

МИКРОБИОЛОГИЯ

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.98:579.873.21-06-078

Лямин А.В., Исмагуллин Д.Д., Жестков А.В., Кондратенко О.В.

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА МИКОБАКТЕРИОЗОВ У ПАЦИЕНТОВ С МУКОВИСЦИДОЗОМ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 443099, Самара, Россия

*Микобактериозы, как группа заболеваний, обусловленных нетуберкулёзными микобактериями, приобретают всё большее значение для пациентов из различных групп риска. Пациенты с муковисцидозом, наряду с больными другими генетическими заболеваниями, входят в группу риска по инфицированию нетуберкулёзными микобактериями. Диагностика микобактериозов у пациентов с муковисцидозом имеет ряд особенностей как на этапе работы с клиническим материалом, так и на этапе идентификации выделенных микроорганизмов. В обзоре представлены современные данные о возможностях лабораторной диагностики микобактериозов с учётом особенностей эпидемиологии, факторов риска, проведения скрининга инфицированности, деkontаминации материала, методов культивирования и идентификации нетуберкулёзных микобактерий у пациентов с муковисцидозом. Приведены данные о росте заболеваемости микобактериозами до 6–13% среди пациентов с муковисцидозом в развитых странах. Показан низкий уровень распространённости микобактериозов среди пациентов с муковисцидозом в Российской Федерации. Описаны факторы риска развития микобактериозов с точки зрения инфицирования различными микроорганизмами, в частности грибами рода *Aspergillus*. Описаны методика двухэтапной деkontаминации мокроты и возможные ограничения по культивированию её в автоматических системах, возможности использования для деkontаминации 1% раствора хлоргексидина и натрия додецилсульфата. Помимо стандартных методик, приводится методика выделения микобактерий, основанная на посеве материала на среды для селективного выделения *Burkholderia cepacia complex*. Описаны возможности идентификации микобактерий с помощью MALDI-ToF масс-спектрометрии. При подготовке обзора использовались источники из международных и отечественных баз данных: Scopus, Web of Science, РИНЦ.*

Ключевые слова: микобактериоз; нетуберкулёзные микобактерии; муковисцидоз; обзор литературы.

Для цитирования: Лямин А.В., Исмагуллин Д.Д., Жестков А.В., Кондратенко О.В. Лабораторная диагностика микобактериозов у пациентов с муковисцидозом. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63 (5): 315-320. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-5-315-320>

Lyamin A.V., Ismatullin D.D., Zhestkov A.V., Kondratenko O.V.

THE LABORATORY DIAGNOSTIC IN PATIENTS WITH MUCOVISCIDOSIS: A REVIEW

The Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "The Samara State Medical University" of Minzdrav of Russia, 443099, Samara, Russia

The mycobacterioses as a group of diseases conditioned by non-tuberculosis mycobacteria, acquire even greater significance for patients from various risk groups. The patients with cystic fibrosis along with patients with other genetic diseases, consist risk group of infection with non-tuberculosis mycobacteria.

*The diagnostic of mycobacterioses in patients with cystic fibrosis has a number of peculiarities both at the stage of processing clinical material and the stage of identification of separated microorganisms. The review presents modern data about possibilities of laboratory diagnostic of with regard to characteristics of epidemiology, risk factors, contamination screening, material decontamination, methods of cultivation and identification of non-tuberculosis mycobacteria in patients with cystic fibrosis. The data is presented concerning increasing of morbidity of mycobacterioses up to 6-13% among patients with cystic fibrosis in developed countries. The low level of prevalence of mycobacterioses among patients with cystic fibrosis in the Russian Federation is demonstrated. The risk factors of development of mycobacterioses from point of view of contamination with various microorganisms, particularly with fungi of species *Aspergillus* are described. The technique of two-stage decontamination of phlegm and possible limitations of its cultivation in automated systems and possibilities of using 1% solution of chlorhexidine and sodium dodecyl sulfate for decontamination are described. Besides standard techniques, a technique of separation of mycobacteria is presented based on inoculation of material on medium for selective separation of *Burkholderia cepacia complex*. The possibilities of identification of mycobacteria using MALDI-ToF mass-spectrometry. The review was based on sources from such international and national data bases as Scopus, Web of Science, RINC.*

Key words: mycobacterioses; non-tuberculosis mycobacteria; cystic fibrosis; review.

For citation: Liamin A.V., Ismatullin D.D., Zhestkov A.V., Kondratenko O.V. The laboratory diagnostic in patients with mucoviscidosis: A review. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2018; 63(5): 315-320. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-5-315-320>

Для корреспонденции: Лямин Артём Викторович, канд. мед. наук, доц. каф. общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии; e-mail: avlyamin@rambler.ru

For correspondence: *Liamin A.V.*, candidate of medical sciences, associate professor of the chair of General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology of the Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "The Samara State Medical University", e-mail: avlyamin@rambler.ru

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support*

Received 09.01.2018
Accepted 16.01.2018

Актуальность. Муковисцидоз (МВ) – одно из самых распространённых генетических заболеваний, характеризующихся полиорганной дисфункцией в результате нарушения работы экзокринных желез. Часто при МВ патологический процесс реализуется в бронхолёгочной системе, в органах желудочно-кишечного тракта и гепатобилиарной системе; у мужчин возможно поражение урогенитальной системы [1].

По данным регистра 2015 г. в РФ имеются данные о 2916 пациентах с МВ, но реальное число больных может быть больше [2]. Особенностью патогенетических изменений в бронхолёгочной системе при МВ является развитие хронической колонизации, а в дальнейшем и инфекции, вызванной различной микрофлорой. Если в начале жизни ребёнка с МВ колонизация бронхолёгочной системы происходит в первую очередь грамположительной кокковой микрофлорой, то в дальнейшем на первое место выходят грамотрицательные неферментирующие бактерии, которые вызывают тяжёлые хронические формы инфекции. В связи со значительными изменениями в возрастных группах пациентов с МВ во всем мире и на территории РФ, в частности, отмечается тенденция к увеличению количества пациентов старше 18 лет [2, 3]. Возрастает риск колонизации и последующего инфицирования пациентов нетипичной для МВ микрофлорой, к которой можно отнести и нетуберкулёзные микобактерии (НТМ). Эта неоднородная группа представителей семейства *Actinomycetales* вызывает заболевания, получившие единое название – микобактериозы. НТМ – широко распространённые в окружающей среде микроорганизмы, насчитывающие более 200 видов. Около 50 из них являются этиологическими факторами в развитии микобактериозов, для остальных видов НТМ доказательств участия в патологическом процессе недостаточно, они могут быть комменсалами на слизистых оболочках верхних дыхательных путей. НТМ могут стать причиной развития хронической лёгочной инфекции у некоторых групп пациентов с различными воспалительными и структурными изменениями в лёгких: пациенты с туберкулёзом лёгких и с остаточными явлениями после перенесённого заболевания, больные пневмокониозами и хронической обструктивной болезнью лёгких, бронхиальной астмой, саркоидозом, бронхоэктазами [4]. Отдельной группой являются пациенты с иммунодефицитами различной этиологии, у которых микобактериозы могут приобретать генерализованное течение, часто ведущее к летальному исходу [5].

Пациенты с МВ, наряду с большим другими генетически заболеваниями, входят в группу риска по инфицированию НТМ [5, 6]. Это связано с особенностями патогенеза МВ и с общим увеличением количества пациентов с микобактериозами. На этапе модернизации медицины отсутствуют отечественные стандарты диагностики и терапии микобактериозов у пациентов с МВ. С учётом особенностей микрофлоры, наиболее часто вызывающей хроническую инфекцию лёгких у данной группы пациентов, колонизация или инфекция, вызванная НТМ у пациентов с МВ, может иметь потенциальную опасность, вести к прогрессирующему поражению лёгких и оказывать существенное влияние на течение основного заболевания [6].

Эпидемиология микобактериозов у пациентов с МВ. Пациенты с МВ представляют группу, которая имеет довольно

высокие риски заражения НТМ. Данный факт требует разработки особой тактики ведения, диагностики, профилактики инфицирования пациентов с МВ, у которых развился микобактериоз.

Заболеемость микобактериозами у пациентов с МВ в развитых странах в конце XX века составляла примерно 1 на 100 тыс. [7], в последнее время появляется всё больше публикаций, в которых указывается рост выделения НТМ у пациентов с МВ от 6 до 13% [8, 9].

Распространённость НТМ среди пациентов с МВ в США увеличилась с 1,3%, по результатам исследований, проведённых в 1984 г. [10] до 32% по данным исследований 2005 г. [11]. Если учитывать общую заболеваемость по стране, то по данным регистра Американского фонда МВ распространённость НТМ у пациентов с МВ в среднем составляет 12%, если учитывать показатели заболеваемости в отдельно взятых штатах, то показатели варьируют от 0 до 32%.

При оценке распространённости микобактериозов у пациентов с МВ необходимо учитывать данные в центрах МВ из разных стран, которые могут кардинально различаться между собой. Существует чёткая корреляция по данным крупных исследований, распространённость НТМ в большинстве стран варьирует примерно от 6 до 13% [8–13]. Неизвестно, с чем связано увеличение заболеваемости микобактериозами у пациентов с МВ. Возможно, это обусловлено совершенствованием методов лабораторной диагностики, нельзя исключить и реального роста заболеваемости среди пациентов с МВ.

В РФ по данным регистра пациентов с МВ 2015 г. зарегистрировано 0,9% пациентов с микобактериозами (0,8% у пациентов детского возраста, 1,3% у взрослых пациентов) [2], что значительно меньше, чем в европейских странах и США и, возможно, не отражает истинной картины по распространению НТМ среди пациентов.

В Северной Америке, Европе у пациентов с МВ наиболее часто выделяются культуры, относящиеся к группе медленно растущих микобактерий, а именно представители *Mycobacterium avium complex* (MAC). Эта же группа НТМ чаще всего вызывает бронхолёгочную патологию у пациентов, принадлежащих к различным группам риска, хорошо выделяется и идентифицируется в лабораториях противотуберкулёзной службы. При анализе распространённости НТМ у пациентов с МВ MAC выделялись примерно в 72% случаев [8]. Среди быстрорастущих видов стоит отметить, что во многих профильных центрах имеется высокая доля выявления видов – *M. abscessus complex* (MABSC). Процент выделения MABSC из мокроты у пациентов с МВ колеблется в пределах 16–68% и данный показатель растёт с каждым годом [8, 12, 14, 15].

С чем связан значительный рост выделения представителей быстрорастущих НТМ у пациентов с МВ, в настоящий момент неизвестно. Возможно, имеется связь между увеличением показателей распространённости НТМ с определённым географическим положением и особенностями климата в конкретных регионах, о чём свидетельствуют данные учёных из Европы и Израиля. В Европе наиболее распространёнными считаются представители MABSC, в Израиле чаще всего выделяют *M. simiae* и MABSC [16, 17]. Выделение не-

которых быстрорастущих НТМ в лабораториях противотуберкулёзной службы не всегда является эффективным, что может быть обусловлено снижением кислотоустойчивости некоторых из них, как следствие происходит гибель таких штаммов во время классических методов деконтаминации клинического материала. С другой стороны, рост некоторых быстрорастущих НТМ на жидких средах может появляться на 2–3-и сутки, полученный результат расценивается как контаминация сопутствующей микрофлорой.

Значительные различия в распределении медленно и быстрорастущих НТМ могут быть связаны с тем, что исследования проводятся в разных возрастных категориях пациентов с МВ. МАС чаще всего выделяют у пациентов старших возрастных групп и у пожилых пациентов с более лёгкими формами МВ, тогда как МАВРС выделяют в более молодом возрасте, с более тяжёлыми формами заболевания, обострение которого требует частых внутривенных введений лекарственных препаратов [15, 18, 19]. У детей до 10 лет НТМ встречаются в 10% случаев, у пациентов старше 40 лет НТМ колонизируют дыхательные пути в 30% и более [11]. Помимо вышеупомянутых МАС и МАВРС из клинического материала пациентов с МВ выделяют среди медленно растущих *M. Kansassii* и *M. simiae*, а среди быстрорастущих – *M. fortuitum*.

В России стали появляться публикации о распространении НТМ среди пациентов, наблюдаемых в учреждениях противотуберкулёзной службы, однако пока отсутствуют статистические показатели распространённости НТМ у пациентов с МВ [20]. В большей степени это связано с отсутствием клинических рекомендаций и методических указаний по методам культивирования и идентификации НТМ у пациентов с МВ.

Факторы риска. Наличие МВ является одним из факторов риска, которые приводятся в рекомендациях по диагностике и лечению микобактериозов. В настоящее время отсутствуют чётко сформированные взгляды и доказательства участия конкретных факторов риска, которые можно было бы напрямую связать с заболеваемостью микобактериозами у пациентов с МВ. В большинстве исследований, проведённых в различных странах, приводятся довольно противоречивые данные, но, безусловно, все авторы сходятся во мнении, что распространённость НТМ среди больных с МВ имеет тенденцию к увеличению.

Это может быть связано с увеличением возрастных показателей пациентов – продолжительность жизни увеличилась примерно с 7 до 40 лет [8, 12, 21]. Также это связано с наличием у пациента изменений в лёгких различной этиологии, доказательством чего является увеличение вероятности обнаружения НТМ в образцах мокроты, по результатам лабораторных исследований она достигает 19,7% [22]. Снижение мукоцилиарного клиренса и воспаление дыхательных путей могут способствовать развитию и прогрессированию хронической инфекции, вызванной НТМ. Существует высокий уровень заболеваемости микобактериозами среди пациентов с неклассическими формами МВ, обусловленными «мягкими» мутациями (в D1152H, R75Q, и 5T аллели), которые довольно часто связаны с выделением НТМ из мокроты [23].

Не стоит исключать увеличение распространённости выделения НТМ у пациентов в результате инфицирования некоторыми представителями грамотрицательной микрофлоры. Данные, касающиеся этого вопроса, часто носят противоречивый характер. Инфекции лёгких, вызванные *Paeruginosa*, могут вести как к уменьшению, так и к увеличению распространённости НТМ у пациентов [8, 24]. Такое несоответствие результатов может быть обусловлено малым размером выборки пациентов, различиями в методиках, которые использовались при проведении исследований. Данный

факт необходимо подвергнуть более тщательному анализу в связи с увеличением видового разнообразия грамотрицательной микрофлоры, которая выделяется от пациентов с МВ, отсутствием данных об антагонистическом или синергидном воздействии её на НТМ, наиболее часто встречающиеся у пациентов.

Выделение НТМ из мокроты пациентов с МВ не всегда является критерием постановки диагноза микобактериоз. В отличие от инфекций, вызванных *Paeruginosa*, наличие *Aspergillus fumigatus* в мокроте у пациентов с МВ, особенно при условии развития бронхолёгочного аспергиллёза, напрямую связано с увеличением частоты выделения НТМ [24, 25]. Эта корреляция может быть обусловлена рядом факторов, среди которых наиболее значимым является проводимая терапия при поражении лёгких, вызванном *Aspergillus spp.* Существуют прямые доказательства влияния терапии системными глюкокортикостероидами на повышение заболеваемости микобактериозами пациентов без МВ, что, возможно, влияет и на риск развития микобактериозов у пациентов с МВ при лечении бронхолёгочного аспергиллёза [25–27].

Фактором риска в развитии микобактериозов у пациентов с МВ является применение длительных курсов антибиотикотерапии препаратами с противовоспалительным действием, которые, как правило, назначаются в дозах ниже терапевтических. Долговременное использование таких средств может вести к росту риска формирования на этом фоне не только колонизации лёгких НТМ, но и к развитию резистентности у них к макролидным антибиотикам, что подтверждается в исследованиях по применению азитромицина у пациентов с МВ [18, 28].

Проведены лабораторные исследования, доказывающие, что азитромицин является блокатором процессов аутофагии НТМ, которые проходят внутри макрофагов. Применение этого препарата может влиять на увеличение распространённости НТМ. Опубликованы исследования, в которых выдвигаются предположения о защитных эффектах пролонгированного применения азитромицина [29].

Важным фактором риска в отношении распространения НТМ среди пациентов с МВ можно считать вероятность инфицирования ими в стационаре. Считается, что инфицирование НТМ напрямую от пациента к пациенту является маловероятным событием. В настоящее время появляется все больше научных исследований, результаты которых позволяют предполагать, что вероятность перекрестной передачи НТМ довольно высока. Примером, свидетельствующим о таком пути передачи, является вспышка, зафиксированная в одной из больниц США: у пяти пациентов, находившихся в одной клинике, обнаружены идентичные штаммы *M. abscessus massiliense*. Нельзя исключать рост подобных случаев и в других регионах [4].

Скрининговые исследования. Несмотря на доказанное клиническое значение и роль НТМ как этиологического фактора воспаления у пациентов с МВ, до сих пор остаётся открытым вопрос о целесообразности скрининговых исследований у этих пациентов на НТМ. Необходимо провести чёткую границу между скрининговыми исследованиями и лабораторной диагностикой для подтверждения диагноза. В понятие скрининг входит отбор и исследование материала у пациентов с МВ в случае полного отсутствия клинических и рентгенологических проявлений микобактериоза. Для подтверждения диагноза микобактериоз Американским торакальным обществом установлена совокупность нескольких факторов, оказывающих влияние на верификацию диагноза, а именно получение трёх утренних образцов, собранных в разные дни с интервалом около недели, что обеспечивает снижение контаминации клинического материала НТМ из окружающей среды [30].

Основной причиной введения такого подхода к диагностике микобактериозов явились результаты проведённого в Японии исследования, в котором получены данные о диагностической значимости выделения НТМ одного вида не менее чем в двух образцах мокроты. В случае использования в качестве исследуемого материала бронхоальвеолярного лаважа для верификации диагноза достаточно однократного выделения микобактерий [31, 32]. Такие же критерии используются для верификации диагноза микобактериоз у пациентов без МВ.

Отсутствуют однозначные данные о целесообразности проведения скрининга у всех пациентов или выделения определённых групп среди пациентов с МВ. Не установлены границы оптимальной регулярности и критерии качества таких исследований, что является важным фактом, если принимать во внимание повсеместное распространение НТМ и их роль в качестве транзитной микрофлоры, контаминирующей верхние дыхательные пути. Частое исследование на них может вести к увеличению ложноположительных результатов. Большинство авторов сходятся во мнении, что пациенты с патологией бронхолёгочной системы в терминальной стадии подвержены более частому риску инфицирования НТМ, поэтому у них скрининговые исследования необходимо проводить чаще. Для остальных пациентов с МВ достаточно одного исследования в год [4, 18].

Существует и ряд вопросов о том, какой биоматериал целесообразно использовать для скрининга НТМ. Американским фондом муковисцидоза (CFF) и Европейским обществом по муковисцидозу (ECFS) принято, что в качестве материала для анализа распространения НТМ нужно использовать индуцированную или свободно отделяемую мокроту. Возможно использование бронхиальных смывов, микроскопия которых позволяет определить бактериальную нагрузку для оценки эффективности проводимой деконтаминации. Нежелательно использование мазков из орофарингеальной зоны, что обусловлено возможной контаминацией верхних дыхательных путей НТМ из окружающей среды и получение ложноположительных результатов [33].

Деконтаминация материала. Стандартные методики посева при исследовании на микобактерии нестерильного клинического материала требуют обязательной его деконтаминации, основной целью которой является удаление из пробы быстрорастущей кислотоустойчивой микрофлоры, которая в случае активного роста затрудняет выделение и идентификацию НТМ.

В соответствии со стандартными протоколами деконтаминации и разжижения мокроты, определёнными Приказом Минздрава России от 21 марта 2003 г. № 109 «О совершенствовании противотуберкулёзных мероприятий в Российской Федерации», широко проводятся процедуры с использованием N-ацетил-L-цистеина (NALC) и гидроксида натрия (NaOH). NALC (0,5%) используется в качестве муколитика для быстрого и качественного разжижения мокроты, NaOH (2%) – как деконтаминирующее средство. Вследствие низких концентраций данных веществ они практически не оказывают ингибирующего действия на микобактерии и способствуют улучшению их культивирования на питательных средах. Данные методы являются дорогостоящими и более трудоёмкими по сравнению со стандартными методами обработки.

Материал от пациентов с МВ на микобактерии должен исследоваться по отдельному алгоритму, отличному от стандартных схем работы с материалом для выделения микобактерий. После первого этапа процедуры деконтаминации необходимо проводить микроскопическое исследование материала. На основании результатов микроскопического исследования можно сделать заключение о наличии или отсутствии в препарате кислотоустойчивых бактерий,

оценить эффективность деконтаминации в отношении неферментирующих грамотрицательных бактерий и грибов. Второй этап проводится в случае крайне высокой степени загрязнения клинического материала грамотрицательными бактериями, в дополнение к стандартным методикам его необходимо обработать раствором 5% щавелевой кислоты. Только после проведения качественной деконтаминации материал от пациентов с МВ можно брать в дальнейшую работу и проводить посев [34]. Это необходимо учитывать при посеве клинического материала от пациентов с МВ в профильных лабораториях противотуберкулёзной службы, в которых на сегодняшний день преимущественно проводятся исследования на НТМ.

Приведённые выше схемы деконтаминации прописаны и в рекомендациях Американского фонда муковисцидоза (CFF) и Европейского общества по муковисцидозу (ECFS). В некоторых лабораториях в качестве вещества для предварительной обработки клинических образцов может применяться натрий додецилсульфат (лаурит). Этот деконтаминант не подходит для работы с автоматизированными системами обнаружения роста микобактерий, поскольку это приводит к ухудшению культивирования микобактерий и задержке показателя среднего времени обнаружения роста [35].

Предварительную обработку мокроты от пациентов с МВ в большинстве лабораторий всё чаще проводят 1% раствором хлоргексидина. При его применении выделение НТМ увеличивается в 2 раза. Особенно это важно, если учесть, что культивирование НТМ затруднено в связи с присутствием в мокроте *Pseudomonas aeruginosa* и других грамотрицательных неферментирующих микроорганизмов, наличие которых в респираторном тракте наблюдается более чем у 80% пациентов с МВ. Хлоргексидин может негативно влиять на процессы культивирования в жидких автоматических системах. В этом случае необходимо нейтрализовать его лецитином [34].

Культивирование и идентификация НТМ. В Российской Федерации общепринятым для культивирования как туберкулёзных, так и нетуберкулёзных микобактерий в лабораториях противотуберкулёзной службы является комплекс из трёх сред: Левенштейна–Йенсена, Финн-П и жидких сред для автоматизированных комплексов, которые используются для культивирования посевов клинического материала. Чаще всего в качестве жидкой среды используется среда Миддлбрука в соответствии со стандартными протоколами Приказа Минздрава РФ № 109 от 21 марта 2003 г.

Использование таких сред является приоритетным в связи с основной целью работы противотуберкулёзной службы по выявлению инфицированности микобактериями туберкулёзного комплекса. Культивирование посевов проводится при температуре 37°C. Такие методы не могут быть однозначно экстраполированы и использоваться без дополнений при выделении НТМ. Особенно это касается выделения быстрорастущих НТМ, которые при активном росте могут быть расценены как контаминанты материала сапрофитной микрофлоры. А если учесть, что многие из быстрорастущих НТМ являются слабо кислотоустойчивыми, их можно не выявить при контрольной микроскопии таких проб с использованием окраски по методу Циля–Нильсена. Некоторые из НТМ для роста в искусственных условиях требуют температурных режимов, отличных от 37°C, – в диапазоне 30–42°C [5, 16].

За рубежом всё чаще выделение быстрорастущих НТМ от пациентов с МВ проводят без использования специализированных сред для культивирования микобактерий в обычных микробиологических лабораториях. Описан способ выделения НТМ из мокроты у пациентов с МВ, основанный на посеве материала на среды для селективного выделения *Burk-*

holderia cepacia complex, при культивировании на которых в течение 5–14 дней возможно выделение представителей МАВSC[35–37].

Выделение некоторых НТМ становится возможным в условиях обычных, непрофильных по работе с микобактериями туберкулёзного комплекса, лабораториях. В связи с этим становится актуальным вопрос о методах идентификации НТМ. Если лаборатории противотуберкулёзной службы имеют возможность идентификации основных видов НТМ с использованием рекомендованной ВОЗ тест-системы, основанной на методе ДНК-гибридизации, то в рутинной практике она практически не применяется. Выделенные в средах для культивирования *B. cepacia* complex НТМ должны быть переданы в противотуберкулёзную службу для идентификации.

Данную проблему решает внедрение в работу многих лабораторий масс-спектрометров, работающих по принципу времяпролётной матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (MALDI-ToF). Идентификация достаточно большого количества видов НТМ стала возможна на оборудовании различных производителей. При этом некоторые из них рекомендуют протоколы, которые при условии использования специализированных баз данных позволяют идентифицировать порядка 159 видов НТМ с точностью 94,4%.

Заключение. МВ – заболевание уникальное с точки зрения участия в патологическом процессе разнообразной микрофлоры. Совершенствование идентификации ставит перед микробиологами задачи выделения новых микроорганизмов из клинического материала от пациентов с МВ. Рост выделения НТМ из мокроты у таких пациентов требует оптимизации лабораторной диагностики микобактериозов с учётом специфики, связанной с факторами риска, эпидемиологическими аспектами микобактериозов, особенностями при проведении скрининговых исследований, организации работы с клиническим материалом (в первую очередь его деконтаминацией). Внедрение новых методов идентификации НТМ позволяет работать с некоторыми быстрорастущими микобактериями не только в лабораториях противотуберкулёзной службы, но и в обычных бактериологических лабораториях. Среди таких методов, на наш взгляд, наиболее перспективным является MALDI-ToF масс-спектрометрия, которая позволяет идентифицировать большинство видов НТМ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 3, 4, 6 – 19, 21 – 37
см. REFERENCES)

1. Чучалин А.Г. *Респираторная медицина: в 2 т.* (Т. 1). М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007.
2. Кондратьева Е.И., Красовский С.А., Воронкова А.Ю., Амелина Е.Л., Черныя А.В., Каширская Н.Ю. *Регистр больных муковисцидозом в Российской Федерации. 2015 год.* М.: «Медпрактика-М»; 2016.
5. Майорова А.А., Степаншина В.Н., Коробова О.В., Шемякин И.Г., Лазовская А.Л., Ильина Е.А. Видовая идентификация микобактерий нетуберкулёзного комплекса методом амплификации и секвенирования генов 16S рРНК. *Журнал молекулярной генетики, микробиологии, вирусологии.* 2004; 3: 11–20.
20. Смирнова Т.Г., Андреевская С.Н., Ларионова Е.Е., Андреевская И.Ю., Устинова В.В., Черноусова Л.Н. Мониторинг видовой разнообразия нетуберкулёзных микобактерий в ряде областей РФ с использованием ДНК-стрипов GeoType Mycobacterium CM/AS (Hain Lifescience, Германия). *Туберкулез и болезни легких.* 2017; 5: 54–9.

REFERENCES

1. Chuchalin A.G. *Respiratory medicine. [Respiratornaja meditsina].* Moscow: GEOTAR-Media; 2007. (in Russian)
2. Kondrat'eva E.I., Krasovskiy S.A., Voronkova A.Ju., Amelina E.L., Chernyaka A.V., Kashirskaya N.Ju. *The register of patients with cystic fibrosis in the Russian Federation. 2015 [Registr bol'nyh mukoviscidozom v Rossijskoj Federacii. 2015 god.]* Moscow: «Medpraktika-M»; 2016. (in Russian)
3. Nick J.A., Nichols D.P. Diagnosis of Adult Patients with Cystic Fibrosis. *Clin. Chest. Med.* 2016; 37(1): 47–57.
4. US Cystic Fibrosis Foundation and European Cystic Fibrosis Society consensus recommendations for the management of non-tuberculous mycobacteria in individuals with cystic fibrosis. *Thorax.* 2016; 71: 1–22.
5. Maiyurova A.A., Stepanshina V.N., Korobova O.V., Shemjakin I.G., Lazovskaya A.L., Il'ina E.A. Specific identification of mycobacteria of a non-tuberculosis complex by amplification and sequencing of 16S rRNA genes. *Zhurnal molekulyarnoy genetiki, mikrobiologii, virusologii.* 2004; 3: 11–20. (in Russian)
6. Thomson R., Tolson C., Carter R., Coulter C., Huygens F., Hagneaves M. Isolation of nontuberculous mycobacteria (NTM) from household water and shower aerosols in patients with pulmonary disease caused by NTM. *J. Clin. Microbiol.* 2013; 51: 3006–11.
7. Horsburgh C.R., Korvick J.A., Benson C.A. Epidemiology of Mycobacterium avium complex. Mycobacterium avium complex infection: progress in research and treatment. New York: Marcel Dekker; 1996; 1–22.
8. Olivier K.N., Weber D.J., Wallace R.J., Faiz A.R., Lee J.H., Zhanq Y. et al. Nontuberculous mycobacteria. I: multicenter prevalence study in cystic fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003; 167: 828 – 34.
9. Roux A.L., Catherinot E., Ripoll F., Soismier N., Macheras E., Ravilly S. et al. Jean-Louis Herrmann for the OMA Group. Multicenter study of prevalence of nontuberculous mycobacteria in patients with cystic fibrosis in France. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 9: 117 – 23.
10. Smith M.J., Efthimiou J., Hodson M.E., Batten J.C. Mycobacterial isolations in young adults with cystic fibrosis. *Thorax.* 1984; 39: 369–75.
11. Rodman D.M., Polis J.M., Heltshe S.L., Sontag M.K., Chacon C., Rodman R.V. et al. Late diagnosis defines a unique population of long-term survivors of cystic fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2005; 171: 621–6.
12. Esther C.R., Esserman D.A., Gilligan P. Kerr A., Noone P.G. Chronic Mycobacterium abscessus infection and lung function decline in cystic fibrosis. *J. Cyst. Fibros.* 2010; 9: 117–23.
13. Adjemian J., Olivier K.N., Prevots D.R. Nontuberculous mycobacteria among patients with cystic fibrosis in the United States: screening practices and environmental risk. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2014; 190: 581–6.
14. Roux A.L., Catherinot E., Ripoll F., Soismier N., Macheras E., Ravilly S. et al. Multicenter study of prevalence of nontuberculous mycobacteria in patients with cystic fibrosis in France. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47: 4124–8.
15. Qvist T., Gillijam M., Jonsson B., Taylor-Robinson D., Jensen-Fangel S., Wanga M. et al. the Scandinavian Cystic Fibrosis Study Consortium (SCFSC). Epidemiology of nontuberculous mycobacteria among patients with cystic fibrosis in Scandinavia. *J. Cyst. Fibros.* 2014; 14: 1569–1993.
16. Chan E.D., Kaminska A.M., Gill W., Chmura K., Feldman N.E., Bai X. et al. Alpha-1-antitrypsin (AAT) anomalies are associated with lung disease due to rapidly growing mycobacteria and AAT inhibits Mycobacterium abscessus infection of macrophages. *Scand. J. Infect. Dis.* 2007; 39: 690–6.
17. Sakatani M. Nontuberculosis mycobacteriosis: the present status of epidemiology and clinical studies. *Kekkaku.* 1999; 74: 377–84.
18. Levy I., Grisaru-Soen G., Lerner-Geva L., Kerem E., Blau H., Bentur L. et al. Multicenter cross-sectional Study of Nontuberculous Mycobacterial Infections among Cystic Fibrosis patients, Israel. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14: 378–84.
19. Catherinot E., Roux, A.L., Vibet, M.A., Bellis G., Ravilly S., Lem-

- onnier L. et al. OMA Group. Mycobacterium avium and Mycobacterium abscessus complex target distinct cystic fibrosis patient subpopulations. *J. Cyst. Fibros.* 2013; 12: 74–80.
20. Smirnova T.G., Andreevskaja S.N., Larionova E.E., Andrievskaja I.Ju., Ustinova V.V., Chernousova L.N. Monitoring of species diversity of nontuberculous mycobacteria in different areas using Geo-Type Mycobacterium CM / AS DNA strips (Hain Lifescience, Germany). *Tuberkulez i bolezni legkih.* 2017; 5: 54–59. (in Russian)
21. Aitken M.L., Burke W., McDonald G. Wallis C, Ramsey B, Nolan C. Nontuberculous mycobacterial disease in adult cystic fibrosis patients. *Chest.* 1993; 103: 1096–9.
22. Chalermkulrat W., Sood N., Neuringer I.P. Hecker T.M., Chang L, Rivera M., Non-tuberculous mycobacteria in end stage cystic fibrosis: implications for lung transplantation. *Thorax.* 2006; 61: 507–13.
23. Kim J.S, Tanaka N., Newell J.D., Degroote M.A., Fulton K., Huitt G. et al. Nontuberculous mycobacterial infection: CT scan findings, genotype, and treatment responsiveness. *Chest.* 2005; 128: 3863–9.
24. Esther C.R. Jr., Henry M.M., Molina P.L., Leigh M.W. Nontuberculous mycobacterial infection in young children with cystic fibrosis. *Pediatr. Pulmonol.* 2005; 40: 39–44.
25. Evans J.T., Ratnaraja N., Gardiner S. Hawkey P., Smith E.G. Mycobacterium abscessus in cystic fibrosis: what does it all mean? *Clin. Microbiol. Infect.* 2011; 17: 602.
26. Mussaffi H., Rivlin J., Shalit I., Ephros M., Blau H. Nontuberculous mycobacteria in cystic fibrosis associated with allergic bronchopulmonary aspergillosis and steroid therapy. *Eur. Respir. J.* 2005; 25: 324–8.
27. Ager S., O'Brien C., Spencer D.A., Robb A. A retrospective review of non-tuberculous mycobacteria in pediatric cystic fibrosis patients at a regional centre. *J. Cyst. Fibros.* 2011; 10: 36.
28. Renna M., Schaffner C., Brown K., Shang S., Tamayo M.H., Hegyi K. et al. Azithromycin blocks autophagy and may predispose cystic fibrosis patients to mycobacterial infection. *J. Clin. Invest.* 2011; 121: 3554–63.
29. Binder A.M., Adjemian J., Olivier K.N., Prevots D.R. Epidemiology of nontuberculous mycobacterial infections and associated chronic macrolide use among persons with cystic fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2013; 188: 807–12.
30. Griffith D.E., Brown-Eliot B.A. An official ATS IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2007; 175: 367–416.
31. Pye A., Hili S.L., Bharadwa P. Effect of storage and postage on recovery and quantitation of bacteria in sputum samples. *Am. J. Clin. Pathol.* 2008; 61: 352. 13.
32. Mase S.R., Ramsay A. Yield of serial sputum specimen examinations in the diagnosis of pulmonary tuberculosis: a systematic review. *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.* 2007; 11: 485–95.
33. Stacey L. Martiniano, Jerry A. Nick, Charles L. Daley Nontuberculous Mycobacterial Inf. in Cystic Fibrosis. *Clin. in Chest. Med.* 2016; 37: 83–96.
34. Ferroni A., Vu-Thien H., Lanotte P, Le Bourgeois M., Sermet-Gaudelus I., Fauroux B. et al. Value of the chlorhexidine decontamination method for recovery of nontuberculous mycobacteria from sputum samples of patients with cystic fibrosis. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44: 2237–9.
35. Foweraker J.E., Jalili S., Athithan V., Grogono D., Curran M.C., Floto R.A. New Approaches To The Culture Of Mycobacterium Abscessus Complex From Patients With Cystic Fibrosis. *Thorax* 2015; 70: 180.
36. Peter H. Gilligan. Infections in Patients with Cystic Fibrosis *Clin. in Lab. Med.*, 2014; 34: 197–217.
37. Charles R. Esther Jr. Detection of rapidly growing mycobacteria in routine cystic fibrosis cultures. *J. Clin. Microbiol.* 2011: 1421–5.

Поступила 09.01.18

Принята к печати 16.01.18