

УДК 616-056.7 (470.43)

МОНИТОРИНГ МИКРОФЛОРЫ ПАРАНАЗАЛЬНЫХ СИНУСОВ КАК СПОСОБ РАННЕЙ ПРОФИЛАКТИКИ КОЛОНИЗАЦИИ НИЖНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫМИ ШТАММАМИ МИКРООРГАНИЗМОВ У ПАЦИЕНТОВ С МУКОВИСЦИДОЗОМ

© 2018 О.В. Кондратенко¹, А.В. Жестков¹, Е.Д. Медведева¹, А.В. Ермолаева¹, Е.А. Васильева²¹ ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет МЗ РФ² ГБУЗ Самарская областная детская клиническая больница им. Н. Н. Ивановой

Статья поступила в редакцию 12.12.2018

Многочисленными работами зарубежных авторов показана связь между микроорганизмами, колонизирующими верхние и нижние дыхательные пути у пациентов с муковисцидозом. Однако, в Российской Федерации подобные исследования не проводились. В статье приводятся результаты оценки видового состава микроорганизмов, выделенных из параллельных посевов жидкости назального лаважа и нижних дыхательных путей пациентов с муковисцидозом. Целью исследования было определение качественного и количественного видового состава микрофлоры жидкости назального лаважа и оценка корреляции микроорганизмов, выделенных из параназальных синусов и нижних дыхательных путей. Материалом для исследования был 61 образец назального смыва, полученный от 44 пациентов с муковисцидозом Самарской области. Сбор и посев первичного материала на питательные среды осуществлялся в соответствии с патентом РФ «Способ сбора и первичного посева жидкости назального лаважа от пациентов с муковисцидозом для микробиологического исследования». Идентификация выделенных штаммов проводилась с помощью MALDI-TOF-масс-спектрометрии. В результате проведенного исследования выделено 333 штамма микроорганизмов. Из них 54 штамма, выделенные от 33 пациентов, имеют доказанное клиническое значение при муковисцидозе. В структуре клинически значимых штаммов были такие представители, как *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cenocepacia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Achromobacter xylosoxydans*. Анализ результатов показал, что структура бактериальных возбудителей, выделенных из назального лаважа коррелирует с составом микрофлоры нижних дыхательных путей. В результате проведенного исследования выявлено 8 пациентов, находящихся в группе риска по инфицированию штаммами, имеющими доказанное клиническое значение при муковисцидозе из верхних дыхательных путей. Таким образом, параназальные синусы могут быть источником инфицирования нижних дыхательных путей у пациентов с муковисцидозом. Регулярное микробиологическое исследование микрофлоры из жидкости назального лаважа позволяет выявить клинически значимые микроорганизмы на раннем этапе и может рассматриваться как способ ранней профилактики формирования хронической бактериальной инфекции нижних дыхательных путей при муковисцидозе.

Ключевые слова: Муковисцидоз, неферментирующие грамотрицательные бактерии, параназальные синусы, нижние дыхательные пути, назальный лаваж.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из частых осложнений муковисцидоза (МВ) являются заболевания пазух носа. Среди них наиболее часто встречаются хронические риносинуситы, гаймориты, этмоидогаймориты

Кондратенко Ольга Владимировна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии.
E-mail: helga1983@yandex.ru

Жестков Александр Викторович, профессор, заведующий кафедрой общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии.
E-mail: avzhestkov2015@yandex.ru

Медведева Екатерина Дмитриевна, студент.
E-mail: katemed96@gmail.com

Ермолаева Анастасия Вячеславовна, студент.
E-mail: ermolaeva95@mail.ru

Васильева Елена Александровна, врач высшей категории, руководитель Самарского областного центра по лечению муковисцидоза.
E-mail: vasileva@rcf.ru

и, конечно же, назальный полипоз. При этом у взрослых пациентов с МВ доля риносинуситов составляет около 63%, а количество случаев назального полипоза около 25% [1]. Доля назального полипоза у детей колеблется по данным различных авторов от 32 до 45% [2]. Клиническая манифестация заболеваний синусов при МВ может осуществляться с обнаружения назальных полипов, изменений по результатам исследований методом компьютерной томографии, а также выявления клинически значимых микроорганизмов при исследовании материала с верхних дыхательных путей (ВДП) при микробиологическом исследовании [3]. Работами зарубежных авторов было показано, что строение клеточных мембран параназальных синусов идентично мембранам в тканях легких. Как и в нижних дыхательных путях (НДП), дефект гена муковисцидозного трансмембранного регулятора (МВТР) приводит к повышенной вязкости

секрета в пазухах, что также способствует присоединению микрофлоры и развитию хронических риносинуситов [4,5]. Исследования микрофлоры ВДП у пациентов с МВ показало, что у них наиболее часто выделяются *H.influenzae*, *P.aeruginosa* и *S.aureus* [6,7]. Работами ряда исследователей показана возможная связь между микроорганизмами, колонизирующими верхние и нижние дыхательные пути [8]. Так, Майнц и коллеги демонстрировали идентичность генотипов *P.aeruginosa* и *S.aureus*, выделенных из ВДП и НДП у пациентов с МВ [9]. В свою очередь, они сделали предположение, что ВДП могут быть резервуаром инфекции при МВ и подтвердили эту гипотезу своими дальнейшими исследованиями [10]. В своей работе авторами приводится описание клинического случая выявления идентичного генотипа *P.aeruginosa* из ВДП от пациента до и после трансплантации легких. Кроме того, другими исследованиями также отмечена необходимость и значимость обследования и своевременной детекции бактерий в параназальных синусах, особенно для пациентов, готовящихся к трансплантации легких [11]. Многочисленными исследованиями было показано, что присоединение инфекции, ассоциированной с *P.aeruginosa*, приводит к значительному и быстрому снижению легочной функции у пациентов с МВ [12,13]. Вероятно, что хроническое инфицирование пазух носа указанными бактериями также может приводить к формированию значительных изменений в пазухах [14]. Помимо этого, Хансен и коллеги показали, что параназальные синусы могут быть защитной зоной для адаптации клонов *P.aeruginosa* и, время от времени, способствовать распространению этого патогена в легкие, способствуя, тем самым, процессу формирования хронической легочной инфекции и, косвенно объясняя возможную неэффективность проводимой антибактериальной терапии [15]. Исследованиями других ученых показано, что состав микрофлоры из аспиратов синусов до 80% случаев совпадает со структурой микрофлоры, колонизирующей НДП [16]. Исследованиями Вильсона и коллег также показана идентичность штаммов, выделенных из жидкости назального лаважа и мокроты от 54 детей с МВ, при этом авторы отмечают необходимость антибактериальной терапии, направленной на эрадикацию возбудителя из пазух. Показана эффективность проводимой терапии в 67% случаев в течении 3 месяцев после лечения [17]. Таким образом, накоплен значительный практический мировой опыт исследований, отражающий актуальность и неоспоримую практическую значимость исследования микрофлоры назального лаважа у пациентов с МВ в рутинной практике. Однако, обратившись к имеющимся публикациям рос-

сийских ученых, мы не обнаружили исследований, посвященных этой проблеме.

Целью нашей работы было определение качественного и количественного видового состава микрофлоры, выделенной из назального лаважа (НЛ), и оценка корреляции микроорганизмов, выделенных из параназальных синусов (ПС) и НДП.

Для реализации поставленной цели были определены следующие задачи: 1. Оценить видовой состав выделенной микрофлоры, а также количественное содержание возбудителей в пересчете на 1 мл жидкости НЛ; 2. Сопоставить микроорганизмы, выделенные из НЛ с результатами анализов мокроты от этих же пациентов; 3. Выявить пациентов группы риска по колонизации НДП возбудителями, имеющими клиническое значение при МВ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для реализации поставленных перед нами задач было проведено микробиологическое исследование 61 образца жидкости НЛ, полученной от 44 пациентов с МВ Самарской области. При этом 23 пациента были обследованы однократно, 15 – двукратно, и один пациент троекратно. Сбор и первичный посев биоматериала осуществлялся в соответствии с авторской методикой, описанной в Патенте РФ на изобретение «Техника сбора и первичного посева жидкости назального лаважа от пациентов с муковисцидозом для микробиологического исследования» [18]. При этом полость носа пациента промывалась стерильным 1,5-2% раствором NaCl с помощью индивидуального назального душа с последующим сбором свободно вытекающей лаважной жидкости в стерильный одноразовый контейнер. Собранный материал транспортировался в лабораторию в изотермических условиях не позднее 2 ч после сбора, вортиксовался, после этого производился посев 200 мкл собранного материала стерильным тампоном на питательные среды: 5% кровяной агар, шоколадный агар, универсальную хромогенную среду, селективную среду для *Burkholderia cepacia* (OFPBL-агар), а также агар Сабуро с использованием техники посева «газоном». Затем засеянные чашки с 5% кровяным агаром, универсальной хромогенной средой инкубировались в термостате при температуре 37°C в течение 24-48 ч с ежедневным просмотром посевов. Чашки с шоколадным агаром инкубировались при 35°C в атмосфере 5-7% CO₂ в течение 24-48 ч с ежедневным просмотром посевов. Засеянные чашки с селективной средой для *Burkholderia cepacia* (OFPBL-агар) и агаром Сабуро инкубировались 24-48 ч при температуре 37°C, далее инкубировались до 14 суток при комнатной температуре

с ежедневным просмотром посевов. Идентификация выросших колоний осуществлялась с помощью MALDI-TOF-масс-спектрометрии на приборе Microflex LT (Bruker). Пересчет выросших колоний осуществлялся на 1 мл лаважной жидкости.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования выделено 333 штамма микроорганизмов. При этом среднее количество штаммов, выделенных от одного пациента составило 5,44 микроорганизма. Все выделенные штаммы были условно разделены нами на 3 группы. В первую группу вошли микроорганизмы, имеющие доказанное клиническое значение в развитии хронической инфекции легких при МВ. К ним были отнесены такие представители, как *B.cenopacia* complex, *P.aeruginosa*, *A.xylosoxydans*, *S.aureus*, *S.maltophilia*. Вторую группу составили микроорганизмы, чье клиническое значение при МВ возможно, но не установлено до конца, ввиду отсутствия достаточного опыта ведения пациентов, колонизированных указанными штаммами в мире. К этой группе мы отнесли таких представителей, как энтеробактерии, *Pseudomonas* spp., не относящиеся к *P.aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Brevundimonas* spp., *Chryseobacterium* spp., *Achromobacter* spp., не относящиеся к видам *A.xylosoxydans* и *A.ruhlandii*, *Sphingomonas* spp., *Shewanella* spp., *Delftia* spp., *Pseudoxantomonas* spp., *Ochrobacter* spp., *Acidovorax* spp. и некоторые другие неферментирующие грамотрицательные бактерии (НФГОБ). Штаммы *Gordonia* spp. и *Mycobacterium* spp. были также отнесены к этой группе, несмотря на то, что значение

Mycobacterium spp. при МВ описано, выделение их только с ВДП не является клинически значимым и может быть результатом транзитного попадания на слизистую оболочку с объектов окружающей среды. Кроме того, к этой группе были отнесены грибы. Третью группу составили микроорганизмы, не имеющие клинического значения при МВ и являющиеся представителями нормальной микрофлоры дыхательных путей, а также микроорганизмы, выделяемые из окружающей среды. В эту группу вошли представители родов *Staphylococcus*, за исключением *S.aureus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Rothia*, *Kocuria*, *Micrococcus*, *Moraxella*, *Neisseria*, *Gemella*, *Haemophilus* и некоторые другие.

У пациентов, имеющих высев клинически значимых микроорганизмов среднее количество выделенных штаммов составило 5,99 штаммов в посевах. Структура среднего количества штаммов, выделенных от пациентов с различными клинически значимыми патогенами представлена на рисунке 1.

У пациентов, не имеющих высева клинически значимых патогенов среднее количество выделенных штаммов в одном посевах составило 4,80. В 41 пробе (85,4%), от пациентов, у которых были выделены клинически значимые микроорганизмы из жидкости НЛ также были выделены микроорганизмы – представители нормальной микрофлоры. В то же время у пациентов, не имеющих клинически значимых микроорганизмов в жидкости НЛ этот показатель составил 100%. Среди всех выделенных штаммов 54 (16,2%) имеют доказанное клиническое значение при МВ. Данные представители выделены в 48 пробах.

Было выделено 112 (33,6%) штаммов представителей второй группы. Данные микроор-

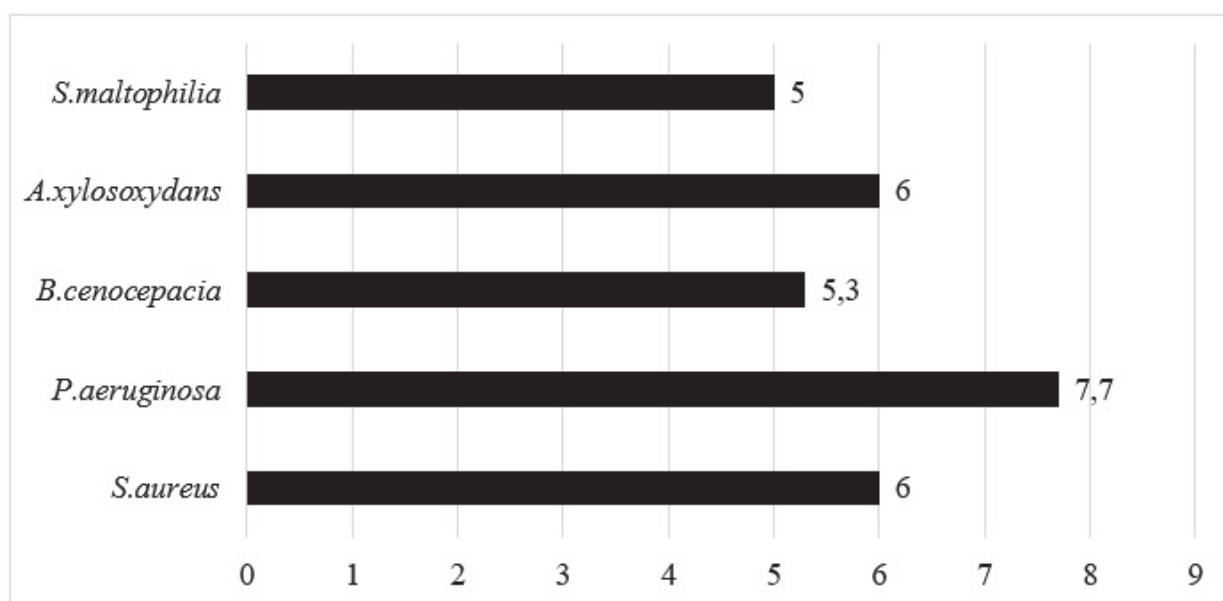


Рис. 1. Среднее количество штаммов, выделенных от пациентов с различными клинически значимыми патогенами (в штаммах)

ганизмы выделены в 43 пробах. Кроме этого, выделено 167 (50,2%) штаммов микроорганизмов – представителей нормальной микрофлоры дыхательных путей. Данные штаммы выделены в 54 пробах. У 33 пациентов (48 проб) выделены клинически значимые микроорганизмы из жидкости НЛ. Структура выделенных штаммов представлена на рисунке 2.

При этом в 42 пробах указанные возбудители были выделены в монокультуре, а в 6 пробах в виде комбинации двух штаммов.

Структура штаммов, выделенных в виде монокультур представлена на рисунке 3.

Среди комбинаций штаммов отмечались варианты, представленные на рисунке 4.

При этом в 35 (45,7%) случаях из 35 пациентов, с высевом *S.aureus* из НДП в анамнезе отмечался высев идентичного штамма из ВДП. В 19 (54,35) случаях отмечался высев *S.aureus* из НДП в анамнезе, но микроорганизм не был выделен из жидкости НЛ. В 16 (76,2%) случаях из 21, штаммы *S.aureus* выделены из ВДП и НДП. В 5 (23,8%) случаях отмечался высев штаммов *S.aureus* только в ВДП, без выделения из НДП в анамнезе. Эта категория пациентов рассматривается нами как группа риска по колонизации НДП штаммами *S.aureus* с ВДП при отсутствии своевременной санации назальных пазух.

В 8 случаях (44,4%) из 18 пациентов с высевом *P.aeruginosa* из НДП в анамнезе, отмечался

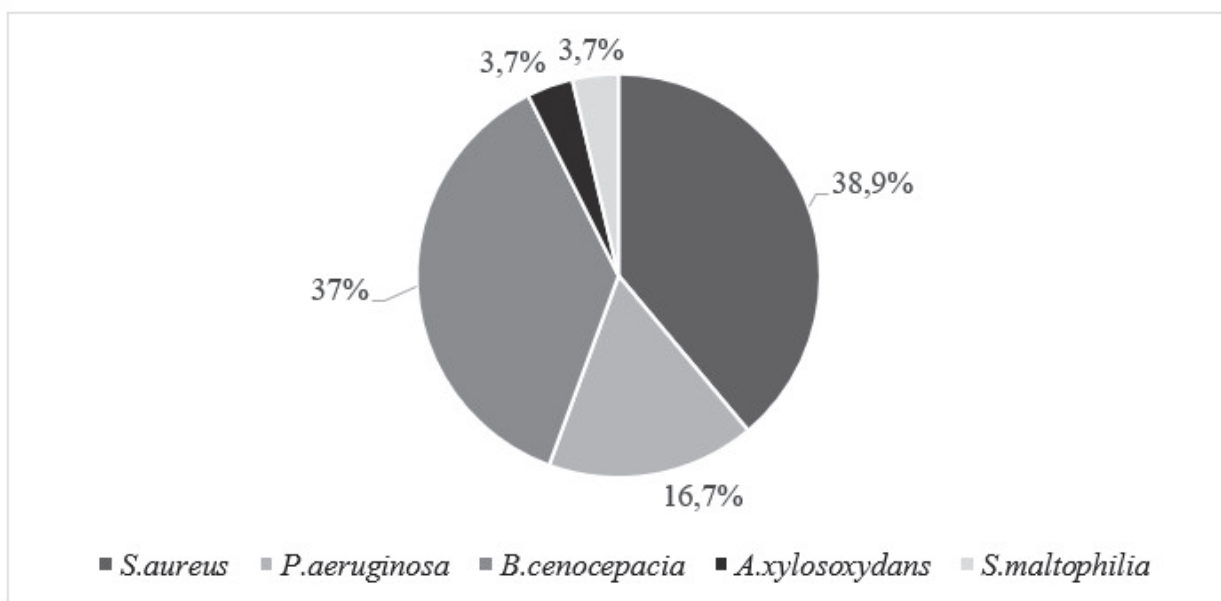


Рис. 2. Структура клинически значимых штаммов микроорганизмов, выделенных из жидкости назального лаважа (в %)

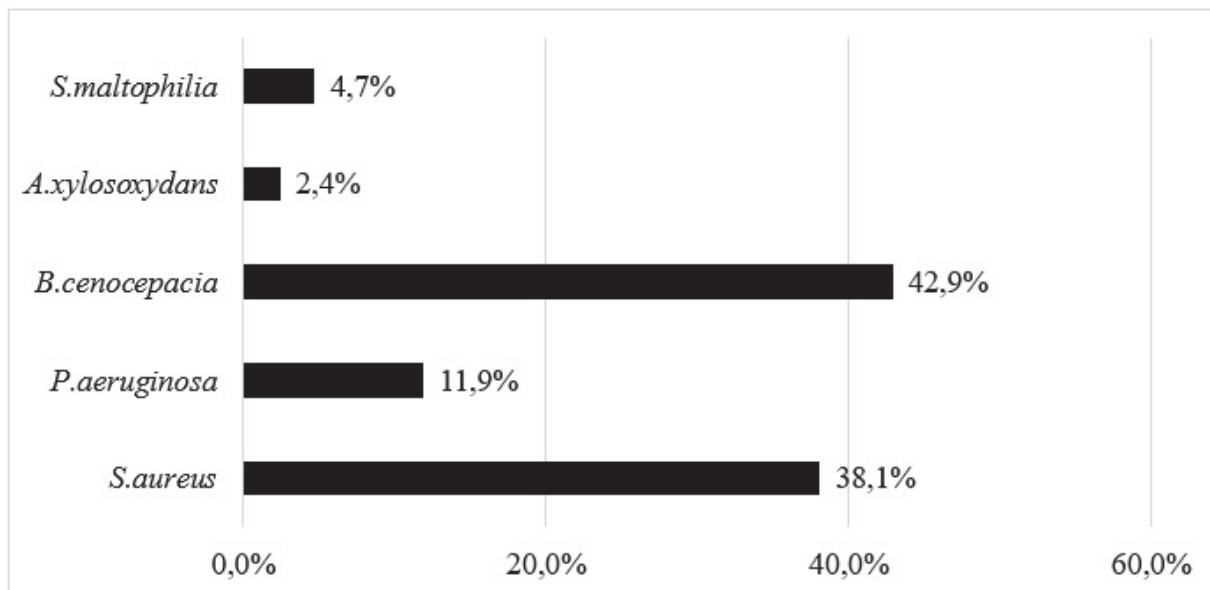


Рис. 3. Процентное соотношение проб с выделенными клинически значимыми штаммами в монокультуре (в %)

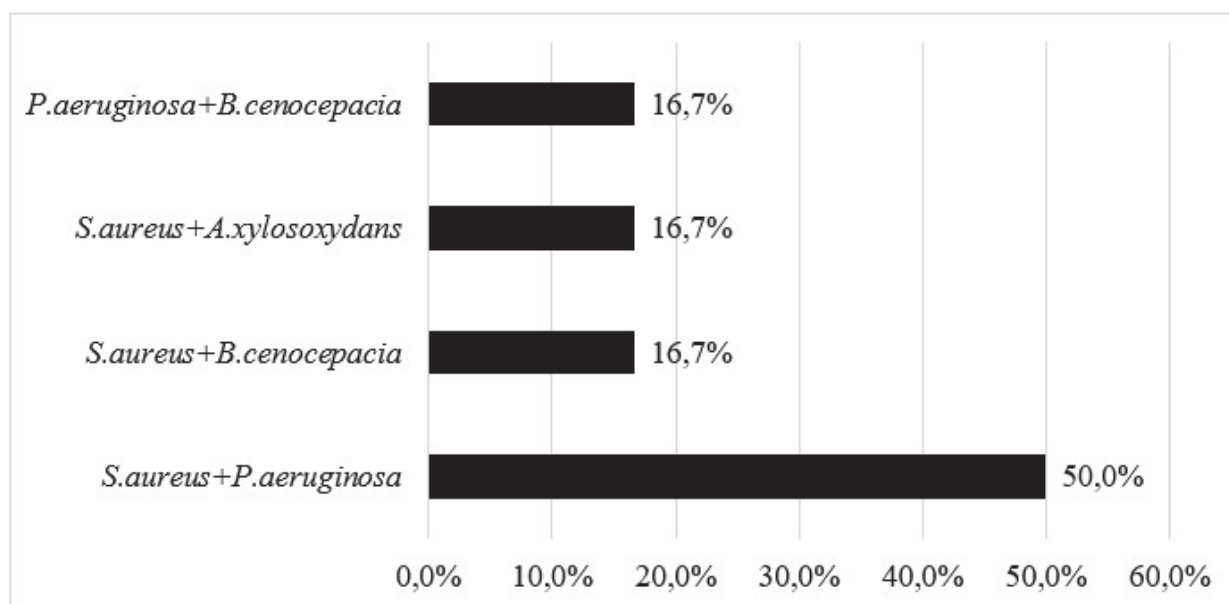


Рис. 4. Процентное соотношение комбинаций клинически значимых штаммов микроорганизмов, выделенных из жидкости назального лаважа (в %)

высевов данного возбудителя из жидкости НЛ. При этом в 10 (55,6%) случаях штамм был выделен только в НДП. В 8 (88,9%) случаях у пациентов с высевом *P.aeruginosa* из жидкости НЛ отмечался высев из ВДП в анамнезе.

У 2 (4,5%) пациентов выделены штаммы *A.xylosoxydans* из жидкости НЛ. При этом у 1 пациента (50,0%) отмечалась хроническая инфекция НДП, ассоциированная с данным возбудителем. У другого пациента отмечался только высев из жидкости НЛ без выделения штамма из мокроты в анамнезе. Этот пациент рассматривался нами как находящийся в группе риска по формированию инфекции НДП, ассоциированной с *A.xylosoxydans*.

У 2 (4,5%) пациентов выделены штаммы *S.maltophilia* из жидкости НЛ. При этом ни у одного пациента не было предшествующих положительных высевок из НДП. Данные пациенты рассматриваются нами как группа риска по колонизации НДП указанными штаммами.

В 20 (90,9%) случаях из 22 у пациентов с высевом *B.cenocepacia* из НДП в анамнезе отмечался высев из ВДП. При этом в 2 (9,1%) случаях штаммы выделены только из НДП, но не выделены из жидкости НЛ. В 20 случаях из 20 (100%) пациентов с высевом указанных штаммов из жидкости НЛ отмечался положительный высев из НДП. Нами не было выделено ни одного пациента, у кого бы возбудитель присутствовал бы в жидкости НЛ, но отсутствовал при посеве отделяемого из НДП. Таким образом, у пациентов инфицированных *B.cenocepacia* возбудитель присутствовал как в пазухах носа, так и в НДП. Это обстоятельство необходимо учитывать при назначении этиотропной терапии, т.к. применение ингаляционной антибактериальной тера-

пии с помощью небулайзера может не затрагивать популяцию бактерий в назальных пазухах, и, таким образом, препятствовать эффективной терапии и возможной эрадикации (особенно у пациентов с первым высевом возбудителя).

Таким образом, в результате проведенного исследования нами выявлено 8 пациентов, находящихся в группе риска по инфицированию штаммами, имеющими доказанное клиническое значение при МВ из ВДП.

Нами выделено 112 штаммов микроорганизмов из жидкости НЛ, клиническое значение которых при МВ не установлено до конца. При этом лидирующее положение в структуре занимали представители НФГОБ -70 (62,5%) штаммов. На втором месте по распространенности были представители семейства *Enterobacteriaceae* – 21 (18,8%) штамм, реже грибы – 14 (12,5%) штаммов, и грамположительные палочки семейства *Actinomycetales* – 7 (6,2%) штаммов.

Структурное разнообразие штаммов НФГОБ представлено на рисунке 5.

В структуре бактерий рода *Pseudomonas* были виды, представленные в таблице 1.

Видовое разнообразие бактерий рода *Acinetobacter*, выделенных из жидкости НЛ, представлено в таблице 2.

Структурное разнообразие бактерий рода *Brevundimonas*, выделенных из жидкости НЛ, представлено в таблице 3.

Кроме этого, было выделено 3 штамма бактерий рода *Chryseobacterium*, из них 2 (66,7%) штамма *C.gleum* и 1 (33,3%) штамм *C.hamamense*. Также выделено 4 штамма *Sphingobacterium* spp., из них 1 (25,0%) штамм *S.muzitaii*, 2 (50,0%) штамма *S.spiritivorum* и 1 (25,0%) штамм *S.multivorum*. Среди представителей рода *Ochrobacter* выделе-

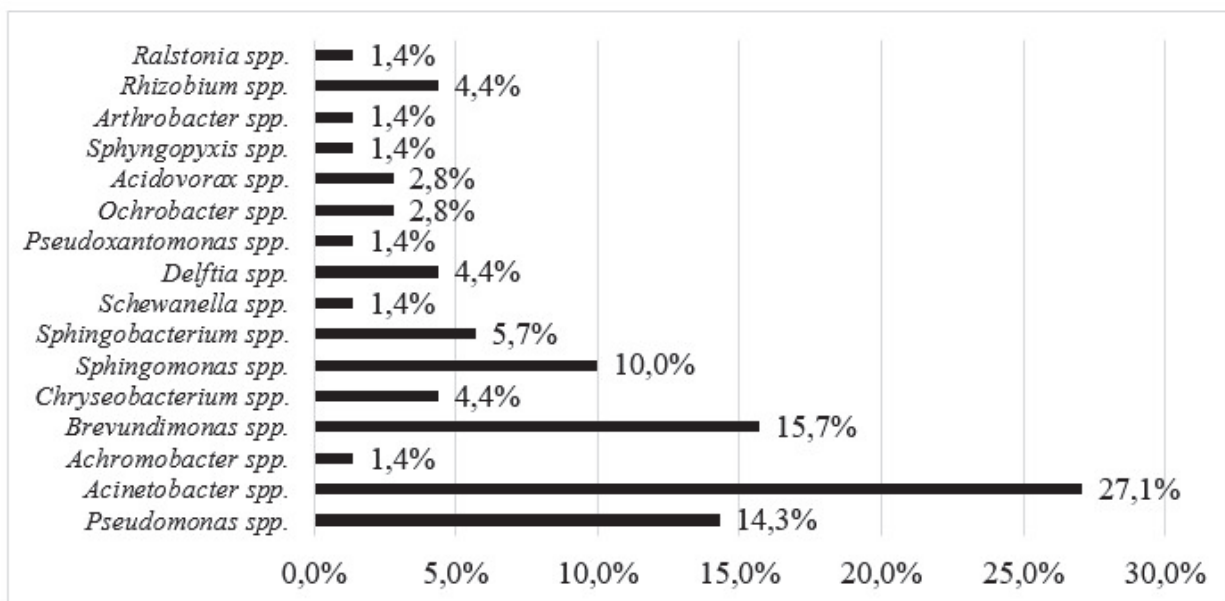


Рис. 5. Структура штаммов НФГОБ – представителей второй группы, выделенных из жидкости назального лаважа (в %)

Таблица 1. Структура бактерий рода *Pseudomonas*, выделенных из жидкости назального лаважа

№	Микроорганизм	Количество штаммов	%
1	<i>Porizihabitans</i>	2	20%
2	<i>P.marginalis</i>	1	10%
3	<i>P.balerica</i>	1	10%
4	<i>P.orientalis</i>	1	10%
5	<i>P.montelli</i>	1	10%
6	<i>P.stutzeri</i>	2	20%
7	<i>Palcaligenes</i>	2	20%

Таблица 2. Структура бактерий рода *Acinetobacter*, выделенных из жидкости назального лаважа

№	Микроорганизм	Количество штаммов	%
1	<i>A.junii</i>	7	36,8%
2	<i>A.ursungii</i>	3	15,8%
3	<i>A.johnsonii</i>	2	10,5%
4	<i>A.haemolyticus</i>	3	15,8%
5	<i>A.schindleri</i>	1	5,3%
6	<i>A.Iwoffii</i>	1	5,3%
7	<i>A.pitti</i>	2	10,5%

но 2 штамма, по одному штамму (50,0%) *O.tritici* и *O.antropi* соответственно. Кроме этого выделены по 3 штамма *D.acidovorans* и *R.radiobacter*, по 2 штамма *A.delafiensis*, *A.polychromogenes*, и по 1 штамму *S.putrificiens*, *S.paucimobilis*, *P.kaosiungensis*, *S.terra* и *R.respiraculis* соответственно. В результате исследования выделен 21 штамм энтеробактерий. Структура выделенных штаммов представлена на рисунке 6.

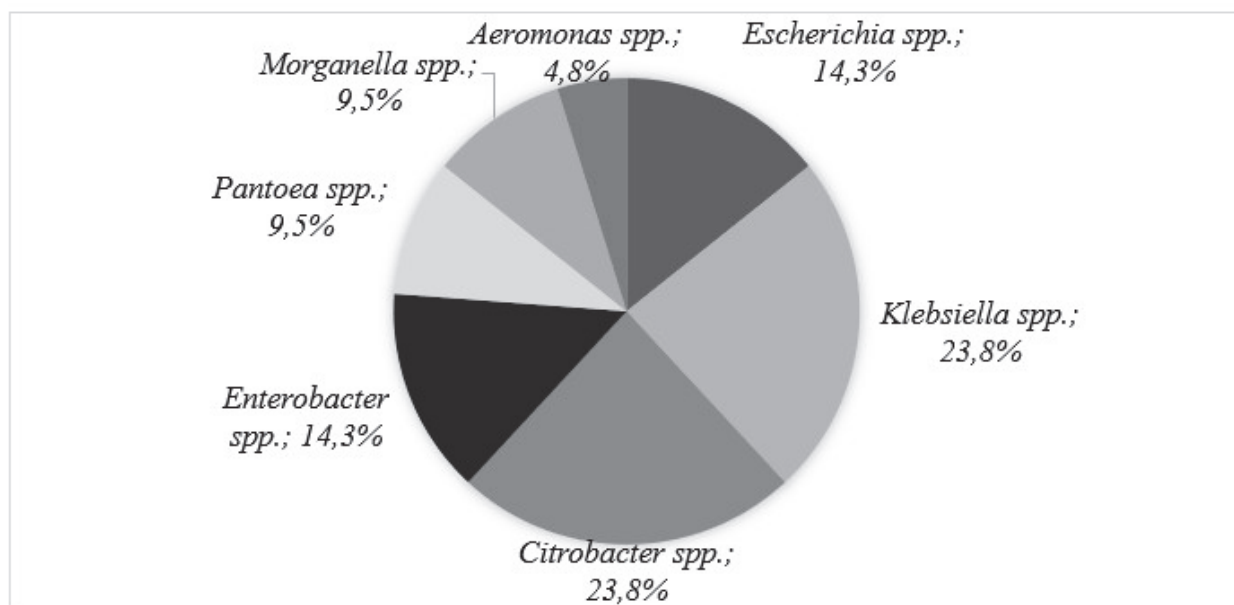
Среди 5 выделенных штаммов бактерий рода *Klebsiella* 1 (20,0%) штамм – *K.pneumoniae* и

4 (80,0%) штамма *K.oxytoca*. Среди 5 выделенных штаммов бактерий рода *Citrobacter* 3 (60,0%) штамма *C.freundii*, и по 1 (20,0%) штамму *C.koseri* и *C.braaki* соответственно.

Кроме того, выделено 3 штамма бактерий рода *Enterobacter*, среди которых 2 (66,7%) штамма *E.cloacae* и 1 (33,3%) штамм *E.kobei*. Помимо этого выделено 3 штамма *E.coli*, по 2 штамма *P.septica* и *M.morganii* соответственно, и 1 штамм *A.media*. Отдельный интерес, на наш взгляд, представляют случаи выделения штаммов – предста-

Таблица 3. Структура бактерий рода *Brevundimonas*, выделенных из жидкости назального лаважа

№	Микроорганизм	Количество штаммов	%
1	<i>B. diminuta</i>	1	9,1%
2	<i>B. aurantiaca</i>	6	54,5%
3	<i>B. casei</i> (уточнить)	3	27,3%
4	<i>Brevundimonas spp.</i>	1	9,1%

**Рис. 6.** Структура штаммов семейства *Enterobacteriaceae*, выделенных из жидкости назального лаважа (в %)

вителей семейства *Actinomycetales*, в частности родов *Mycobacterium* и *Gordonia*. Среди представителей рода *Mycobacterium* выделено 5 штаммов. Из них 3 (60,0%) штамма *M. boenikei*, и по 1 (20,0%) штамму *M. pseudoschotsii* и *Mycobacterium spp.* Все выделенные штаммы не являются патогенными и не имеют клинического значения для пациентов. Штаммы микобактерий выделены из 5 проб от 5 пациентов. Все пациенты имели высев клинически значимых микроорганизмов в мокроте в анамнезе. При этом 3 пациента имели хроническую инфекцию дыхательных путей, ассоциированную с *B. cepacia*, а один был контактный по данному возбудителю, но, несмотря на это, ни разу не имел положительных высевок указанного микроорганизма, но имеет высевы *S. maltophilia*. Еще 1 пациент имеет хроническую инфекцию дыхательных путей, ассоциированную с *P. aeruginosa*.

У 2 пациентов отмечался высев *G. rubripertincta*. При этом у обоих пациентов отмечался высев клинически значимых микроорганизмов в мокроте: у 1 пациента отмечалась хроническая инфекция дыхательных путей, ассоциированная с *B. cepacia*, а у другого с *S. aureus*. Указанные штаммы выделялись из жидкости НЛ в сочетании с НФГОБ, среди которых *P. orizihabitans*, *P. montelli*, *P. calcaligenes*, *A. ursungii*, *B. aurantiaca*, *A. delafiensii*, *S. paucimobilis*. Таким

образом, возможно, что хроническая колонизация дыхательных путей штаммами, имеющими доказанное клиническое значение при МВ, и особенно штаммами НФГОБ, коррелирует с уровнем колонизации ВДП штаммами бактерий семейства *Actinomycetales*.

Помимо этого, нами было выделено 14 штаммов грибов. Из них 10 штаммов родов *Candida*, 2 штамма *Rhodotorula* и по 1 штамму *Cryptococcus* и *Mucor* соответственно.

В структуре грибов рода *Candida* выделено 5 штаммов *C. albicans*, 3 штамма *C. dubliniensis* и по 1 штамму *C. guilliermondii* и *C. tropicalis* соответственно.

Отдельный интерес, на наш взгляд, представляют случаи выделения штаммов грибов *R. mucilaginosa*. Данные штаммы выделены от 2 пациентов, дыхательные пути которых колонизированы клинически значимыми штаммами микроорганизмов. При этом у одного пациента отмечался высев *B. cepacia* из мокроты и жидкости НЛ, а у другого *S. aureus* из жидкости НЛ и интермиттирующие высевы *P. aeruginosa* из мокроты. Штаммы *R. mucilaginosa* выделены в ассоциации со штаммами НФГОБ и энтеробактериями, при этом у 1 пациента выделено 11, а у другого 10 штаммов микроорганизмов из жидкости назального лаважа.

Среди 167 штаммов микроорганизмов, не имеющих клинического значения в патологии

легких при муковисцидозе лидирующее место занимали грамположительные кокки – 129 штаммов. Структура выделенных штаммов показана на рисунке 7.

В структуре бактерий рода *Staphylococcus* доминирующее положение занимал *S.epidermidis* – 39 штаммов, реже *S.hominis* – 8 штаммов, *S.haemolyticus* – 7 штаммов, *S.warneri* – 5 штаммов и 1 штамм *S.saprophyticus*.

Структура бактерий рода *Streptococcus* представлена в таблице 4.

Кроме этого, выделено 12 штаммов бактерий рода *Rothia*, среди которых 9 штаммов *R.mucilaginosa* и 3 штамма *R.amarae*, а также 6 штаммов бактерий рода *Kocuria*, из них 2 штамма *K.carniphila* и по 1 штамму *K.kristinae*, *K.marinae*, *K.rhizophila*, *K.palistic* соответственно. Помимо этого, выделено 12 штаммов *M.luteus*. Реже встречались грамположительные палочки – 16 штаммов. Из них 9 штаммов

Corynebacterium spp., среди которых по 2 штамма *C.pseudodiphtheriticum*, *C.aurimucosum*, *C.accolens* и по 1 штамму *C.striatum*, *C.tuberculostriatum* и *C.imitans* соответственно. Также выделено 3 штамма *Microbacterium* spp., 2 штамма *A.oris* и по 1 штамму *A.italicus* и *B.cereus*. Среди грамотрицательных и грамвариабельных кокков и коккобацилл, а также палочек, не относящихся к НФГОБ и семейству *Enterobacteriaceae* выделено 22 штамма.

Структура выделенных штаммов представлена на рисунке 8.

Среди бактерий рода *Moraxella* выделено 4 штамма *M.catarrhalis* и 2 штамма *M.osloensis*. В структуре бактерий рода *Neisseria* доминировали *N.flavescens* – 6 штаммов и *N.subflava* – 4 штамма, также выделено по 1 штамму *N.elongata* и *N.mucosa* соответственно. Было выделено по 1 штамму *G.haemolysans* и *G.sanguinis*, а также 2 штамма *H.parainfluenzae*.

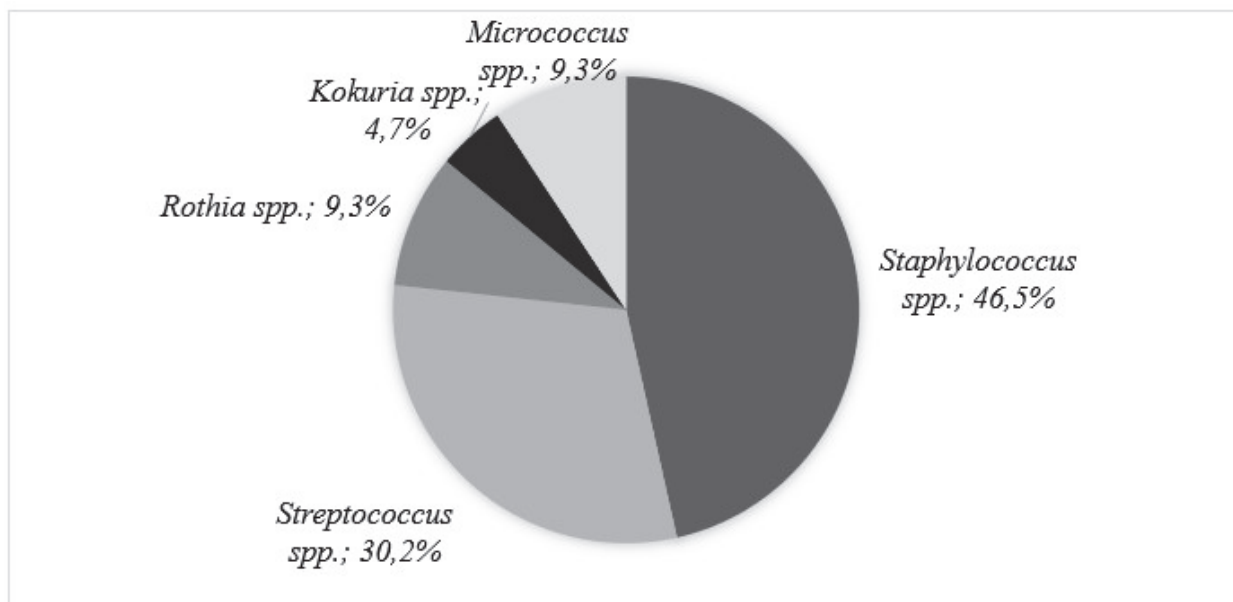


Рис. 7. Структура грамположительных бактерий – представителей нормальной микрофлоры дыхательных путей и окружающей среды, выделенных из жидкости назального лаважа (в %)

Таблица 4. Структура бактерий рода *Streptococcus*, выделенных из жидкости назального лаважа

№	Микроорганизм	Количество штаммов	%
1	<i>S.oralis</i>	8	20,5%
2	<i>S.salivarius</i>	9	23,1%
3	<i>S.sanguinis</i>	2	5,1%
4	<i>S.agalactiae</i>	2	5,1%
5	<i>S.mitis</i>	10	25,7%
6	<i>S.parasanguinis</i>	2	5,1%
7	<i>S.vestibularis</i>	2	5,1%
8	<i>S.infants</i>	1	2,6%
9	<i>E.faecium</i>	2	5,1%
10	<i>E.faecalis</i>	1	2,6%

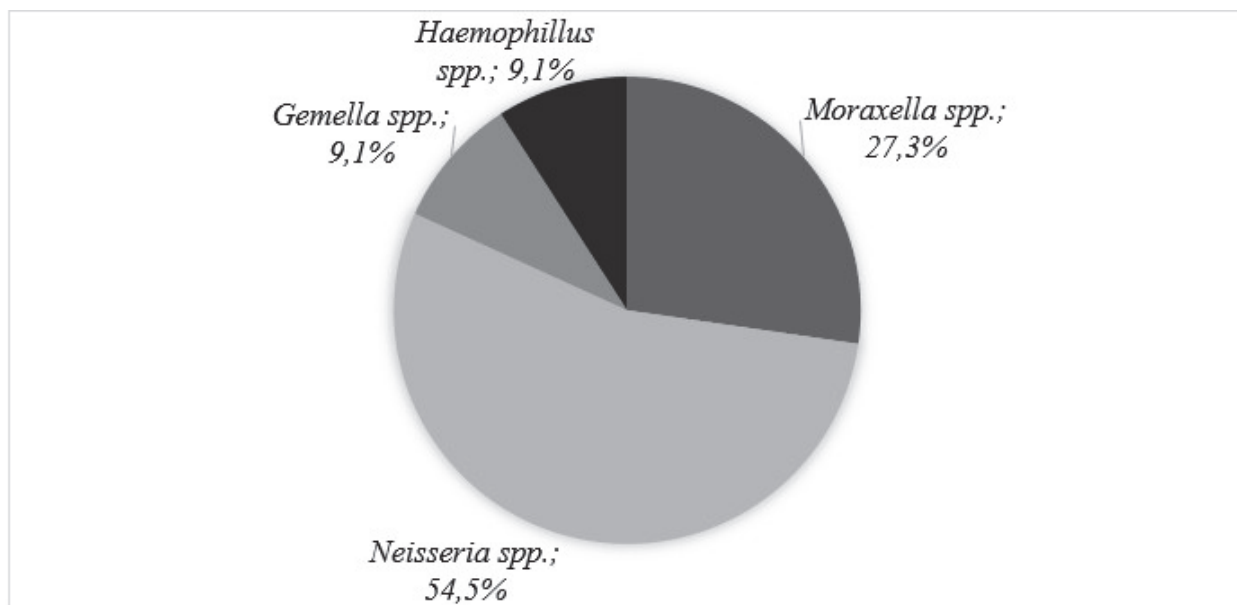


Рис. 8. Структура грамотрицательных и грамварибельных кокков и коккобацилл, а также палочек, не относящихся к НФГОБ и семейству *Enterobacteriaceae*, выделенных из жидкости назального лаважа (в %)

ВЫВОДЫ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования было показано, что структура и видовой состав микрофлоры ПС коррелирует с микрофлорой НДП у пациентов с МВ. При этом ПС могут быть зоной для адаптации агрессивных клонов бактерий и источником для инфицирования НДП. Регулярное микробиологическое исследование микрофлоры из жидкости НЛ позволяет выявить клинически значимые микроорганизмы на раннем этапе и может рассматриваться как способ ранней профилактики формирования хронической бактериальной инфекции НДП при МВ. Регулярное микробиологическое исследование микрофлоры жидкости НЛ может быть рекомендовано всем пациентам с МВ, а особенно пациентам, планирующим трансплантацию легких. Пациенты, имеющие высеv клинически значимых патогенов из жидкости НЛ должны рассматриваться как находящиеся в группе риска по формированию бактериальных осложнений легких. Учитывая вышеизложенное, проводимая антибактериальная терапия при МВ должна затрагивать не только НДП, но и ПС.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sinonasal manifestations of cystic fibrosis: a correlation between genotype and phenotype? / *Berghout M.C., van Rooden C.J., Rijntjes E. et al.* // *J. Cyst. Fibros.* 2014. 13(4): 442-8.
2. Children with cystic fibrosis: who should visit the otolaryngologist? / *Sliker M.G., Shhilder A.G., Uiterwaal C.S et al.* // *Arch. Otolaryngol. Head. Neck. Surg.* 2002. 128(11): 1245-8.
3. CT-abnormalities, bacteriology and symptoms of sinonasal disease in children with cystic fibrosis. / *Berghout M.C., Klerx-Melis F., Fokkens W.J. et al.* // *J. Cyst. Fibros.* 2016. 15: 816-824.
4. *Ramsey B., Richardson M.A.* Impact of sinusitis in cystic fibrosis. // *J. Allergy Clin. Immunol.* 1992. 90(3): 547-52.
5. *Robertson J.M., Friedman E.M., Rubin B.K.* Nasal and sinus disease in cystic fibrosis. // *Paediatr. Respir. Rev.* 2008. 9 (3): 213-4.
6. Nasal and paranasal sinus endoscopy, computered tomography and microbiology of upper airways and the correlations with genotype and severity of cystic fibrosis. / *Sakano E., Ribeiro A.F., Barth L et al.* // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 2007. 72(1):41-50.
7. Bacteriology of the maxillary sinuses in patients with cystic fibrosis. / *Shapiro E.D., Milmo G.J., Wald E.R. et al.* // *J. Infect. Dis.* 1982. 146 (5): 589-95.
8. Upper and lower airway cultures in children with cystic fibrosis: do not neglect the upper airways. / *Bonestroo H.J., Winter-de-Groot K.M., van der Ent C.K. et al.* // *J. Cyst.Fibrosis.* 2010. 9(2): 130-4.
9. Concordant genotype of upper and lower airways *P.aeruginosa* and *S.aureus* isolates in cystic fibrosis. / *Mainz J.G., Naehrlich L., Schien M et al.* // *Thorax.* 2009. 64(6): 535-40.
10. Sinonasal persistence of *P.aeruginosa* after lung transplantation. / *Mainz J.G., Hentschel J., Schien C. et al.* // *J. Cyst. Fibrosis.* // 2012. 11(2): 158-61.
11. *Dosanjh A.* The microbiology of the cystic fibrosis upper and lower airway. Letter to the editor. // *J. Cyst. Fibrosis.* 2015(14): e35.
12. *Pseudomonas aeruginosa* and other predictors of mortality and morbidity in young children with cystic fibrosis. / *Emerson J., Rosenfield M., McNamara S. et al.* // *Pediatr. Pulmonol.* 2002. 34(2): 91-100.
13. Acceleration of lung disease in children with cystic fibrosis after *Pseudomonas aeruginosa* acquisition. / *Bosorok M.R., Zeng L., West S.E. et al.* // *Pediatr. Pulmonol.* 2001. 32(4): 277-87.
14. Importance of bacteriology in upper airways of

- patients with cystic fibrosis./Berkhout M.C., Rijntjes E., el Bouazzaoui et al.// J. Cyst. Fibrosis. 2013(12): 525-529.
15. Evolution and diversification of *Pseudomonas aeruginosa* in paranasal sinuses of cystic fibrosis children have implications for chronic lung infection./Hansen S.K., Rau M.H., Johansen H.K. et al. //ISME J. 2012. 6(1): 31-45.
16. Microbiology of middle meatus in chronic rhinosinusitis./ Araujo E., Palombini B.C., Cantarelli V. et al.// Am. J. Rhinol. 2003. 17(1): 9-15.
17. Paranasal sinus pathogens in cystic fibrosis: Do they relate to lower respiratory tract pathogens and is eradication successful?/ Wilson P., Lambert C., Carr S.B. et al.// J.Cyst. fibrosis. 2014. 13(4): 449-454.
18. Кондратенко О.В., Лямин А.В., Ермолаева А.В., Медведева Е.Д. Способ сбора и первичного посева жидкости назального лаважа от пациентов с муковисцидозом для микробиологического исследования: Пат. 2659155 (РФ). 2018.

MONITORING OF THE MICROFLORA OF THE PARANASAL SINUSES AS A METHOD OF EARLY PREVENTION OF COLONIZATION OF THE LOWER RESPIRATORY TRACT OF CLINICALLY SIGNIFICANT STRAINS OF MICROORGANISMS IN PATIENTS WITH CYSTIC FIBROSIS

© 2018 O.V. Kondratenko¹, A.V.Zhestkov¹, E.D. Medvedeva¹, A.V. Ermolaeva¹, E.A. Vasileva²

¹ Samara State Medical University

² Samara Regional Children's Clinical Hospital

Numerous works of foreign authors show the relationship between microorganisms that colonize the upper and lower respiratory tract in patients with cystic fibrosis. However, no such studies have been conducted in the Russian Federation. The article presents the results of the evaluation of the species composition of microorganisms isolated from parallel cultures of nasal lavage fluid and lower respiratory tract of patients with cystic fibrosis. The aim of the study was to determine the qualitative and quantitative species composition of the nasal lavage fluid microflora and to assess the correlation of microorganisms isolated from the paranasal sinuses and lower respiratory tract. The material for the study was 61 nasal wash samples obtained from 44 patients with cystic fibrosis of the Samara region. Collection and sowing of primary material for culture media was carried out in accordance with the patent of the Russian Federation "method of collection and primary sowing of nasal lavage fluid from patients with cystic fibrosis for microbiological examination". Identification of the isolated strains was performed using MALDI-TOF - mass spectrometry. As a result of the study, 333 strains of microorganisms were isolated. Of these, 54 strains isolated from 33 patients have proven clinical value in cystic fibrosis. The structure of clinically significant strains included such representatives as *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cenocepacia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Achromobacter xylosoxydans*. Analysis of the results showed that the structure of bacterial pathogens isolated from nasal lavage correlates with the composition of the microflora of the lower respiratory tract. The study revealed 8 patients at risk for infection with strains of proven clinical significance in cystic fibrosis from the upper respiratory tract. Thus, paranasal sinuses can be a source of lower respiratory tract infection in patients with cystic fibrosis. Regular microbiological examination of the microflora from nasal lavage fluid allows to identify clinically significant microorganisms at an early stage and can be considered as a way of early prevention of the formation of chronic bacterial infection of the lower respiratory tract in cystic fibrosis. **Keywords:** cystic fibrosis, non-fermenting gram-negative bacteria, paranasal sinuses, lower respiratory tract, nasal lavage.

Olga Kondratenko, Candidate of Science Medicine, Associate Professor of the Department of General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology. E-mail: helga1983@yandex.ru

Alexander Zhestkov, Professor, Head of the Department of General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology. E-mail: avzhestkov2015@yandex.ru

Ekaterina Medvedeva, Student.

E-mail: katemed96@gmail.com

Anastasia Ermolaeva, Student.

E-mail: ermolaeva95@mail.ru

Elena Vasileva, Medical Doctor, Head of the Samara Regional Center for the Treatment of Cystic Fibrosis.

E-mail: vasileva@rcf.ru