

МИКРОБИОЛОГИЯ

Характеристика анаэробной микробиоты дыхательных путей детей с муковисцидозом

Тронза Т.В.¹, Воронкова А.Ю.^{2,3}, Фатхуллина И.Р.^{2,3}, Кондратьева Е.И.^{2,3}, Плоскирева А.А.¹, Трегуб П.П.¹

- ¹ Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, (ул. Новогиреевская, д. 3а, г. Москва, 111123, Россия)
- ² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», (ул. Москворечье, 1, Москва, 115522, Россия)
- ³ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Научно-исследовательский клинический институт детства Министерства здравоохранения Московской области», (ул. Коминтерна, 24А, с1, Мытищи, 115093, Московская область, Россия)

Резюме

Исследование потенциальной роли анаэробных бактерий при муковисцидозе и их участие в патофизиологии МВ важно для понимания влияния анаэробной флоры на поражение бронхолегочной системы при муковисцидозе.

Цель определить анаэробное разнообразие микробиоты дыхательных путей и его роль при МВ, определить резистентность штаммов анаэробных бактерий к антибактериальным препаратам.

Материалы и методы: Исследованы образцы мокроты 65 пациентов детского возраста с муковисцидозом на анаэробную флору, всего взято 86 образцов отделяемого из нижних дыхательных путей. 1 группа без высева анаэробной флоры составила 56/86,2% человек, 2 группа с высевом анаэробной флоры – 9/13,84% человек. Для оценки влияния анаэробной флоры на функцию легких были выделены две группы пациентов – группа с высевом *Pseudomonas aeruginosa* – 31/47,7% пациент и группа пациентов с высевом *Pseudomonas aeruginosa* и анаэробной флорой – 9/13,84%.

Результаты: показана длительная персистенция анаэробной флоры среди пациентов с тяжелым течением муковисцидоза и повторное заражение анаэробными бактериями, в том числе и новыми видами. *Fusobacterium necrophorum* выделенная от одного пациента с муковисцидозом имела полную резистентность к 7 антибактериальным препаратам, а чувствительность в повышенной концентрации к 4 антибактериальным препаратам, в том

числе к метронидазолу. Присоединение анаэробной флоры значительно утяжеляет течение хронического бронхолегочного процесса, что показано в проведенном исследовании со статистически значимыми отличиями показателей нутритивного статуса – пациенты с высевом анаэробной флоры имели худшие показатели $M \pm SD$ ИМТ пер $21,5 \pm 15,49$ по сравнению с группой пациентов без высева анаэробной флоры $35,43 \pm 27,96$ ($p_{2-3} = 0,03$), ОФВ₁ $57,60 \pm 24,99$, без высева АНМ $82,69 \pm 23,24$ ($p_{2-3} = 0,036$), ФЖЕЛ $67,40 \pm 15,63$, в группе без высева АНМ $87,62 \pm 23,71$ ($p_{2-3} = 0,049$), и в том числе и при сравнении групп с ростом *P. aeruginosa* и группы с ростом *P. aeruginosa* в ассоциации с анаэробной флорой – ОФВ₁ $57,60\% \pm 24,99$ от должн. в группе с ростом анаэробов и $77,44 \pm 22,89\%$ от должн. в группе с ростом только с *P. aeruginosa* ($p = 0,033$), ФЖЕЛ – $67,40 \pm 15,63\%$ от должн. против $85,43 \pm 18,66\%$ от должн. соответственно ($p = 0,041$).

Заключение. Присоединение анаэробной флоры значительно утяжеляет течение хронического бронхолегочного процесса, показана возможная длительная персистенция анаэробной флоры у тяжелых пациентов, необходимо обследование пациентов с МВ в период обострения на наличие анаэробной флоры. Необходимо включение антимикробных препаратов с активностью против анаэробных бактерий в лечение обострений при отсутствии эффекта от антимикробной терапии.

Ключевые слова: муковисцидоз, бактериальный патоген, анаэробные бактерии, микробиота, синегнойная палочка, функция внешнего дыхания

Для цитирования: Тронза Т.В., Воронкова А.Ю., Фатхуллина И.Р., Кондратьева Е.И., Плоскирева А.А., Трегуб П.П. Характеристика анаэробной микробиоты дыхательных путей детей с муковисцидозом. Архив педиатрии и детской хирургии. 2024; 2(4):28–34. doi: 10.31146/2949-4664-apps-2-4-28-34

Информация об авторах / Information about authors

Тронза Татьяна Васильевна, руководитель направления лабораторных исследований лаборатории клинической микробиологии

✉ Воронкова Анна Юрьевна, к.м.н., ведущий научный сотрудник научно-клинического отдела муковисцидоза; ведущий научный сотрудник, врач-педиатр отделения муковисцидоза; e-mail: voronkova111@yandex.ru

Фатхуллина Ирина Ринатовна, врач-педиатр отделения муковисцидоза

Кондратьева Елена Ивановна, д.м.н., профессор, руководитель научно-консультативного отдела муковисцидоза; Заместитель директора по науке Плоскирева Антонина Александровна, Заместитель директора по клинической работе

Tatyana V. Tronza, head of laboratory research, clinical microbiology laboratory; ORCID: 0000-0002-0606-0747

✉ Anna Yu. Voronkova, Ph.D., leading researcher at the scientific and clinical department of cystic fibrosis; Leading Researcher, Pediatrician, Cystic Fibrosis Department Fathullina Irina Rinatovna, pediatrician at the cystic fibrosis department; e-mail: voronkova111@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-8183-7990

Irina R. Fatkhullina, pediatrician at the cystic fibrosis department; ORCID: 0000-0001-8005-5121

Elena I. Kondratyeva, MD, PhD, Professor, Head of the Scientific Advisory Department of Cystic Fibrosis; Deputy Director for Science; ORCID: 0000-0001-6395-0407

Antonina A. Ploskireva, Deputy Director for Clinical Work; ORCID: 0000-0002-3612-1889

MICROBIOLOGY

Characteristics of the anaerobic microbiota of the respiratory tract of children with cystic fibrosis

T.V. Tronza¹, A.Yu. Voronkova^{2,3}, I.R. Fathullina^{2,3}, E.I. Kondratyeva^{2,3}, A.A. Ploskireva¹, P.P. Tregub¹¹ Central Research Institute of Epidemiology, (3a, Novogireevskaya str., Moscow, 111123, Russia)² Research Center for Medical Genetics, (1, Moskvorechye str., Moscow, 115522, Russia)³ Research Clinical Institute of Childhood of the Ministry of Health of the Moscow Region, (24A, build. 1, Komintern str., Mytishchi, 115093, Moscow region, Russia)

Summary

The study of the potential role of anaerobic bacteria in CF and their involvement in the pathophysiology of CF is important for understanding the influence of anaerobic flora on the damage to the bronchopulmonary system in cystic fibrosis. Objective: to determine the anaerobic diversity of the respiratory tract microbiota and its role in CF, to determine the resistance of anaerobic bacterial strains to antibacterial drugs.

Materials and methods Sputum samples from 65 pediatric patients with cystic fibrosis were examined for anaerobic flora, a total of 86 samples of discharge from the lower respiratory tract were taken. Group 1 without anaerobic flora culture amounted to 56/86.2% of people, group 2 with anaerobic flora culture – 9/13.84% of people. To assess the effect of anaerobic flora on lung function, two groups of patients were identified – a group with *Pseudomonas aeruginosa* culture – 31/47.7% patients and a group of patients with *Pseudomonas aeruginosa* culture and anaerobic flora – 9/13.84%.

Results: long-term persistence of anaerobic flora in severe patients and re-infection with anaerobic bacteria, including new species, were shown. *Fusobacterium necrophorum* isolated from one patient with cystic fibrosis had complete resistance to 7 antibacterial drugs, and sensitivity in increased concentrations to 4 antibacterial drugs, including metronidazole. The addition of anaerobic flora significantly aggravates

the course of the chronic bronchopulmonary process, which is shown in the study with statistically significant differences in nutritional status indicators – patients with anaerobic flora culture had worse indicators $M \pm SD$ BMI per 21.5 ± 15.49 compared to the group of patients without anaerobic flora culture 35.43 ± 27.96 ($p_{2-3} = 0.03$), FEV1 57.60 ± 24.99 , without AnM culture 82.69 ± 23.24 ($p_{2.3} = 0.036$), FVC 67.40 ± 15.63 , in the group without AnM culture 87.62 ± 23.71 ($p_{2.3} = 0.049$), and including when comparing groups with an increase in *P. aeruginosa* and the group with the growth of *P. aeruginosa* in association with anaerobic flora – FEV1 $57.60\% \pm 24.99$ of the expected value in the group with the growth of anaerobes and $77.44 \pm 22.89\%$ of the expected value in the group with the growth of only *P. aeruginosa* ($p = 0.033$), FVC – $67.40 \pm 15.63\%$ of the expected value versus $85.43 \pm 18.66\%$ of the expected value, respectively ($p = 0.041$).

Conclusion. The addition of anaerobic flora significantly aggravates the course of the chronic bronchopulmonary process, the possible long-term persistence of anaerobic flora in severe patients is shown, it is necessary to examine patients with CF during an exacerbation for the presence of anaerobic flora. It is necessary to include antimicrobial drugs with activity against anaerobic bacteria in the treatment of exacerbations in the absence of an effect from antimicrobial therapy.

Key words: cystic fibrosis, bacterial pathogen, anaerobic bacteria, microbiota, *Pseudomonas aeruginosa*, respiratory function

For citation: Tronza T.V., Voronkova A.Yu., Fathullina I.R., Kondratyeva E.I., Ploskireva A.A., Tregub P.P. Non-drug methods of analgesia in newborns. *Archives of Pediatrics and Pediatric Surgery*. 2024; 2(4):28–34. doi: 10.31146/2949-4664-apps-2-4-28–34

Введение

Хроническая инфекция легких при муковисцидозе (МВ) является следствием нарушения мукоцилиарного клиренса. Основной причиной инвалидизации и смертности больных с МВ является поражение бронхолегочной системы. Одной из причин бронхолегочных изменений является

хроническая инфекция легких, с которой связан неблагоприятный прогноз. Усугубляет поражение бронхолегочной системы колонизация грамотрицательной микрофлорой, нередко с формированием резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Рецидивирующие

Информация об авторах / Information about authors

Трегуб Павел Павлович, д.м.н., руководитель производственного комплекса по лабораторной диагностике

Финансирование

Исследование проведено в рамках государственного задания «Комплексный анализ гено-фенотипических корреляций при муковисцидозе и первичной цилиарной дискинезии № госрегистрации: 122032300396–1 ФГБНУ «МГНЦ им. Н.П. Бочкова».

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Pavel P. Tregub, Doctor of Medical Sciences, Head of the production complex for laboratory diagnostics; ORCID: 0000-0002-3650-6121

Funding

The study was conducted within the framework of the state assignment "Comprehensive analysis of genotypic correlations in cystic fibrosis and primary ciliary dyskinesia, State registration number: 122032300396–1 Federal State Budgetary Scientific Institution "N.P. Bochkov Medical Genetics Research Center".

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest

респираторные эпизоды, как правило, заканчиваются формированием порочного круга, включающего обструкцию дыхательных путей, вирусно-бактериальные инфекции и хроническое воспаление.

Исследования потенциальной роли анаэробных бактерий при МВ и, следовательно, их участия в патофизиологии МВ дали противоречивые результаты, и этот вопрос до сих пор не выяснен.

Использование анаэробных культуральных методов исследования указывает на обнаружение в дыхательных путях больных МВ большого числа анаэробов. В исследовании Tunney MM с соавторами анаэробные бактерии, прежде всего родов *Prevotella*, *Veillonella*, *Propionibacterium* и *Actinomyces* были изолированы в 64% образцов мокроты у пациентов с МВ [1].

В двух исследованиях показано, что микроорганизмы из рода *Prevotella* особенно часто встречаются у больных МВ. Более того, высказывается предположение об их провоспалительном действии, что подтверждается резким увеличением концентрации данных микроорганизмов в период обострения [2].

Материалы и методы

Было обследовано 65 пациентов с муковисцидозом в возрасте от 3 мес до 17 лет на анаэробную микробиоту (АнМ), всего у них взято 86 образцов мокроты при откашливании.

По результатам обследования 65 пациентов с муковисцидозом детского возраста были разделены на две группы

Группа без высева анаэробной флоры составила 56/86,2% человек, с высевом анаэробной флоры составила 9/13,84% человек.

1. Группа без АнМ – 56/86,2% пациентов, 46 девочек/19 мальчиков
2. Группа с высевом АнМ – 9/13,84% пациентов, 6 девочек/3 мальчика

Сравнивались показатели среднего возраста, генотипы, показатели функции внешнего дыхания по данным ФЖЕЛ и ОФВ1% от должного, нутритивный статус, осложнения. Группы сравнивались с общей группой пациентов (n=65) и между собой.

Для оценки влияния анаэробной микробиоты на функцию легких учитывая хронический рост *Pseudomonas aeruginosa* у всех пациентов с АнМ были выделены две группы пациентов

1. Группа с высевом *Pseudomonas aeruginosa* – 31 пациент.
2. Группа с высевом *Pseudomonas aeruginosa* и анаэробными бактериями – 9 пациентов.

Группы сравнивались с общей группой пациентов (n=65) и между собой.

Микробиологические исследования проводили в соответствии с Руководством по микробиологической диагностике инфекций дыхательных путей у пациентов с муковисцидозом [7], а также практические рекомендации по лабораторной диагностике анаэробной инфекции практические рекомендации ассоциации ФЛМ Москва 2021 [8]. в лаборатории клинической микробиологии и микробной экологии человека Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Однако, некоторые исследователи считают, что у пациентов с МВ выделение анаэробных бактерий из мокроты связано с более легким заболеванием, и было сделано предположение, что целенаправленная эрадикация анаэробов не может быть оправдано у субъектов с выделением мокроты при МВ [3].

Работа нескольких групп показали, что 2,3-бутандион – продукт ферментации нескольких видов бактерий, в том числе анаэробных, увеличивает выработку пиоцианина и образование биопленок *in vitro* и способствует воспалению, вызванное *P. aeruginosa*, на модели инфекции дыхательных путей у мышей [4, 5].

Экспериментальные данные показывают, что анаэробные бактерии могут вызывать сильные провоспалительные реакции *in vivo* [6].

Необходимо дальнейшее исследование взаимосвязей между микробным разнообразием дыхательных путей, обилием анаэробов и функцией легких при муковисцидозе.

Цель: определить анаэробное разнообразие микробиоты дыхательных путей и его роль при МВ, определить резистентность штаммов анаэробов к антибиотикам.

Идентификацию микробных патогенов выполняли с помощью Масс-спектрометра Microflex LT, Bruker Daltonics Inc., Германия.

Исследования по определению чувствительности к антимикробным препаратам проводили согласно инструкции тест-системы производителя согласно рекомендациям стандартов CLSI [9].

Исследование на анаэробную флору выполняли микробиологическим методом исследования путем посева мокроты на дифференциально-диагностические питательные среды – агар Шедлера и бульон Шедлера, Пронадиза, Испания с инкубацией чашек Петри при 37С в термостате Binder, Германия в анаэробных условиях в газопакетах для анаэробата, Oxoid, Великобритания в течении 48–72 часов с последующей идентификацией на масс-спектрометре microflex, вариант исполнения: microflex LT/SH, с принадлежностями – Bruker Daltonik GmbH, Германия.

Определение антимикробной чувствительности проводилось набором АТВ АНА, Биомерье, Франция. Набор АТВ АНА предназначен для определения чувствительности к антимикробным препаратам (АМП) облигатно анаэробных бактерий в полужидкой среде в условиях, приближенных к референсному методу разведений или микроуразведений в агаре (согласно рекомендациям стандартов CLSI). Концентрации антимикробных препаратов в первой части стрипа АТВ АНА соответствуют рекомендациям CLSI® (M11-A7). Концентрации антимикробных препаратов во второй части стрипа АТВ АНА соответствуют рекомендациям CASFM и указаны под горизонтальной чертой под лункой с метронидазолом 8–16 мг/л. Стрип АТВ АНА состоит из 16 пар лунок. Первая пара не содержит АМП и используется для постановки положительного контроля. Следующие 14 пар лунок содержат АМП в одной или нескольких концентрациях. Последняя пара лунок не содержит субстратов.

Состав стрипа АТВ АНА: пенициллин G, амоксициллин/клавулановая кислота, пиперациллин, пиперациллин/тазобактам, тикарциллин/клавулановая кислота,

цефокситин, цефотетан, имипенем, клиндамицин, хлорамфеникол, метронидазол. После окончания инкубации учет роста в лунках стрипа выполняется визуально или на

Инструментальные исследования

При оценке нутритивного статуса детей индекс массы тела (ИМТ) оценивался в системе перцентилей. Расчет перцентилей ИМТ проводился при помощи программ Всемирной организации здравоохранения: WHO Anthro (для детей до 5 лет) и WHO Anthroplus (для детей старше 5 лет) (<http://www.who.int/growthref/tools/en/>).

Показатели функции внешнего дыхания (ФВД) при проведении спирометрии исследовали по данным% от должных величин: объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁) и форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ) по рекомендациям Американского торакального и Европейского респираторного

приборе АТВ или mini API *. По полученным результатам штамм классифицируется как чувствительный, умеренно устойчивый или устойчивый [9].

обществ «ATS/ERS task force: standardisation of lung function testing» 2005. Анализировались осложнения муковисцидоза.

Статистическая обработка. Использовали пакет прикладных программ IBM SPSS Statistics 26. В зависимости от вида распределения мерами центральной тенденции и рассеяния служили среднее значение (М) ± стандартное отклонение (SD) или медиана (Me) (интерквартильный размах)/(Q1; Q3). Статистическая обработка проводилась с использованием критерия Манна-Уитни, критерия Хи-квадрат, точного критерия Фишера. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

При сравнении демографических показателей и генотипа выявлено, что пациенты двух групп не различались по полу и возрасту, не было выявлено различий в генотипе, однако все пациенты с высевом облигатных анаэробных бактерий имели «тяжелый» генотип, в то время, как пациенты без высева АНМ в 12,5% случаев имели «мягкий» генотип. Не было выявлено отличий в отношении наличия в генотипе патогенного варианта F508del. У пациентов с высевом АНМ показатели ФВД были значимо ниже – ОФВ₁ в группе с АНМ $57,60 \pm 24,99$, без высева АНМ $82,69 \pm 23,24$ ($p_{2,3} = 0,036$), ФЖЕЛ в группе с АНМ $67,40 \pm 15,63$, в группе без высева АНМ $87,62 \pm 23,71$ ($p_{2,3} = 0,049$). Пациенты с высевом

анаэробной флоры имели худшие показатели среднего значения перцентилей ИМТ по сравнению с группой пациентов без высева АНМ $M \pm SD$ ИМТ пер $35,43 \pm 27,96$ $21,5 \pm 15,49$ ($p_{2,3} = 0,03$). В отношении основных осложнений значимых отличий не было выявлено (табл. 1).

Положительный высев анаэробной флоры имели 9 детей (13,84%) в 11 образцах мокроты, из них двое пациентов имели одновременно высев двух анаэробных микроорганизмов – в одном случае ассоциация *Actinomyces odontolyticus* и *Veillonella parvula*, в другом *Prevotella pallens* и *Veillonella atypica*, причем этот же пациент при сборе через 3 мес вновь имел высев анаэробов, но уже *Veillonella dispar*. 10 пациентов сдавали образцы мокроты дважды, ни в одном случае не было высева анаэробной флоры.

С высевом анаэробной флоры повторно сдавали посеы 6 пациентов. В повторном посеве роста анаэробной флоры не отмечалось, но у одного пациента после первого посева свободного от анаэробной флоры при повторной сдаче высеялась *Prevotella melaninogenica*. Было выделено 8 анаэробных микроорганизмов.

Veillonella atypica была выделена у четверых пациентов детского возраста с муковисцидозом, *Veillonella parvula* у двоих, по одному пациенту высеяли *Veillonella dispar*, *Prevotella pallens*, *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces odontolyticus*.

Было проведено определение чувствительности выделенных аэробов к антимикробным препаратам.

На рисунках 1 и 2 отображена резистентность основных анаэробных микроорганизмов.

Выявлена резистентность к метронидазолу в 57% случаев у *Veillonella spp.*, в 100% у *Actinomyces odontolyticus*. У *Prevotella melaninogenica* 100% отмечена резистентность к бензилпенициллину. Для *Fusobacterium necrophorum* характерна резистентность (R) к бензилпенициллину, имипенему, пиперациллину, пиперациллину/тазобактаму, хлорамфениколу, цефокситину и цефотетану в 100%.

Для *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* и *Prevotella pallens* 100% зарегистрирована чувствительность ко всем препаратам: амоксиклаву, бензилпенициллину, имипенему, клиндамицину, метронидазолу, пиперациллину, пиперациллину/тазобактаму, тикарциллину/клавуланату, хлорамфениколу, цефокситину, цефотетану.

Таблица 1.

Характеристика пациентов, включенных в исследование

Примечания:

критерий Манн Уитни при $p < 0,05$;

точный критерий Фишера $p < 0,05$.

Показатель	Общая группа n=65/100%	Группа без АНМ n=56/86,15%	Группа с АНМ n=9/13,84%	p
	1	2	3	
Пол ж\м n	46/19	40/16	6/3	$p_{2,3} > 0,5$
Пол ж\м%	70,77/29,23	71,43/28,57	66,67/33,33	
Возраст M±SD	12,56±3,83	12,56±3,83	12,99±3,54	$p_{2,3} > 0,5$
Генотип				
Мягкий n/%	7/10,76	7/12,5	0	
Тяжелый n/%	58/89,24	49/87,5	9/100	$p_{2,3} = 0,63$
F508del/F508del n/%	23/35,38	21/37,5	4/44,44	$p_{2,3} = 0,74$
F508del/nonF508del n/%	32/49,24	28/50	5/55,56	$p_{2,3} = 0,87$
nonF508del/nonF508del n/%	10/15,38	7/12,5	0	
ФВД% должн M±SD				
ФЖЕЛ M±SD	85,91 ± 24,07	87,62±23,71	67,40 ± 15,63	$p_{2,3} = 0,049$
ОФВ ₁ M±SD	81,00 ± 23,93	82,69±23,24	57,60 ± 24,99	$p_{2,3} = 0,036$
ИМТ пер M±SD	33,26±26,97	35,43±27,96	21,5±15,49	$p_{2,3} = 0,03$
Осложнения				
Сахарный диабет n/%	2/3,1	2/3,5	0/0	
АБЛА n/%	2/3,1	1/1,8	1/11,1	$p_{2,3} = 0,81$
Цирроз печени n/%	7/10,7	6/10,7	1/11,1	$p_{2,3} = 0,77$

Рисунок 1.

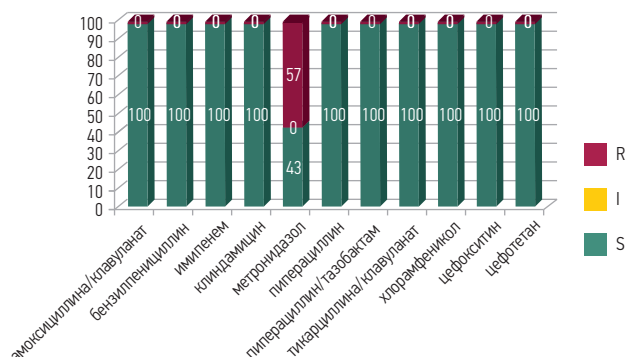
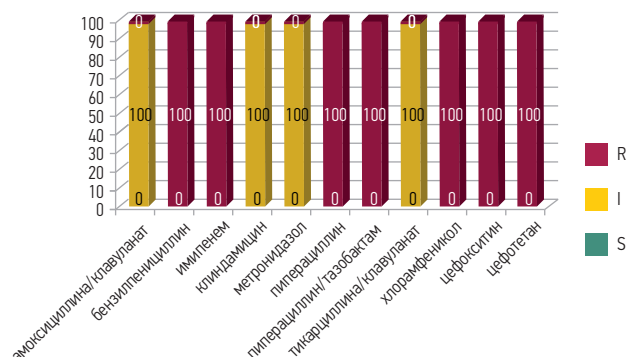
Чувствительность *Veillonella spp* к основным антибактериальным препаратам.

Рисунок 2.

Чувствительность *Fusobacterium necrophorum* к основным антибактериальным препаратам.

Для характеристики влияния анаэробной флоры на состояние бронхолегочной системы и течение муковисцидоза у детей с высевом анаэробной флоры были проанализированы показатели функции внешнего дыхания пациентов, которым исследовалась анаэробная флора.

Из общей группы пациентов была выделена группа пациентов с *P. aeruginosa* и группа пациентов с высевом анаэробной флоры. Все пациенты у которых был высеваем анаэробной

флоры имели хроническую синегнойную инфекцию. Результаты представлены в таблице 2.

Выявлена статистическая разница ($p < 0,05$) показателей ФВД между группами пациентов с ростом *P. aeruginosa* и с ростом *P. aeruginosa* и АНФ – пациенты с высевом АНФ имели худшие показатели ФВД – ФЖЕЛ $67,40 \pm 15,63$ и ОФВ₁ $57,60 \pm 24,99$ по сравнению с группой без роста АНФ ФЖЕЛ $85,43 \pm 18,66$, ОФВ₁ $77,44 \pm 22,89$ ($p_{2,3} = 0,041$ и $p_{2,3} = 0,033$ соответственно).

Обсуждение

Внутрипросветные условия в дыхательных путях пациентов с МВ способны поддерживать рост как факультативных, так и облигатных анаэробных бактерий [10]. В течение 15-летнего периода исследования, использующими независимые от культуры (т.е. основанные на последовательности ДНК) подходы для характеристики микробных сообществ дыхательных путей МВ показывали, что анаэробные бактерии широко распространены и присутствуют в значительных количествах в дыхательных путях МВ [11–16]

Несколько недавних исследований были посвящены вопросу поиска связей между присутствием анаэробов и клиническими исходами при муковисцидозе и каким образом анаэробные виды могут влиять на прогрессирование заболевания легких. Эти исследования дали, казалось бы, противоречивые результаты в отношении вопроса о том, способствуют ли анаэробы патологии легких или, напротив, могут каким-то образом улучшать прогрессирование заболевания [6].

В Ryan Hunter's лаборатории было показано, что анаэробные виды, обычно встречающиеся в образцах отделяемого дыхательных путей МВ (*Prevotella*, *Veillonella*, *Fusobacterium*

и анаэробные стрептококки), обладают способностью разлагать респираторные муцины до аминокислот и короткоцепочечные жирные кислоты, которые могут служить источниками питательных веществ и усиливать рост обычных возбудителей МВ, включая *Pseudomonas aeruginosa* [17]. Было выявлено взаимодействие между анаэробами и обычным (аэробным) микроорганизмами, которые могут способствовать патогенности последних. Колонизация *P. aeruginosa* достоверно повышает вероятность присутствия анаэробов в мокроте. [2]

Еще одно исследование показало, что β-лактамазы расширенного спектра действия, продуцируемые некоторыми анаэробами, могут защищать *P. aeruginosa* и других возбудителей МВ от активности β-лактамов антимикробных препаратов [18].

Экспериментальные и наблюдательные исследования микробиоты дыхательных путей во время легочных обострений говорят о потенциальной роли анаэробов при муковисцидозе: было продемонстрировано увеличение численности анаэробов и ферментативного метаболизма во время легочных обострений [19].

В нашем исследовании были выделены анаэробные микроорганизмы у пациентов с муковисцидозом в 13,84%. Была показана возможность длительной персистенции анаэробной микробиоты у тяжелых пациентов и повторного заражения анаэробами, в том числе и новыми видами. Некоторые анаэробные микроорганизмы имели полирезистентность к основным антибактериальным препаратам. *Fusobacterium necrophorum* выделенная от одного пациента с муковисцидозом имела полную резистентность к 7 антибактериальным препаратам, а чувствительность в повышенной концентрации к 4 антибактериальным препаратам, в том числе к метронидазолу.

Присоединение анаэробной флоры значительно утяжеляет течение хронического бронхолегочного процесса, что

Таблица 2.

Показатели функции внешнего дыхания (ФВД) у пациентов с ростом анаэробной флоры в сравнении с общей группой пациентов и с группой пациентов с *P. aeruginosa*.

Примечание:

критерий Манн Уитни при $p < 0,05$

Показатель ФВД% долж	Общая n=65	<i>P. aeruginosa</i> n = 31	АНФ + <i>P. aeruginosa</i> n = 9	P
	1	2	3	
ФЖЕЛ M±SD	85,91 ± 24,07	85,43 ± 18,66	67,40 ± 15,63	$P_{2,3} = 0,041$
ОФВ ₁ M±SD	81,00 ± 23,93	77,44 ± 22,89	57,60 ± 24,99	$P_{2,3} = 0,033$

показано в проведенном исследовании. Получены статистически значимые отличия показателей ИМТ в группе пациентов с ростом Ан М. Пациенты с высевом анаэробной флоры имели худшие показатели ИМТ (перцентиль) по сравнению с группой пациентов без АнМ ($p_{2,3}=0,03$), функции внешнего дыхания – ОФВ₁ $57,60 \pm 24,99$, без высева АнМ $82,69 \pm 23,24$ ($p_{2,3}=0,036$), ФЖЕЛ $67,40 \pm 15,63$, в группе без высева АнМ $87,62 \pm 23,71$ ($p_{2,3}=0,049$), и в том числе и при сравнении групп с ростом *P. aeruginosa* и группы с ростом

P. aeruginosa в ассоциации с анаэробной флорой – ОФВ₁ $57,60\% \pm 24,99$ от должн. в группе с ростом анаэробов и $77,44 \pm 22,89\%$ от должн. в группе с ростом только с *P. aeruginosa* ($p=0,033$), ФЖЕЛ – $67,40 \pm 15,63\%$ от должн. против $85,43 \pm 18,66\%$ от должн соответственно ($p=0,041$).

Более глубокое понимание роли анаэробов в микробиоте респираторного тракта пациентов принесет пользу в улучшении контроля и управления инфекцией дыхательных путей при муковисцидозе.

Заключение

Присоединение анаэробных бактерий утяжеляет течение хронического бронхолегочного процесса по показателям ФВД, нутритивного статуса. Возможна длительная персистенция анаэробной микробиоты у тяжелых пациентов, повторное заражение анаэробами, в том числе новыми видами. Не-

обходимо обследование пациентов с МВ в период обострения на наличие Ан М. Необходимо включение антимикробных препаратов с активностью против анаэробов в лечение обострений при отсутствии эффекта от антимикробной терапии, подобранной с учетом аэробной микрофлоры.

Вклад авторов

Кондратьева Е.И., Воронкова А.Ю. – концепция и дизайн исследования;
Воронкова А.Ю., Кондратьева Е.И., Фатхуллина И.Р. – сбор клинического материала и забор мокроты;
Тронза Т.В., Трегуб П.П. – микробиологическое исследование;
Воронкова А.Ю., Тронза Т.В. – статистическая обработка;
Тронза Т.В., Фатхуллина И.Р., Воронкова А.Ю. – написание текста;
Кондратьева Е.И. – редактирование текста.

Contribution of the authors

Kondratieva E.I., Voronkova A.Yu. – study concept and design;
Voronkova A. Yu., Kondratieva E.I., Fatkhullina I.R. – collection of clinical material and sputum collection;
Tronza T.V., Tregub P.P. – microbiological research;
Voronkova A.Yu., Tronza T.V. – statistical processing;
Tronza T.V., Fatkhullina I.R., Voronkova A.Yu. – writing the text;
Kondratiev E.I. – editing text.

Литература | References

1. Tunney M.M., Field T.R., Moriarty T.F. et al. Detection of anaerobic bacteria in high numbers in sputum from patients with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008 May 1;177(9):995–1001. doi: 10.1164/rccm.200708–1151OC.
2. Wellinghausen N., Köthe J., Wirths B. et al. Superiority of molecular techniques for identification of Gram-negative, oxidase-positive rods, including morphologically nontypical *Pseudomonas aeruginosa*, from patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol*. 2005;43(8):4070–5. doi: 10.1128/jcm.43.8.4070–4075.2005.
3. Muhlebach M.S., Hatch J.E., Einarsson G.G. et al. Anaerobic bacteria cultured from cystic fibrosis airways correlate to milder disease: a multisite study. *Eur Respir J*. 2018 Jul 11;52(1):1800242. doi: 10.1183/13993003.00242–2018.
4. Nguyen M., Sharma A., Wu W., Gomi R., Sung B., Hospodsky D., Angenent L.T., Worgall S. The fermentation product 2,3-butanediol alters *P. aeruginosa* clearance, cytokine response and the lung microbiome. *ISME J*. 2016 Dec;10(12):2978–2983. doi: 10.1038/ismej.2016.76.
5. Phan J., Gallagher T., Oliver A., England W.E., Whiteson K. Fermentation products in the cystic fibrosis airways induce aggregation and dormancy-associated expression profiles in a CF clinical isolate of *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiol Lett*. 2018 May 1;365(10):fny082. doi: 10.1093/femsle/fny082.
6. Ulrich M., Beer I., Braitmaier P. et al. Relative contribution of *Prevotella intermedia* and *Pseudomonas aeruginosa* to lung pathology in airways of patients with cystic fibrosis. *Thorax*. 2010 Nov;65(11):978–84. doi: 10.1136/thx.2010.137745.
7. Polikarpova S.V., Zhilina S.V., Kondratenko O.V., Lyamin A.V., Borzova Yu.V., Zhestkov A.V. Guidelines for the microbiological diagnosis of respiratory tract infections in patients with cystic fibrosis, Moscow, 2019, 127 p. (in Russ.) ISBN 978–5–94789–905–4
8. Practical recommendations for laboratory diagnostics of anaerobic infection Practical recommendations of the association. FLM Moscow. 2021. (in Russ.) Available at: <https://fedlab.ru/upload/iblock/c99/Практические%20рекомендации%20по%20диагностики%20анаэробной%20инфекции%20%20Финал.pdf> (Accessed: 01.11.2024)
Практические рекомендации по лабораторной диагностике анаэробной инфекции Практические рекомендации ассоциации. ФЛМ Москва 2021. URL: <https://fedlab.ru/upload/iblock/c99/Практические%20рекомендации%20по%20диагностики%20анаэробной%20инфекции%20%20Финал.pdf>
9. CLSI. Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria. 9th ed. CLSI standard M11. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018, Volume 38, Number 19. ISBN 978–1–68440–021–8
10. Cowley E.S., Kopf S.H., LaRiviere A., Ziebis W., Newman D.K. Pediatric Cystic Fibrosis Sputum Can Be Chemically Dynamic, Anoxic, and Extremely Reduced Due to Hydrogen Sulfide Formation. *mBio*. 2015 Jul 28;6(4): e00767. doi: 10.1128/mBio.00767–15.
11. Rogers G.B., Carroll M.P., Serisier D.J., Hockey P.M., Jones G., Bruce K.D. characterization of bacterial community diversity in cystic fibrosis lung infections by use of 16s ribosomal DNA terminal restriction fragment length polymorphism profiling. *J Clin Microbiol*. 2004 Nov;42(11):5176–83. doi: 10.1128/JCM.42.11.5176–5183.2004.
12. Zemanick E.T., Wagner B.D., Sagel S.D., Stevens M.J., Accurso F.J., Harris J.K. Reliability of quantitative real-time PCR for bacterial detection in cystic fibrosis airway specimens. *PLoS One*. 2010 Nov 30;5(11): e15101. doi: 10.1371/journal.pone.0015101.
13. Tunney M.M., Klem E.R., Fodor A.A. et al. Use of culture and molecular analysis to determine the effect of antibiotic treatment on

- microbial community diversity and abundance during exacerbation in patients with cystic fibrosis. *Thorax*. 2011 Jul;66(7):579–84. doi: 10.1136/thx.2010.137281.
14. Zemanick E.T., Harris J.K., Wagner B.D. et al. Inflammation and airway microbiota during cystic fibrosis pulmonary exacerbations. *PLoS One*. 2013 Apr 30;8(4): e62917. doi: 10.1371/journal.pone.0062917.
 15. Hauser P.M., Bernard T., Greub G., Jaton K., Pagni M., Hafen G.M. Microbiota present in cystic fibrosis lungs as revealed by whole genome sequencing. *PLoS One*. 2014 Mar 5;9(3): e90934. doi: 10.1371/journal.pone.0090934.
 16. Carmody L.A., Caverly L.J., Foster B.K. et al. Fluctuations in airway bacterial communities associated with clinical states and disease stages in cystic fibrosis. *PLoS One*. 2018 Mar 9;13(3): e0194060. doi: 10.1371/journal.pone.0194060.
 17. Flynn J.M., Niccum D., Dunitz J.M., Hunter R.C. Evidence and Role for Bacterial Mucin Degradation in Cystic Fibrosis Airway Disease. *PLoS Pathog*. 2016 Aug 22;12(8): e1005846. doi: 10.1371/journal.ppat.1005846.
 18. Sherrard L.J., McGrath S.J., McIlreavey L. et al. Production of extended-spectrum β -lactamases and the potential indirect pathogenic role of *Prevotella* isolates from the cystic fibrosis respiratory microbiota. *Int J Antimicrob Agents*. 2016 Feb;47(2):140–5. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2015.12.004.
 19. Quinn R.A., Whiteson K., Lim Y.W., Salamon P. et al. A Winogradsky-based culture system shows an association between microbial fermentation and cystic fibrosis exacerbation. *ISME J*. 2015 Mar 17;9(4):1052. doi: 10.1038/ismej.2014.266.

QWTPQK

