / Сиянова Е.А., Чернуха М.Ю., Аветисян Л.Р., Медведева О.С., Бурмистров Е.М., Воронкова А.Ю., [и др.] // Тезисы XXV Международный конгресс МАКМАХ по антимикробной терапии и клинической микробиологии, 24-26 мая 2023, Москва. - Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2023- Т.25, Приложение 1. - С. 53.

21. Siyanova, E.A. Home environment as a reservoir of *Pseudomonas aeruginosa* infection in patients with cystic fibrosis / E.A. Siyanova, M.Y. Chernukha, L.R. Avetisyan, O.S. Medvedeva, E.M. Burmistrov, N.B. Polyakov, A.I. Solovyev, [et al.] // Abstracts of the 46th European Cystic Fibrosis Conference, Vienna, 7-10 June 2023. - Journal of Cystic Fibrosis. - 2023 Vol. 22. - Suppl.2. - S110-111. - DOI: 10.1016/S1569-1993(23)00524-6

22. Domblides, E.A. Comparison of the respiratory tract microflora of patients with cystic fibrosis and primary ciliary dyskinesia / E.A. Domblides, L.R. Avetisyan, E.I. Kondratyeva, T.A. Kian, A.Y. Voronkova, E.M. Burmistrov, O.S. Medvedeva, E.A. Siyanova, A.V. Nechai, N.B. Polyakov, A.I. Solovyev, V.G. Zhukhovitsky, E.V. Rusakova, M.Y. Chernukha // Abstracts of the 47th European Cystic Fibrosis Conference, Glasgow, 05-08 June 2024. - Journal of Cystic Fibrosis. - 2024 Vol. 23. - Suppl.1. - S147. - DOI: 10.1016/S1569-1993(24)00557-5

23. Siyanova, E.A. Determination of metallo- β -lactamase genes *Pseudomonas aeruginosa* isolated from chronic lung infection in CF patients / E.A. Siyanova, M.Y. Chernukha, L.R. Avetisyan, E.I. Kondratyeva, G.V. Alekseeva, M.S. Kunda, O.L. Voronina, N.N. Ryzhova, E.I. Aksenova, O.S. Medvedeva, A.Y. Voronkova, S.A. Krasovsky, D.I. Zrelkin, D.A. Egorova // Abstracts of the 47th European Cystic Fibrosis Conference, Glasgow, 05-08 June 2024. - Journal of Cystic Fibrosis. - 2024 Vol. 23. - Suppl.1. - S134. - DOI: 10.1016/S1569-1993(24)00517-4