

# Разнообразие и опасность *Achromobacter* spp., поражающих дыхательные пути больных муковисцидозом

О.Л.Воронина<sup>1</sup>, М.С.Кунда<sup>1</sup>, Н.Н.Рыжова<sup>1</sup>, Е.И.Аксенова<sup>1</sup>, А.Н.Семенов<sup>1</sup>, А.В.Лазарева<sup>2</sup>, С.Ю.Семыкин<sup>3</sup>,  
Е.Л.Амелина<sup>4</sup>, О.И.Симонова<sup>2</sup>, С.А.Красовский<sup>4</sup>, В.Г.Луни<sup>1</sup>, А.А.Баранов<sup>2</sup>, А.Г.Чучалин<sup>4</sup>, А.Л.Гинцбург<sup>1</sup>

1 – ФГБУ "Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи" Минздрава России: 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18;

2 – ФГБНУ "Научный центр здоровья детей" Минздрава России: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр.1;

3 – ФГБУ "Российская детская клиническая больница" Минздрава России: 117997, Москва, Ленинский проспект, 117;

4 – ФГБУ "НИИ пульмонологии" ФМБА России: 105077, Москва, ул. 11-я Парковая, 32, корп. 4

## Резюме

*Achromobacter* spp. как возбудитель внутрибольничных инфекций обратил на себя внимание в последние десятилетия. Особые опасения вызывает рост инфицирования этим микроорганизмом дыхательных путей больных муковисцидозом (МВ). Цель данного исследования заключалась в идентификации *Achromobacter* spp. в расширенной выборке российских больных МВ, генотипировании микроорганизмов в соответствии с международными стандартами и в проведении молекулярно-эпидемиологического анализа ситуации по данному условно-патогенному микроорганизму. Материалами для исследования послужили биологические образцы около 300 больных МВ: мокрота, трахеальный аспират, мазки из зева и штаммы, выделенные из образцов. Метод мультилокусного секвенирования, расширенный дополнительными мишенями, стал основой исследования. **Результаты.** 25 % пациентов, регулярно госпитализируемых в стационары в силу тяжести течения заболевания, инфицированы *Achromobacter* spp. 5 видов: *A. xylosoxidans*, *A. ruhlandii*, *A. marplatensis*, *A. dolens*, *A. pulmonis*, и 1 геномной группы. Преобладающим является вид *A. ruhlandii* (58,5 %). Один из индикаторов лекарственной устойчивости – ген оксациллиназы *bla-OXA* – помогает в дифференциации рода *Achromobacter* и *Burkholderia*, а также ряда видов внутри рода *Achromobacter*. Из 26 выявленных генотипов (sequence type, ST) *Achromobacter* spp. 16 относятся к виду *A. xylosoxidans*, 5 – к *A. ruhlandii*. ST263 специфичен для пациентов Дальневосточного федерального округа. ST261 и 36 – самые многочисленные, ими инфицированы пациенты всех федеральных округов. Хронологический анализ позволил предположить смену генотипа 261 генотипом 36 в конце 1990-х гг. и внутрибольничную вспышку *A. ruhlandii* ST36. В настоящее время 39 % пациентов с *Achromobacter* spp. инфицированы *A. ruhlandii* ST36, трансмиссивность которого доказывают случаи заражения сиблингов и одновременно госпитализированных пациентов. Влияние на функцию дыхания больных МВ наиболее выражено у штаммов *A. ruhlandii* ST261. Для младшей возрастной группы пациентов (1997 г. р. и моложе), инфицированных *A. ruhlandii* ST36, медиана объема форсированного выдоха в 1-ю секунду несколько ниже, чем в старшей возрастной группе больных, зараженных тем же штаммом, что свидетельствует о накоплении *A. ruhlandii* ST36 патогенных свойств в процессе циркуляции в среде пациентов. **Заключение.** Штамм *A. ruhlandii* ST36 по совокупности выявленных свойств может быть признан российским эпидемическим штаммом.

**Ключевые слова:** муковисцидоз, *Achromobacter ruhlandii*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Achromobacter dolens*, *Achromobacter marplatensis*, *Achromobacter pulmonis*, мультилокусное секвенирование, генотип, эпидемический штамм, оксациллиназа.

DOI: 10.18093/0869-0189-2015-25-4-389-401

## Diversity and hazard of respiratory infection of *Achromobacter* spp. in cystic fibrosis patients

О.Л.Воронина<sup>1</sup>, М.С.Кунда<sup>1</sup>, Н.Н.Рыжова<sup>1</sup>, Е.И.Аксенова<sup>1</sup>, А.Н.Семенов<sup>1</sup>, А.В.Лазарева<sup>2</sup>, С.Ю.Семыкин<sup>3</sup>,  
Е.Л.Амелина<sup>4</sup>, О.И.Симонова<sup>2</sup>, С.А.Красовский<sup>4</sup>, В.Г.Луни<sup>1</sup>, А.А.Баранов<sup>2</sup>, А.Г.Чучалин<sup>4</sup>, А.Л.Гинцбург<sup>1</sup>

1 – N.F.Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Healthcare Ministry of Russia: 18, Gamalei str., Moscow, 123098, Russia;

2 – Federal Research Centre of Children's Health, Healthcare Ministry of Russia: 2, build. 1, Lomonosovskiy av., Moscow, 119991, Russia;

3 – Federal Russian Children's Clinical Hospital, Healthcare Ministry of Russia: 117, Leninskiy av., Moscow, 117997, Russia;

4 – Federal Pulmonology Research Institute, Federal Medical and Biological Agency of Russia: 32, build. 4, 11<sup>th</sup> Parkovaya str., Moscow, 105077, Russia

## Summary

**Background and aims.** *Achromobacter* spp., as causative agent of the nosocomial infections, has caught the eye last Decades. The growth of the infecting of the respiratory tract of the cystic fibrosis patients by this microorganism is formidable. The aim of this investigation was the *Achromobacter* spp. identification in expanded cohort of the Russian CF patients, genotyping of the microorganism according to the international standards and molecular-epidemiological analysis of the situation with this opportunistic microorganism. **Methods.** Clinical samples from about 300 patients: sputum, tracheal aspirate, throat swabs and strains, isolated from the samples, were the material for the investigation. Method of the multilocus sequence typing (MLST), extended by the additional targets, was the base for the research. **Results.** 25 percents of the patients routinely hospitalized because of the severity of the disease, were infected by *Achromobacter* spp. of five species: *A. xylosoxidans*, *A. ruhlandii*, *A. marplatensis*, *A. dolens*, *A. pulmonis*, and one genogroup. The species *A. ruhlandii* has dominated (58.5%). One of the drug resistance indicator – oxacillinase gene *bla-OXA* – helps in the differentiation of the genera *Achromobacter* and *Burkholderia*, and also some species in the genus *Achromobacter*. From 26 identified *Achromobacter* spp. genotypes (sequence type, ST) 16 STs relate to the species *A. xylosoxidans*, five – to *A. ruhlandii*. ST263 is specific to the patients from the Far Eastern Federal District. ST261 and 36 are the most numerous: the patients of all Federal Districts are infected by this ST. The chronological analysis allows suggesting the replacement of the genotype 261 by the genotype 36 in the end of the 1990s years and the *A. ruhlandii* ST36 nosocomial outbreak. At present 39% of the patients with *Achromobacter* spp. are infected by *A. ruhlandii* ST36, transmissivity of which is proved the coinfection cases of the siblings and simultaneously hospitalized patients. The influence on the respiratory function of the CF patients was the most expressed for the *A. ruhlandii* ST261strains. For the younger age group (1997 year of birth and younger), infected by *A. ruhlandii* ST36, the median of the FEV<sub>1</sub> was slightly

lower than in older age group, infected by those strain, that can indicate the accumulation of the pathogenic properties by the *A. ruhlandii* ST36 during the circulation between the patients. **Conclusions.** *A. ruhlandii* ST36 strain by the combination of the identified properties may be considered as the Russian epidemic strain.

**Key words:** cystic fibrosis, *Achromobacter ruhlandii*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Achromobacter dolens*, *Achromobacter marplatensis*, *Achromobacter pulmonis*, multilocus sequence typing, genotype, epidemic strain, oxacillinase.

*Achromobacter* – род, относящийся к группе неферментирующих грамотрицательных бактерий, большинство из которых определяются как "появляющиеся" (англ. *emerging*) микроорганизмы. Это микроорганизмы, вызывающие инфекционные заболевания, случаи которых увеличились в последние десятилетия и имеют тенденцию к росту в будущем. Появляющиеся патогенные микроорганизмы подразделяют на 3 категории: 1) новые для человека; 2) известные ранее, но только недавно идентифицированные, как патогенные; 3) давно известные микроорганизмы, но изменившие свойства, например приобретшие множественную лекарственную устойчивость (МЛУ) [1].

По мнению *E. Mahenthiralingam et al.*, около 25 % больных муковисцидозом (МВ) инфицированы микроорганизмами этой группы [2].

Род *Achromobacter* (Kingdom: bacteria; Phylum: Proteobacteria; Class:  $\beta$ -Proteobacteria; Order: Burkholderiales; Family: Alcaligenaceae; Genus: *Achromobacter*) относится к появляющимся микроорганизмам, прежде всего по причине сложности его таксономической судьбы. Самый известный вид рода *Achromobacter* – *A. xylosoxidans* – был открыт в 1971 г. К нему были отнесены изоляты, выделенные из отделяемого из уха пациента с отитом [3]. Однако в 1978 г. род *Achromobacter* был аннулирован, поскольку типовой вид *Achromobacter liquefaciens*, ранее представлявший этот род, был утрачен. Новый самостоятельный род *Achromobacter* был утвержден в 1981 г., и *A. xylosoxidans* был признан типовым видом для этого рода (*E. Yabuuchi, I. Yano*, 1981) [4]. К этому времени *A. xylosoxidans* был известен как условно-патогенный микроорганизм, устойчивый к  $\beta$ -лактамам, аминогликозидам и хлоргексидинсодержащим дезинфектантам. Накопились данные о выделении *A. xylosoxidans* из крови, спинальной, перитонеальной и плевральной жидкостей, гноя, мочи, мазков из глаза, уха, зева, нестерильной дистиллированной воды и растворов хлоргексидина [4]. Однако в 1984 г. *K. Kersters* и *J. De Ley* *A. xylosoxidans* был перемещен из самостоятельного рода в род *Alcaligenes* [5].

Другой известный в настоящее время вид рода *Achromobacter* – *A. ruhlandii* – был описан в 1934 г. *A. Ruhland* и назван *Knallgasbakterien*; в 1955 г. переименован *L. Packer* и *W. Vishniac* в *Hydrogenomonas ruhlandii*, в 1969 г. *D.H. Davis et al.* – в *Pseudomonas ruhlandii* [6], а в 1977 г. *M. Aragno* и *H.G. Schlegel* перемещен в род *Alcaligenes* [7].

В сложностях таксономии помогли разобраться молекулярно-генетические методы. В 1998 г. на основании анализа последовательности гена *16S rDNA* и GC состава ДНК (различие между родами *Achro-*

*mobacter* и *Alcaligenes* составило 10 %), *A. xylosoxidans*, *A. ruhlandii*, *A. piechaudii* были перемещены в род *Achromobacter* (*E. Yabuuchi et al.*, 1998) [8].

Вид *A. marplatensis* был введен *M. Gomila et al.* в 2011 г. [9], *A. dolens* – *P. Vandamme et al.* в 2013 г. [10], *A. pulmonis* – *P. Vandamme et al.* в 2013 г. [11].

В настоящее время род *Achromobacter* насчитывает 16 видов [12]. Типовые штаммы для 11 из них выделены из клинических образцов.

Вторая причина отнесения *Achromobacter* к группе появляющихся микроорганизмов – сложность идентификации с помощью фенотипических методов. Особенно сложно идентифицировать ранние (48 ч) культуры; для них возможна ложная идентификация как *Bordetella*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*. Увеличение времени культивирования до 72 ч снижает риск мисс-идентификации [13]. Применение методов молекулярной генетики и масс-спектрометрии способствует увеличению точности и сокращению времени идентификации микроорганизмов рода *Achromobacter*.

В целом микроорганизмы рода *Achromobacter* полностью отвечают определению "появляющихся". В отношении больных МВ первое упоминание этого микроорганизма относится к 1985 г. (*J. Klinger et al.*) [14]. Исследование изолятов, выделенных в 1981–1982 гг. от пациентов госпиталей Кливленда (США), показало, что 1,4 % пациентов с МВ в возрасте от нескольких дней до 43 лет были инфицированы *A. xylosoxidans*. Исследователи отмечали широкую лекарственную устойчивость выделенных штаммов. В дальнейшем в США *Achromobacter* уделялось более пристальное внимание, чем в европейских странах. Так, уже с 1995 г. в США *A. xylosoxidans* упоминается в отчетах Национального регистра больных МВ. Процент больных МВ, инфицированных этим микроорганизмом, по данным отчетов, возрос с 1,9 % в 1996 до 5,5 % в 2013 г. [15]. В 1990-х гг. применение молекулярно-генетических методов, а именно анализа фрагментов рестрикции ДНК с помощью пульс-электрофореза, позволило сравнить штаммы пациентов. Если в 1995 г. в детской клинике Техаса у пациентов как с МВ, так и с иным заболеванием, подвергавшихся интубации, штаммы *A. xylosoxidans* были индивидуальными [16], то в 2001 г. в 5 из 7 центров для больных МВ были выявлены пары пациентов с одинаковыми, по данным пульс-электрофореза, штаммами *A. xylosoxidans* [17]. При решении вопроса дифференциации штаммов *A. xylosoxidans* стало очевидным, что и другие виды рода участвуют в инфицировании пациентов. Появилась потребность в подходе, различающем столь близкородственные виды. В 2012 г.

сотрудниками Гентского (Бельгия) и Мичиганского (США) университетов была опубликована схема мультилокусного секвенирования (Multi Locus Sequence Typing, MLST) для *Achromobacter spp.* [18]. Видовая идентификация представителей рода *Achromobacter* преимущественно основывалась на последовательности фрагмента 765 п. н. гена *nrDA*. Применение MLST при анализе штаммов 341 пациента с МВ в США позволило установить состав представителей рода *Achromobacter*, инфицирующих дыхательные пути больных МВ в этой стране. *A. xylosoxidans* составил 42,0 %, *A. ruhlandii* – 23,5 %, новая генотиповая группа – 14,0–17,0 %, 11 остальных видов и генотипов – 17,5 %. Вид *A. marplatensis* идентифицирован не был [19]. Применение схемы MLST способствовало выявлению штаммов новых генотипов (sequence type, ST), часть из которых зарегистрированы как новые виды [10, 11].

В настоящее время в базе данных *Achromobacter* MLST [20] представлены 15 видов, за исключением самого последнего по времени регистрации – *A. sedimentum* [21]. Помимо известных видов в базе данных есть кандидаты в новые виды, названные пока "other" и / или по номеру геномной группы (genogroup): 1, 3, 8, 9, 12, 13, 16–20; Из изолятов базы 94,1 % выделены от больных МВ (76,5 %) и от пациентов с другими (не-МВ) заболеваниями (17,6 %). Среди изолятов чаще всего встречаются представители видов *A. xylosoxidans* (40,3 %), *A. ruhlandii* (17,6 %), *A. insuavis* (12,6 %), *A. dolens* (10,9 %).

База данных содержит информацию об изолятах из 14 стран. Больше всего данных из США (62,6 %), поскольку они послужили основой разработки схемы MLST. Такие европейские страны, как Бельгия, Франция, Испания, Россия, Великобритания, представлены 7,5–3,5 % изолятов, Ирландия, Италия, Швеция – единичными штаммами; страны Южной Америки: Бразилия, Аргентина – 1,7 и 1,3 %, страны Азии: Япония и Таиланд – 0,5 и 2,2 %.

Однако база данных *Achromobacter* MLST только начала пополняться информацией. В отчетах Национальных регистров больных МВ не всегда уделяется внимание этому микроорганизму, поэтому максимально объективное представление об уровне инфицирования *Achromobacter spp.* могут предоставить научные публикации.

Если в США внимание к *A. xylosoxidans* у больных МВ было связано с тем, что, по наблюдениям врачей в 1990-х гг., колонизация дыхательных путей пациентов *A. xylosoxidans* сопровождалась обострением легочной симптоматики [16], то в Великобритании врачи не отмечали существенного ухудшения функции легких при хронической колонизации *A. xylosoxidans* [22]. Возможно, поэтому данные об *Achromobacter* отсутствуют в ежегодном отчете Европейского регистра больных МВ и в отчетах Национальных регистров Великобритании, Бельгии, Германии. Однако во Франции *A. xylosoxidans* входит в список регистрируемых микроорганизмов. В ежегодном отчете Национального регистра в 2013 г. отмечен рост инфицирования *A. xylosoxidans* до 5,7 %

(с 2,7 % в 2001 г.) [23]. В то же время, по данным публикаций, во Франции отмечен рост инфицирования *A. xylosoxidans* дыхательных путей больных МВ с 6,7 % в 1994–1995 гг. [24] до 13,7 % в 2010 г. [25]. О росте инфицирования *Achromobacter spp.* свидетельствуют данные и других стран. Например, в Италии в 2004–2007 гг. выявлено 8,8 % инфицированных [26], в выборке 2008–2010 гг. – 16,0 % [27], 2004–2008 гг. – 17,6 % [28]. В Дании отмечен рост с 5,2 % в 2000 до 11,4 % в 2011 [29]. В Германии уже в 2000 г. доля инфицированных составила 7,5 % [30], тогда как в Испании их доля оказалась ниже всех остальных стран Европы и в выборке 2002–2012 гг. составила 5,6 % [31], в то же время в Греции в 2004 г. доля была самой высокой – 12,7 % [32]. Однако в 2007 г. показатель инфицирования в Бельгии превысил все остальные страны Европы – 17,9 % [33].

Проведенный в последние годы в странах Южной Америки ретроспективный анализ образцов от пациентов с МВ также выявил инфицирование *Achromobacter spp.* В Аргентине доля *Achromobacter spp.* среди неферментирующих грамотрицательных бактерий, за исключением *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*, составляла 6,6 % [34], т. е. среди всех микроорганизмов, инфицирующих дыхательные пути больных МВ, доля *Achromobacter spp.* ниже, чем в других странах. Самый высокий показатель по инфицированию *A. xylosoxidans* отмечен в Бразилии – 21,0 %, причем основной вклад вносят пациенты детского возраста, среди них инфицированных – 23,9 %, а среди взрослых (18 лет и старше) – 16,3 % [35].

Видовая идентификация *Achromobacter spp.* пока упоминается в небольшом числе исследований. Во Франции в Центре МВ университетской клиники в Монпелье среди 3 выявленных видов: *A. xylosoxidans*, *A. dolens*, *A. insuavis*, первый составил 77 % [36]. В Аргентине 82 % изолятов были идентифицированы как *A. xylosoxidans*, 18 % – *A. ruhlandii* (ST43 и ST148) [37]. В Дании *A. xylosoxidans* составил 38 % всех изолятов, *A. insolitus* и *A. ruhlandii* были представлены единичными штаммами [29]. В Испании у изолятов *Achromobacter spp.* также преобладал *A. xylosoxidans* (71,4 %), но были выявлены также представители геномных групп 2a, 2b, 7, 14, 17 [31].

Контроль за *Achromobacter spp.* позволил зафиксировать внутрибольничные вспышки инфекции, вызванной этим микроорганизмом: в Греции в 2004 г. [32], в Италии в 2008–2010 [27], в Бельгии в 2007 (у 9 из 13 пациентов генотип штамма *A. xylosoxidans* был одинаковым) [33], в Дании в 2005–2009 гг. [38].

Вспышка в Дании заслуживает особого внимания, поскольку ее расследование показало, что инфицированы были пациенты 2 центров МВ: в Копенгагене и Орхусе. Выделенный штамм получил название "датского эпидемического" (Danish epidemic strain, DES) и зарегистрирован как *A. ruhlandii* A83/DSM25711. Политика изоляции инфицированных пациентов дала свои результаты в клиниках, но из-за социальных контактов между инфицирован-

ными и неинфицированными больными МВ распространение DES продолжалось и в 2011 г. [39].

Таким образом, можно говорить о трансмиссивности определенных штаммов *Achromobacter spp.*, о чем, прежде всего, свидетельствовали данные об идентичности штаммов, выделенных от сиблингов [13, 35]. Следующим доказательством трансмиссивности является выделение штаммов одинаковых генотипов от больных МВ и не-МВ. Например, в Испании, в клинике Мадрида, штаммы *A. xylosoxidans* (ST27) и геномной группы 7 (ST152) были выделены в обеих группах пациентов [31].

Следует отметить, что в последние годы особое опасение вызывает увеличение случаев инфицирования *Achromobacter spp.* также пациентов с синдромом Картагенера [27] и бронхоэктазами [40].

Отдельного внимания заслуживает ситуация с инфицированием *Achromobacter spp.* трансплантированных легких. Исследования в Университете Северной Каролины (США), включавшие 186 пациентов, прооперированных с 1999 по 2013 гг., показали, что в случае инфицирования собственных легких пациента штаммами *Achromobacter spp.*, устойчивыми ко всему ряду антибиотиков (т. н. панрезистентными), в 100 % случаев наблюдался рецидив инфекции и в новых легких. Если штаммы пациентов характеризовались МЛУ, рецидив отмечали в 33 % случаев. Эти показатели существенно выше, чем для *Stenotrophomonas maltophilia* (20 % — панрезистентные; 46 % — с МЛУ) [41].

Устойчивость *Achromobacter spp.* к антимикробным препаратам обращала на себя внимание с момента выделения первого штамма [3]. Исследования ферментов —  $\beta$ -лактамаз, выделенных из штаммов *Achromobacter*, начались в 1980-е гг. [42], однако гены, кодирующие эти белки, были проанализированы только в 2008 г. [43] для *A. xylosoxidans*, в 2011 г. — для *A. ruhlandii* [37], в 2014 г. — для *A. dolens* и *A. insuavis* [34]. Особый интерес вызвали оксациллиназы —  $\beta$ -лактамазы класса D. Гены *blaOXA*, кодирующие оксациллиназы, различаются у  $\gamma$ - и  $\beta$ -Proteobacteria, а также позволяют отличать род *Achromobacter* от рода *Burkholderia* и некоторые виды внутри рода *Achromobacter*. Например, аминокислотная последовательность оксациллиназы OXA-114 *A. xylosoxidans* имеет 37 % сходства с OXA-9 *Klebsiella pneumoniae* и OXA-18 *Pseudomonas aeruginosa*; 50 % сходства с OXA *Burkholderia cenocepacia* и *Delftia acidovorans* (семейство Comamonadaceae также в порядке Burkholderiales) [43]; 85 % сходства с OXA-258 *A. ruhlandii* [37]. Сходство между OXA-243а *A. insuavis* и OXA-364 *A. dolens* составляет 90 % [34]. Таким образом, гены *blaOXA* не только служат маркерами устойчивости к антимикробным препаратам, но и позволяют дифференцировать *Burkholderia* и *Achromobacter*.

В России выявление *Achromobacter spp.* с помощью молекулярно-генетических методов началось в конце 2012 г., когда уже был накоплен опыт анализа *Burkholderia cepacia complex* (Всс) с помощью MLST [44]. Мишени *recA* и *gltB* стали ключевыми в дифференциальной диагностике *Achromobacter spp.*

и Всс [45]. Анализ последовательностей фрагмента *gltB Achromobacter spp.*, амплифицируемого с праймерами схемы MLST для Всс, показал, что эта мишень позволяет различать генотипы *Achromobacter spp.*, которых в середине 2014 г. было выявлено уже 15 [46]. Накопление данных о генотипах *Achromobacter spp.* позволило заключить, что 2 генотипа чаще всего встречаются у больных МВ. Однако полученные нами данные необходимо было включить в международный контекст, согласно новой схеме MLST для *Achromobacter spp.* Кроме того, предстояло выяснить на расширенной выборке пациентов, сохраняют ли 2 генотипа *Achromobacter spp.* лидирующие позиции в настоящее время. Вопросам идентификации *Achromobacter spp.* и молекулярно-эпидемиологическому анализу ситуации по данному условно-патогенному микроорганизму среди российских пациентов с МВ посвящено настоящее исследование.

## Материалы и методы

### Биологические образцы и культуры микроорганизмов.

Пациенты 1949–2013 г. р. с диагнозом МВ ( $n \approx 300$ ) были обследованы на наличие условно-патогенных микроорганизмов в образцах мокроты, трахеального аспирата, мазков из зева. Пациенты проходили лечение в ФГБУ "НИИ пульмонологии" ФМБА России, ФГБНУ "Научный центр здоровья детей" Минздрава России, ФГБУ "Российская детская клиническая больница" Минздрава России, ГУЗ Ярославской области "Детская клиническая больница № 1" и в Краевой детской консультативной поликлинике Владивостока. 64 % выборки составили взрослые (18 лет и старше); 36 % — дети (медиана возраста — 20 лет, среднее значение — 20,8 года). В анализе были использованы как непосредственно биологические образцы, так и культуры микроорганизмов, выделенные из них. В исследование также была включена группа пациентов с врожденным пороком развития легких, бронхоэктазами, аспергиллезом легких или подвергавшихся искусственной вентиляции легких, из перечисленных стационаров, а также из НИИ скорой помощи им. Н.В.Склифосовского.

**Выделение и анализ культур микроорганизмов.** Образцы мокроты перед посевом разводили 0,9%-ным раствором натрия хлорида в соотношении 1 : 10. Подготовленный биоматериал (мокрота и трахеальный аспират) гомогенизировали механическим способом с помощью стеклянных бус. Посев мокроты и трахеального аспирата осуществляли полуколичественным методом с помощью калибровочной петли (5 мм) на питательные среды: кровяной агар с 3%-ным содержанием лошадиной сыворотки, "шоколадный" агар с добавлением никотинамидадениндинуклеотида до содержания 10 мкг / мл и Сабура-агар. Идентификацию культур микроорганизмов проводили с помощью анализатора VITEK 2 Compact (bioMérieux, Франция), а также масс-спектрометра MicroFlex (Bruker, Германия).

Масс-спектрометрию выполняли по технологии времяпролетной регистрации масс-спектров, полу-

ченных при помощи матрично-активированной лазерной десорбции / ионизации пептидов образца, — MALDI / TOF (*Matrix-Assisted Laser Desorption / Ionization, Time-Of-Flight*). Каждый образец тестировали в двукратной повторности, снимая спектры в автоматическом режиме (режим детекции — MBT-FC) в диапазоне 2–20 кДа. Для каждого образца получали 240 спектров. Степень достоверности идентификации оценивали по полученным значениям Score. Случаи со Score < 1,7 рассматривали как недостоверные и не учитывали.

Чувствительность к антибиотикам у выделенных микроорганизмов определяли на анализаторе VITEK 2 Compact (*bioMerieux*, Франция) и диско-диффузионным методом на среде Мюллера–Хинтона. Минимальную подавляющую концентрацию меропенема и имипенема определяли с помощью E-тестов (*BioMerieux*). Результаты интерпретировали согласно стандартам МУК 4.2 1890-04 [47], а также по критериям EUCAST 2014 (*The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) [48].

**Выделение ДНК.** Лизис клеток культур микроорганизмов проводили, как описано ранее [44]. ДНК из образцов мокроты и аспирата больных МВ выделяли согласно инструкции к набору реактивов The Maxwell 16 Tissue DNA Purification Kit на приборе Maxwell MDX Instrument (*Promega*, США).

**Идентификацию микроорганизмов** в биологическом образце проводили на основе амплификации и секвенирования фрагментов генов *16S rDNA* [46], *tuf* (фактора элонгации) [49]. Для идентификации представителей порядка Burkholderiales использовали гены *gltB*, *gyrB*, проводя амплификацию и секвенирование ДНК с праймерами, предложенными для MLST Всс [50] по методике с нашими модификациями [44]. Последовательности гена *gltB* использовали в определении генотипов *Achromobacter spp.* [46], которые нумеровали в порядке выявления, с обязательной регистрацией в GenBank.

**MLST *Achromobacter spp.*** выполняли по протоколу *T.Spilker et al.* [18], что позволяло определить генотип согласно международной схеме, а также вид на основе секвенирования гена *nrDA*.

**Выявление гена оксациллиназы *bla-OXA*** проводили с помощью амплификации ДНК образца с праймерами, предложенными *Y.Doï et al.* [43] и *J.Turton et al.* [51]. Аллельный вариант гена *bla-OXA* идентифицировали посредством сравнения полученной нуклеотидной последовательности с данными базы CBMAR (*Comprehensive Beta-lactamase Molecular Annotation Resource*) [52].

**Секвенирование продуктов ПЦР** выполняли согласно протоколу к набору BigDye Terminator 3.1 Cycle Sequencing kit на геномном анализаторе Genetic Analyzer 3130 (*Applied Biosystems / Hitachi*, США). Электрофоретическое разделение продуктов реакции проводили в капиллярах длиной 50 см с использованием полимера POP7.

**Анализ последовательностей и выравнивание** выполняли с помощью программы CLUSTALW2 [53]. Идентификацию последовательностей генов *16S rDNA*

и *tuf* микроорганизмов проводили с применением геномной и программной базы BLAST. Для определения аллельного профиля *Achromobacter spp.* использовали программную базу сайта [54]. Новые аллели, генотипы (ST), типированные штаммы направляли для контроля и регистрации куратору *Achromobacter MLST Databases T.Spilker* (Мичиганский университет, США).

## Результаты и обсуждение

Начало изучению разнообразия бактерий порядка Burkholderiales, инфицирующих дыхательные пути российских больных МВ, положило исследование Всс с помощью MLST [44]. В ряду выявленных *B. cenocepacia*, *B. multivorans*, *B. contaminans*, *B. vietnamiensis*, *Pandoraea pnomenus*, *Variovorax paradoxus*, *Lautropia mirabilis* [46] *Achromobacter spp.* занимает особое место после Всс. Прежде всего, как показал анализ расширенной выборки пациентов, регулярно госпитализируемых в силу тяжести течения заболевания, 25 % из них инфицированы *Achromobacter spp.* При исследовании образцов отдельных пациентов с бронхоэктазами, врожденным пороком развития легких также выявлено наличие *Achromobacter spp.* Доказательством внутрибольничного распространения *Achromobacter spp.* служат примеры обнаружения этого микроорганизма в плевральной жидкости прооперированного пациента с аспергиллемой легких, а также в смывах с трубок аппарата искусственной вентиляции легких.

Рассмотрим подробнее выборку пациентов, инфицированных *Achromobacter spp.* Возрастной диапазон в этой группе совпадает с возрастным диапазоном выборки в целом (1949–2013 г. р.). При этом средний возраст пациентов составил 20,6 года, а медиана — 20 лет, что практически совпадает с показателями всей выборки: (медиана возраста — 20 лет, среднее значение — 20,8 года). Таким образом, пациенты любого возраста подвержены заражению *Achromobacter spp.*

**Молекулярно-генетический анализ *Achromobacter spp.*** на основе секвенирования гена *gltB* показал высокое разнообразие генотипов. 26 выявленных генотипов (аллелей) были зарегистрированы в GenBank

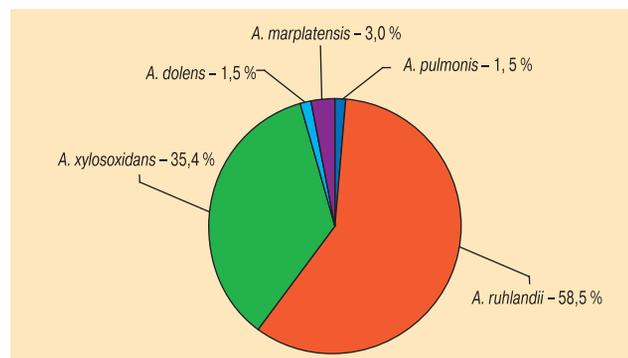


Рис. 1. Видовое разнообразие *Achromobacter spp.* у российских больных МВ  
Figure 1. *Achromobacter spp.* diversity in the Russian population of CF patients

Таблица  
Генотипы *Achromobacter spp.*, выявленные у российских пациентов  
Table  
*Achromobacter spp. genotypes identified in Russian CF patients*

Образец	Год генотипирования	Вид микроорганизма	Achromobacter MLST database		GenBank		GenBank	
			ST	id	Bcc_gltB Allele	Accession Number	bla-OXA Allele	Accession Number
RK6	2014	<i>A. dolens</i>	54	605	17	KP765443	bla-OXA-364	KR869118
25	2013	<i>A. marplatensis</i>	258*	606	4	KF290959	bla-OXA-114	KR869119
RK48	2014	<i>A. marplatensis</i>	268*	607	19	KP765438	bla-OXA-114	KR869120
7P4	2012	<i>A. ruhlandii</i>	261*	608	1	KC817498, KC817499	bla-OXA-258	KR869137
R4	2013	<i>A. ruhlandii</i>	36	609	2	KC817500, KC817501, KC817502	bla-OXA-258	KR869138, KR869139
304	2013	<i>A. ruhlandii</i>	262*	610	6	KFT297891	bla-OXA-258	KR869140
16	2013	<i>A. ruhlandii</i>	263*	611	3	KF290958	no	no
16M	2013	<i>A. ruhlandii</i>	265*	612	11	KF963250	no	no
8N9	2014	<i>A. xylosoxidans</i>	182	613	7	KF963246	bla-OXA-114	KR869122
9P7	2014	<i>A. xylosoxidans</i>	254*	614	20	KP765444	bla-OXA-114	KR869132
RK2	2014	<i>A. xylosoxidans</i>	259*	615	21	KP765439	bla-OXA-114	KR869133
7P7	2014	<i>A. xylosoxidans</i>	251*	616	16	KP027420	bla-OXA-114	KR869130
45	2013	<i>A. xylosoxidans</i>	255*	617	10	KF963249	bla-OXA-114	KR869125
RK23	2014	<i>A. xylosoxidans</i>	20	618	22	KP765440	bla-OXA-114	KR869134
RK30	2014	<i>A. xylosoxidans</i>	267*	619	24	KP765442	bla-OXA-114	KR869136
14-2-1	2014	<i>A. xylosoxidans</i>	253*	620	12	KJ364657	bla-OXA-114	KR869126
RK28	2014	<i>A. xylosoxidans</i>	8	621	9	KF963248	bla-OXA-114	KR869124
R5	2014	<i>A. xylosoxidans</i>	211	622	18	KP765437	bla-OXA-114	KR869131
5P5	2014	<i>A. xylosoxidans</i>	264*	623	5	KJ941209	bla-OXA-114	KR869121
6P14	2014	<i>A. xylosoxidans</i>	256*	624	13	KJ439616	bla-OXA-114	KR869127
RK41	2014	<i>A. xylosoxidans</i>	252*	625	15	KM262753	bla-OXA-114	KR869129
6P13	2014	<i>A. xylosoxidans</i>	260*	626	14	KM262752	bla-OXA-114	KR869128
RK26	2014	<i>A. xylosoxidans</i>	266*	627	23	KP765441	bla-OXA-114	KR869135
51	2013	<i>A. xylosoxidans</i>	257*	628	8	KF963247	bla-OXA-114	KR869123
3R2	2015	<i>A. pulmonis</i>	269*	629	25	KP940471	no	no
10P4	2015	<i>Achromobacter spp.</i>	–	–	26	–	bla-OXA-258	KR869141
GIMC4560: Bcn122	2012	<i>B. cenocepacia</i>	Bcc ST 709	1212**	Bcc_11	–	bla-OXA-new-variant	KR869142

Примечание: \* – впервые зарегистрированные генотипы; \*\* – id Bcc MLST database (идентификатор в базе данных Bcc MLST).

Notes: \* – newly registered genotypes; \*\* – ID Bcc MLST database.

(см. таблицу). Аллели 1 и 2 гена *gltB* встречались чаще всего. Анализ *Achromobacter spp.* с помощью MLST подтвердил генетическое разнообразие микроорганизмов и позволил обозначить генотипы в соответствии со значениями международной базы данных [54] (см. таблицу).

**Преимущество использования MLST** в исследовании *Achromobacter spp.* заключается в возможности видовой идентификации микроорганизмов этого рода, которая не достигается ни при использовании MALDI, ни при секвенировании гена *16S rDNA* в силу высокого сходства видов. В нашей выборке, как показал анализ, были представлены *Achromobacter spp.* 5 видов: *A. xylosoxidans*, *A. ruhlandii*, *A. marplatensis*, *A. dolens*, *A. pulmonis* и 1 геномной группы. Как видно из рис. 1, в выборке преобладали представители *A. ruhlandii* (58,5%), значительно опережая следующий по численности вид *A. xylosoxidans* (35,4%). Преобладание *A. ruhlandii* отличает российских больных МВ от пациентов других стран, у которых пре-

имущественно выявляют *A. xylosoxidans*. Следует отметить, что и генотипы *Achromobacter spp.*, детектированные у российских пациентов, в основном были новыми: из 26 генотипов 19 были зарегистрированы впервые (см. таблицу). Из известных ранее были выделены ST8 и ST211 от больных МВ в США и Бельгии соответственно. Штаммы с ST20 обнаруживали как у больных МВ в Испании, так и у пациентов с не-МВ в Японии. ST36, 54 и 182 ранее были отмечены только у больных с не-МВ [54]. Эти данные служат свидетельством возможного нозокомиального источника для штаммов *Achromobacter spp.* определенных генотипов.

**О внутривидовом разнообразии генотипов *Achromobacter spp.*** в рассматриваемой выборке можно говорить в отношении 3 видов: *A. ruhlandii*, *A. xylosoxidans*, *A. marplatensis*, поскольку *A. dolens* и *A. pulmonis* представлены только единичными генотипами. Для вида *A. marplatensis* один генотип отмечен у ребенка, второй у взрослого. Оба пациента из Центрального фе-

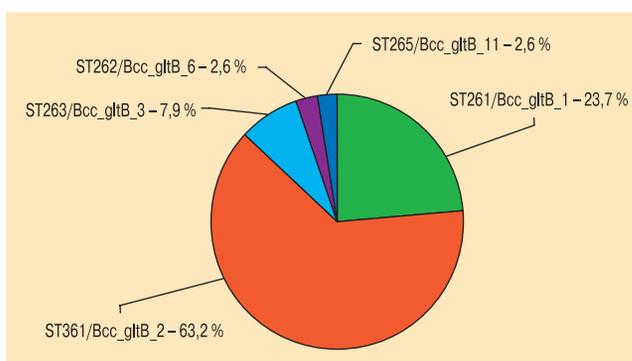


Рис. 2. Разнообразие генотипов наиболее распространенного вида *A. ruhlandii*

Figure 2. Genotype diversity of the most common *A. ruhlandii* species

дерального округа, но из разных областей. Наибольшее разнообразие – 16 генотипов – характеризует вид *A. xylosoxidans*. Генотипы 182, 257, 8, 256, 252, 251 встречаются у нескольких эпидемически не связанных пациентов. Среди повторяющихся генотипов есть те, которые ранее были отмечены у пациентов из других стран. Кроме того, *A. xylosoxidans* ST256 был выявлен у больного с аспергиллемой легких в послеоперационный период, что может свидетельствовать в пользу внутрибольничного происхождения штамма указанного генотипа.

Наиболее представительный в нашей выборке вид *A. ruhlandii*, напротив, отличается небольшим разнообразием генотипов (рис. 2).

Из 5 ST генотипы 262 и 265 выявлены в единичных случаях. Генотип 263 отмечен только у пациентов разных возрастов из Дальневосточного федерального округа, тогда как ST36 и ST261, выявленные у больных МВ всех федеральных округов, преобладают среди генотипов *A. ruhlandii*, составляя 63,2 и 23,7 % соответственно. Эти данные позволяют предположить возможность трансмиссивного рас-

пространения штаммов генотипов 36 и 261, а также наличие внутрибольничной вспышки, послужившей источником множественного инфицирования пациентов.

**Ретроспективное исследование для выявления времени вспышки *Achromobacter spp.*** Поскольку регистрация *Achromobacter spp.* осуществляется только в течение последних 3 лет, было проведено сопоставление годов рождения пациентов и генотипов *Achromobacter spp.*, которыми они инфицированы. На рис. 3 представлена хронология генотипов, обозначенных номерами аллелей гена *gltB* для более удобной визуализации данных. Генотипы *A. ruhlandii* выделены цветом. Показано, что *ST261/gltB1* встречается преимущественно у пациентов старшего возраста и далее, с интервалом в 16 лет, у пациента 2003 г. р. *ST36/gltB2*, напротив, начиная с единичных случаев 1988 и 1990 г. р., далее встречается чаще, с пиком в 1997 г. р., и продолжает регистрироваться до 2013 г. р. Следует отметить, что пациентов, рожденных после 2013 г., пока в анализе не было. Эти данные позволяют предположить время вспышки инфекции в стационаре – конец 1990-х гг.

Для большей обоснованности высказанного предположения был проведен анализ пациентов только тех годов рождения, которые представлены в нашей выборке 10 и более больными МВ. Этому критерию соответствовали 15 лет (годов рождения) (рис. 4). Как видно из рисунка, на 1996–1997 г. р. приходится наибольшая доля ST36; это подтверждает, что именно среди этих пациентов могла быть вспышка инфекции *A. ruhlandii*. Поскольку у 39 % пациентов, инфицированных *Achromobacter spp.*, выявлен *A. ruhlandii* ST36, он может быть признан российским эпидемическим штаммом.

**Трансмиссивность эпидемического штамма.** Характерная для эпидемических штаммов трансмиссивность

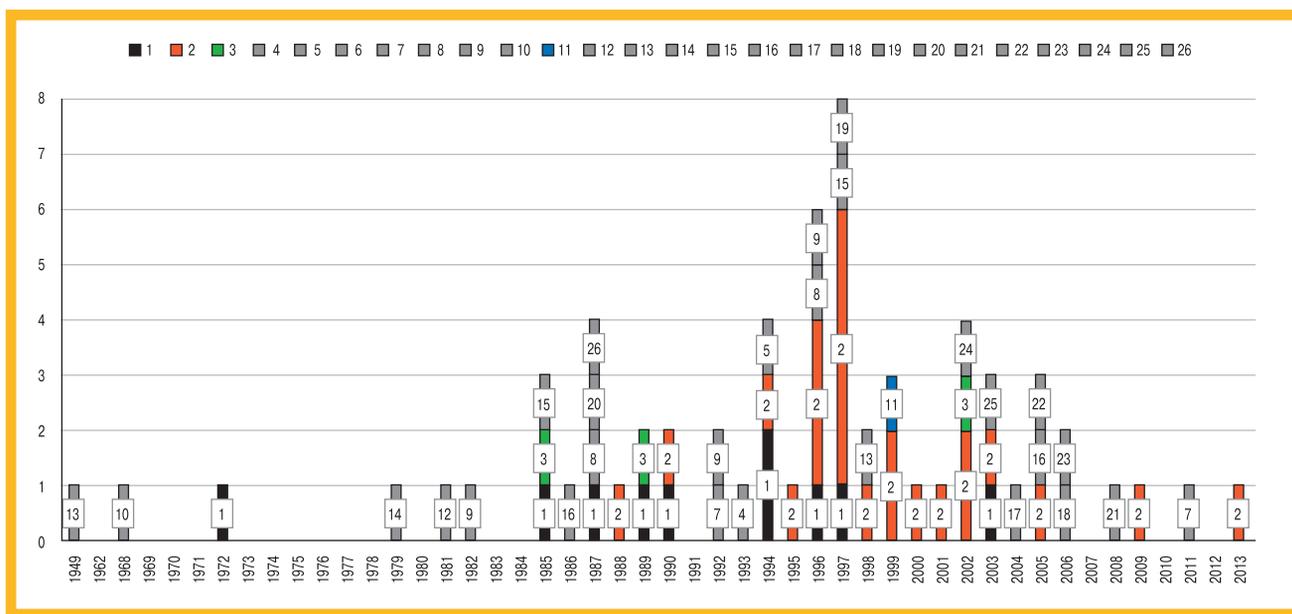


Рис. 3. Частота встречаемости *Achromobacter spp.* выявленных генотипов по годам рождения пациентов

Примечание: 1–3, 11 – генотипы *A. ruhlandii*.

Figure 3. Prevalence of *Achromobacter spp.* genotypes according to the patient's year of birth

Note: 1–3, 11 are *A. ruhlandii* genotypes.

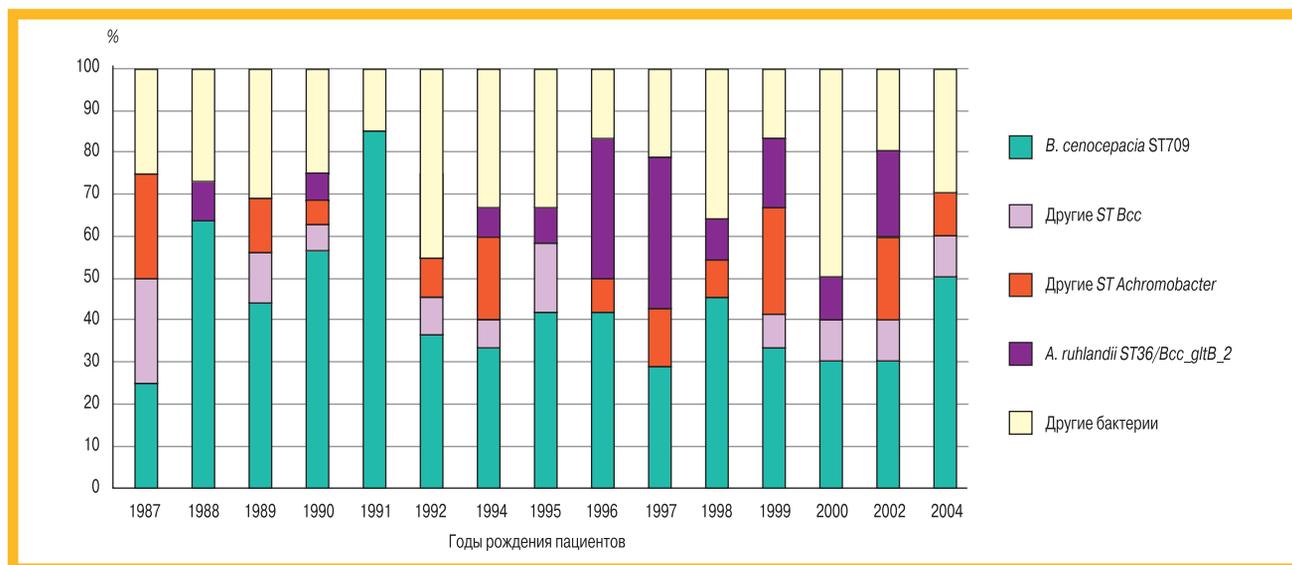


Рис. 4. Доля представителей родов *Achromobacter* и *Burkholderia* у больных МВ проанализированной выборки  
Figure 4. Proportion of *Achromobacter* and *Burkholderia* genera representatives in CF patients

выражена и у *A. ruhlandii* ST 36. Штаммы этого генотипа выделены от сиблингов, больных МВ (разница в возрасте – 6 лет). Следует отметить высокое сходство антибиотикограмм этих штаммов. Кроме того, о трансмиссивности *A. ruhlandii* ST36 свидетельствуют данные многократных в течение срока наблюдения обследований пациентов. Например, пациент, не госпитализировавшийся в детском возрасте, прошедший тестирование в 2013 г., был инфицирован в тот момент эпидемическим штаммом *B. cenocepacia* ST709, а через 1 год, помимо Bcc, у пациента был детектирован *A. ruhlandii* ST36. Повторные обследования пациентов с указанным штаммом показывают, что штамм стабильно сохраняется в дыхательных путях и не подвергается эрадикации посредством доступных лекарственных препаратов.

**Хронизация инфекции *Achromobacter spp.*** Небольшой по длительности период наблюдения пациентов в отношении *Achromobacter spp.* тем не менее позволил провести многократные обследования ряда пациентов в интервале 10 мес. – 2,5 года, что разрешает констатировать хронизацию инфекции. Хроническим можно признать инфицирование штаммами *A. ruhlandii* ST36, *A. ruhlandii* ST261, *A. xylosoxidans* ST258, *A. xylosoxidans* ST264.

В отношении *A. xylosoxidans* было отмечено коинфицирование пациента детского возраста штаммами 2 генотипов: 211 и 266. Коконизацию больного МВ штаммами *Achromobacter spp.* разных генотипов отмечали также *L. Amoureux et al.* [55].

#### Лекарственная устойчивость *Achromobacter spp.*

Несмотря на МЛУ *Achromobacter spp.* в целом, антибиотикограммы разных видов могут несколько отличаться, что послужило основой для поиска дополнительной мишени в видовой идентификации. Прежде всего, в идентификации используют определение варианта гена *bla-OXA*, кодирующего оксациллиназу, как отмечалось выше. Мы определили аллель *bla-OXA* у представителей выявленных 26 генотипов *Achromobacter spp.*

Данные, представленные в таблице, показывают, что для всех генотипов *A. xylosoxidans* были характерны варианты *bla-OXA*-114. Генотипы вида *A. marplatensis*, наиболее филогенетически близкого *A. xylosoxidans*, также несли *bla-OXA*-114. Не у всех генотипов вида *A. ruhlandii* был обнаружен ген *bla-OXA* при описанных условиях амплификации. Ген не выявлен у ST263 и 265, тогда как ST36, 261, 262 несут варианты *bla-OXA*-258. Такой же вариант гена оксациллиназы характерен и для генотипа *gltB26*, относящегося пока к геномной группе. Свой вариант *bla-OXA*-364 определен у генотипа *A. dolens*. Наконец, у *A. pulmonis* *bla-OXA* также не обнаружен. Таким образом, наиболее опасные для российских больных МВ *A. ruhlandii* ST36 и ST261 можно отличить по варианту гена *bla-OXA*.

**Влияние *A. ruhlandii* на функциональные показатели больных МВ.** Для определения влияния *A. ruhlandii* ST36 и ST261 на функциональные показатели больных МВ сравнивали стандартно используемые параметры – индекс массы тела (ИМТ) и объем форсированного выдоха за 1-ю секунду (ОФВ<sub>1</sub>) у групп больных, инфицированных разными видами *Achromobacter spp.* В силу малочисленности групп из анализа были исключены пациенты, инфицированные *A. marplatensis*, *A. dolens*, *A. pulmonis*. Пациенты с *A. xylosoxidans* были объединены в одну группу. Таким образом, первоначально группу больных МВ, инфицированных *A. ruhlandii*, сравнивали с группой, инфицированных *A. xylosoxidans*. Затем в группе пациентов с *A. ruhlandii* выделяли подгруппу с *A. ruhlandii* ST36 и подгруппу с *A. ruhlandii* ST261. ИМТ в группах и подгруппах не отличался. Медиана значений составила 16,0 для группы *A. ruhlandii* и подгрупп внутри группы и 16,6 – для группы *A. xylosoxidans*.

Для ОФВ<sub>1</sub> также оценивали медиану значений, которая была ниже в группе *A. ruhlandii* – 46,0, чем в группе *A. xylosoxidans* – 58,8. После оценки медианы ОФВ<sub>1</sub> в подгруппах *A. ruhlandii*: ST261 – 27,0;

ST36 – 57,0, стало очевидно, что основной вклад в снижение показателя ОФВ<sub>1</sub> для группы *A. ruhlandii* вносит подгруппа ST261. Поскольку средний возраст пациентов этой подгруппы выше, чем в подгруппе ST36, сравнили выборки одинаковых по возрасту пациентов из обеих подгрупп. Таких пациентов оказалось по 7 в каждой подгруппе (1996 г. р. и старше). Медиана ОФВ<sub>1</sub> для выделенной подгруппы ST261 составила 24,8, для ST36 – 58,0. Таким образом, в подгруппе *A. ruhlandii* ST261 функция дыхания у пациентов с МВ значительно снижена по сравнению с другими пациентами. В то же время в подгруппе *A. ruhlandii* ST36 у пациентов 1997 г. р. и младше медиана ОФВ<sub>1</sub> оказалась несколько ниже (51,0), чем в старшей выделенной подгруппе. Эти данные могут свидетельствовать о накоплении патогенных свойств эпидемическим штаммом в процессе циркуляции, что приводит к более негативному воздействию на функцию дыхания пациентов, инфицированных штаммом, прошедшим несколько пассажей в организме старших больных.

## Заключение

Анализ расширенной выборки больных МВ показал, что *Achromobacter spp.* заслуживает особого внимания, поскольку 25 % пациентов, регулярно госпитализируемых в стационары в силу тяжести течения заболевания, инфицированы этим условно-патогенным микроорганизмом. *Achromobacter spp.* у российских пациентов представлен 5 видами: *A. xylosoxidans*, *A. ruhlandii*, *A. marplatensis*, *A. dolens*, *A. pulmonis*, и 1 геномной группой. Преобладающим является вид *A. ruhlandii*, обнаруженный у 58,5 % пациентов, инфицированных *Achromobacter spp.*

Из 26 выявленных генотипов 16 относятся к виду *A. xylosoxidans*, что свидетельствует о случайности заражения этим видом *Achromobacter spp.* Повторяющиеся генотипы *A. xylosoxidans* зафиксированы у эпидемически не связанных пациентов.

Пять генотипов многочисленного вида *A. ruhlandii* привлекают особое внимание. ST263 специфичен для пациентов Дальневосточного федерального округа. Ранее дальневосточные генотипы были выявлены и для Всс [56]. ST261 и 36 – самые многочисленные, ими инфицированы пациенты всех федеральных округов. Хронологический анализ позволяет предположить смену генотипа 261 генотипом 36 в конце 1990-х гг., поскольку ST261 преимущественно инфицированы пациенты более старшей возрастной группы, а последний случай заражения штаммом этого генотипа связан с пациентом 2003 г. р. Генотип 36 в настоящее время обнаружен у 39 % пациентов с *Achromobacter spp.*, продолжает выявляться у больных МВ 2013 г. р. – самых младших из взятых в анализ. Таким образом, штамм генотипа 36 может быть признан российским эпидемическим штаммом.

Множественная лекарственная устойчивость *Achromobacter spp.* определяется, в т. ч. многочисленными генами β-лактамаз, один из которых – *bla-OXA*,

может служить мишенью для дифференциации рода *Achromobacter* и *Burkholderia*, а также ряда видов внутри рода *Achromobacter*.

Влияние на функцию дыхания больных МВ наиболее выражено у штаммов *A. ruhlandii* генотипа 261. В младшей возрастной группе пациентов (1997 г. р. и младше), инфицированных *A. ruhlandii* ST36, медиана ОФВ<sub>1</sub> несколько ниже, чем в старшей возрастной группе больных, зараженных тем же штаммом, что позволяет предположить накопление *A. ruhlandii* ST36 патогенных свойств в процессе циркуляции в среде пациентов.

Таким образом, эпидемический штамм *A. ruhlandii* ST 36 требует особого внимания у больных МВ.

## Литература

1. Woolhouse M.E. Population biology of emerging and re-emerging pathogens. *Trends Microbiol.* 2002; 10 (10, Suppl.): S3–S7.
2. Mahenthiralingam E. Emerging cystic fibrosis pathogens and the microbiome. *Paediatr. Respir. Rev.* 2014; 15 (Suppl. 1): 13–15. DOI: 10.1016/j.prrv.2014.04.006.
3. Yabuuchi E., Ohya A. *Achromobacter xylosoxidans* n. sp. from human ear discharge. *Jpn. J. Microbiol.* 1971; 15: 477–481.
4. Yabuuchi E., Yano I. *Achromobacter* gen. nov. and *Achromobacter xylosoxidans* (ex Yabuuchi and Ohya 1971) norn. rev. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1981; 31 (4): 477–478.
5. Kersters K., De Ley J. Genus *Alcaligenes* Castellani and Chalmers. 1919; 936: 365. In: Krieg N.R., Holt V., eds. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Baltimore / London: *Williams & Wilkins Co*; 1984. Vol. 1.
6. Davis D.H., Doudoroff M., Stanier R.Y., Mandel M. Proposal to reject the genus *Hydrogenomonas*. Taxonomic implications. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1969; 19: 375–390.
7. Arago M., Schlegel H.G. *Alcaligenes ruhlandii* (Packer and Vishniac) comb. nov., a peritrichous hydrogen bacterium previously assigned to *Pseudomonas*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1977; 27: 279–281.
8. Yabuuchi E., Kawamura Y., Kosako Y., Ezaki T. Emendation of genus *Achromobacter* and *Achromobacter xylosoxidans* (Yabuuchi and Yano) and proposal of *Achromobacter ruhlandii* (Packer and Vishniac) comb. nov., *Achromobacter piechaudii* (Kiredjian et al.) comb. nov., and *Achromobacter xylosoxidans* subsp. *denitrificans* (Rüger and Tan) comb. nov. *Microbiol. Immunol.* 1998; 42 (6): 429–438.
9. Gomila M., Tvrzova L., Teshim A. et al. *Achromobacter marplatensis* sp nov., isolated from a pentachlorophenol-contaminated soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2011; 61: 2231–2237.
10. Vandamme P., Moore E.R., Cnockaert M. et al. Classification of *Achromobacter* genogroups 2, 5, 7 and 14 as *Achromobacter insuavis* sp. nov., *Achromobacter aegrifaciens* sp. nov., *Achromobacter anxifer* sp. nov. and *Achromobacter dolens* sp. nov., respectively. *Syst. Appl. Microbiol.* 2013; 36 (7): 474–482. DOI: 10.1016/j.syapm.2013.06.005.
11. Vandamme P., Moore E.R., Cnockaert M. et al. *Achromobacter animicus* sp. nov., *Achromobacter mucicolens* sp. nov., *Achromobacter pulmonis* sp. nov. and *Achromobacter spiritinus* sp. nov., from human clinical samples. *Syst. Appl. Microbiol.* 2013; 36: 1–10. DOI: 10.1016/j.syapm.2012.10.003.

12. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. Site founded by: Euzéby J.P., <http://www.bacterio.net/achromobacter.html>
13. Peltroche-Llacsahuanga H., Haase G., Kentrup H. Persistent airway colonization with *Alcaligenes xylosoxidans* in two brothers with cystic fibrosis [letter]. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1998; 17: 132–134.
14. Klinger J.D., Thomassen M.J. Occurrence and antimicrobial susceptibility of gram-negative nonfermentative bacilli in cystic fibrosis patients. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 1985; 3: 149–158. DOI:10.1016/0732-8893(85)90025-2.
15. Patient Registry. Annual Data Report to the Center Directors. 2013. *Cystic Fibrosis Foundation*. Bethesda, Maryland. 2013. [www.cff.org](http://www.cff.org)
16. Dunne W.M. Jr, Maisch S. Epidemiological investigation of infections due to *Alcaligenes* species in children and patients with cystic fibrosis: use of repetitive-element-sequence polymerase chain reaction. *Clin. Infect. Dis.* 1995; 20: 836–841.
17. Krzewinski J.W., Nguyen C.D., Foster J.M., Burns J.L. Use of random amplified polymorphic DNA PCR to examine epidemiology of *Stenotrophomonas maltophilia* and *Achromobacter* (*Alcaligenes*) *xylosoxidans* from patients with cystic fibrosis. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39 (10): 3597–3602.
18. Spilker T., Vandamme P., Lipuma J.J. A multilocus sequence typing scheme implies population structure and reveals several putative novel *achromobacter* species. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50: 3010–3015.
19. Spilker T., Vandamme P., Lipuma J.J. Identification and distribution of *Achromobacter* species in cystic fibrosis. *J. Cyst. Fibros.* 2013; 12 (3): 298–301. DOI: 10.1016/j.jcf.2012.10.002.
20. The Main Site PubMLST of the Faculty of Zoology. Great Britain, Oxford: Oxford of University. <http://pubmlst.org/>
21. Zhang Z., Fan X., Gao X., Zhang X.H. *Achromobacter sediminum* sp. nov., isolated from deep seafloor sediment of South Pacific Gyre. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2014; 64 (Pt 7): 2244–2249. DOI: 10.1099/ijs.0.062265-0.
22. Tan K., Conway S.P., Brownlee K.G. et al. *Alcaligenes* infection in cystic fibrosis. *Pediatr. Pulmonol.* 2002; 34 (2): 101–104.
23. Registre français de la mucoviscidose – Bilan des données. 2013. <http://www.vaincrelamuco.org/sites/default/files/registre-2013.pdf>
24. Vu-Thien H., Moissenet D., Valcin M. et al. Molecular epidemiology of *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, and *Alcaligenes xylosoxidans* in a cystic fibrosis center. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1996; 15 (11): 876–879.
25. Amoureux L., Bador J., Siebor E. et al. Epidemiology and resistance of *Achromobacter xylosoxidans* from cystic fibrosis patients in Dijon, Burgundy: first French data. *J. Cyst. Fibros.* 2013; 12: 170–176.
26. Magni A., Trancassini M., Varesi P. et al. *Achromobacter xylosoxidans* genomic characterization and correlation of randomly amplified polymorphic DNA profiles with relevant clinical features [corrected] of cystic fibrosis patients. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48 (4):1035–1039. DOI: 10.1128/JCM.02060-09.
27. Trancassini M., Iebba V., Citerà N. et al. Outbreak of *Achromobacter xylosoxidans* in an Italian Cystic fibrosis center: genome variability, biofilm production, antibiotic resistance, and motility in isolated strains. *Front. Microbiol.* 2014; 5: 138. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00138. eCollection 2014.
28. Lambiase A., Catania M.R., Del P.M. et al. *Achromobacter xylosoxidans* respiratory tract infection in cystic fibrosis patients. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2011; 30 (8): 973–980.
29. Wang M., Ridderberg W., Hansen C.R. et al. Early treatment with inhaled antibiotics postpones next occurrence of *Achromobacter* in cystic fibrosis. *J. Cyst. Fibros.* 2013; 12: 638–643. DOI: 10.1016/j.jcf.2013.04.013.
30. Steinkamp G., Wiedemann B., Rietschel E. et al. Prospective evaluation of emerging bacteria in cystic fibrosis. *J. Cyst. Fibros.* 2005; 4 (1): 41–48.
31. Barrado L., Brañas P., Orellana M.Á. et al. Molecular characterization of *Achromobacter* isolates from cystic fibrosis and non-cystic fibrosis patients in Madrid, Spain. *J. Clin. Microbiol.* 2013; 51: 1927–1930. DOI: 10.1128/JCM.00494-13.
32. Kanellopoulou M., Pournaras S., Iglezos H. et al. Persistent colonization of nine cystic fibrosis patients with an *Achromobacter* (*Alcaligenes*) *xylosoxidans* clone. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2004; 23 (4): 336–339.
33. de Baets F., Schelstraete P., van Daele S. et al. *Achromobacter xylosoxidans* in cystic fibrosis: prevalence and clinical relevance. *J. Cyst. Fibros.* 2007; 6(1): 75–78.
34. Traglia G., Papalia M., Almuzara M. et al. Presence of OXA-type enzymes in *Achromobacter insuavis* and *A. dolens*. *Curr. Microbiol.* 2014; 69 (4): 501–506. DOI: 10.1007/s00284-014-0611-y.
35. Pereira R.H., Carvalho-Assef A.P., Albano R.M. et al. *Achromobacter xylosoxidans*: characterization of strains in Brazilian cystic fibrosis patients. *J. Clin. Microbiol.* 2011; 49 (10): 3649–3651. DOI: 10.1128/JCM.05283-11.
36. Dupont C., Michon A.L., Jumas-Bilak E. et al. Inpatient diversity of *Achromobacter* spp. involved in chronic colonization of Cystic Fibrosis airways. *Infect. Genet. Evol.* 2015; 32: 214–223. doi: 10.1016/j.meegid.2015.03.012
37. Papalia M., Almuzara M., Cejas D. et al. OXA-258 from *Achromobacter ruhlandii*: a species-specific marker. *J. Clin. Microbiol.* 2013; 51 (5): 1602–1605. DOI: 10.1128/JCM.03043-12.
38. Ridderberg W., Bendstrup K.E., Olesen H.V. et al. Marked increase in incidence of *Achromobacter xylosoxidans* infections caused by sporadic acquisition from the environment. *J. Cyst. Fibros.* 2011; 10: 466–469.
39. Ridderberg W., Wang M., Nørskov-Lauritsen N. Multilocus sequence analysis of isolates of *Achromobacter* from patients with cystic fibrosis reveals infecting species other than *Achromobacter xylosoxidans*. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50 (8): 2688–2894. DOI: 10.1128/JCM.00728-12.
40. Green H., Jones A.M. The microbiome and emerging pathogens in cystic fibrosis and non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2015; 36 (2): 225–235. DOI: 10.1055/s-0035-1546752.
41. Lobo L.J., Tulu Z., Aris R.M., Noone P.G. Pan-resistant *Achromobacter xylosoxidans* and *Stenotrophomonas maltophilia* infection in cystic fibrosis does not reduce survival after lung transplantation. *Transplantation.* 2015, Apr. 8. [Epub ahead of print].
42. Lévesque R., Letarte R., Pechère J.C. Comparative study of the beta-lactamase activity found in *Achromobacter*. *Can. J. Microbiol.* 1983; 29: 819–826.
43. Doi Y., Poirer L., Paterson D.L., Nordmann P. Characterization of a naturally occurring class D beta-lactamase from *Achromobacter xylosoxidans*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2008; 52 (6): 1952–1956.
44. Воронина О.Л., Чернуха М.Ю., Шагинян И.А. и др. Характеристика генотипов штаммов *Burkholderia cenocepacia* комплекс, выделенных от больных в стационарах

- Российской Федерации. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2013; 2: 20–30.
45. Воронина О.Л., Кунда М.С., Аксенова Е.И. и др. Экспресс диагностика микроорганизмов, поражающих дыхательные пути больных муковисцидозом. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013; 11: 53–58.
  46. Voronina O.L., Kunda M.S., Ryzhova N.N. et al. The variability of the order Burkholderiales representatives in the Healthcare Units. *BioMed. Res. Int.* 2015; 2015: 680210. DOI:10.1155/2015/68021.
  47. Методические указания МУК 4.2.1890-04 "Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам" (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 04.03.04).
  48. The Main Site EUCAST. <http://www.eucast.org/>
  49. Delgado S., Arroyo R., Jiménez E. et al. Staphylococcus epidermidis strains isolated from breast milk of women suffering infectious mastitis: potential virulence traits and resistance to antibiotics. *BMC Microbiol.* 2009; 9: 82. DOI: 10.1186/1471-2180-9-82.
  50. Spilker T., Baldwin A., Bumford A. et al. Expanded multilocus sequence typing for Burkholderia species. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47 (8): 2607–2610. DOI: 10.1128/JCM.00770-09.
  51. Turton J.F., Mustafa N., Shah J. et al. Identification of *Achromobacter xylosoxidans* by detection of the bla(OXA-114-like) gene intrinsic in this species. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2011; 70 (3): 408–411. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2011.02.007.
  52. The Main Site CBMAR: Comprehensive Beta-lactamase Molecular Annotation Resource, University of Delhi South Campus, New Delhi, India. <http://14.139.227.92/mkumar/lactamasedb/>
  53. The Main Site EMBL-EBI, European Bioinformatics Institute. <http://www.ebi.ac.uk>
  54. The Main Site PubMLST of the Faculty of Zoology, Oxford University, Great Britain, *Achromobacter* MLST Databases. <http://pubmlst.org/achromobacter/>
  55. Amoureux L., Bador J., Fardeheb S. et al. Detection of *Achromobacter xylosoxidans* in hospital, domestic, and outdoor environmental samples and comparison with human clinical isolates. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013; 79 (23): 7142–7149. DOI: 10.1128/AEM.02293-13.
  56. Воронина О.Л., Кунда М.С., Рыжова Н.Н. и др. Закономерности селекции полигостальных убиквитарных микроорганизмов на примере представителей трех таксонов. *Молекулярная биология*. 2015; 49 (3): 430–441, DOI: 10.7868/S0026898415030179.
  57. Kersters K., De Ley J. Genus *Alcaligenes* Castellani and Chalmers. 1919; 936: 365. In: Krieg N.R., Holt V., eds. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Baltimore / London: *Williams & Wilkins Co*; 1984. Vol. 1.
  58. Davis D.H., Doudoroff M., Stanier R.Y., Mandel M. Proposal to reject the genus *Hydrogenomonas*. Taxonomic implications. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1969; 19: 375–390.
  59. Aragno M., Schlegel H.G. *Alcaligenes ruhlandii* (Packer and Vishniac) comb. nov., a peritrichous hydrogen bacterium previously assigned to *Pseudomonas*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1977; 27: 279–281.
  60. Yabuuchi E., Kawamura Y., Kosako Y., Ezaki T. Emendation of genus *Achromobacter* and *Achromobacter xylosoxidans* (Yabuuchi and Yano) and proposal of *Achromobacter ruhlandii* (Packer and Vishniac) comb. nov., *Achromobacter piechaudii* (Kiredjian et al.) comb. nov., and *Achromobacter xylosoxidans* subsp. *denitrificans* (Rüger and Tan) comb. nov. *Microbiol. Immunol.* 1998; 42 (6): 429–438.
  61. Gomila M., Tvrzova L., Teshim A. et al. *Achromobacter marplatensis* sp. nov., isolated from a pentachlorophenol-contaminated soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2011; 61: 2231–2237.
  62. Vandamme P., Moore E.R., Cnockaert M. et al. Classification of *Achromobacter* genogroups 2, 5, 7 and 14 as *Achromobacter insuavis* sp. nov., *Achromobacter aegrifaciens* sp. nov., *Achromobacter anxifer* sp. nov. and *Achromobacter dolens* sp. nov., respectively. *Syst. Appl. Microbiol.* 2013; 36 (7): 474–482. DOI: 10.1016/j.syapm.2013.06.005.
  63. Vandamme P., Moore E.R., Cnockaert M. et al. *Achromobacter animicus* sp. nov., *Achromobacter mucicolens* sp. nov., *Achromobacter pulmonis* sp. nov. and *Achromobacter spiritinus* sp. nov., from human clinical samples. *Syst. Appl. Microbiol.* 2013; 36: 1–10. DOI: 10.1016/j.syapm.2012.10.003.
  64. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. Site founded by: Euzéby J.P., <http://www.bacterio.net/achromobacter.html>
  65. Peltroche-Llacsahuanga H., Haase G., Kentrup H. Persistent airway colonization with *Alcaligenes xylosoxidans* in two brothers with cystic fibrosis [letter]. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1998; 17: 132–134.
  66. Klinger J.D., Thomassen M.J. Occurrence and antimicrobial susceptibility of gram-negative nonfermentative bacilli in cystic fibrosis patients. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 1985; 3: 149–158. DOI:10.1016/0732-8893(85)90025-2.
  67. Patient Registry. Annual Data Report to the Center Directors. 2013. *Cystic Fibrosis Foundation*. Bethesda, Maryland. 2013. [www.cff.org](http://www.cff.org).
  68. Dunne W.M. Jr, Maisch S. Epidemiological investigation of infections due to *Alcaligenes* species in children and patients with cystic fibrosis: use of repetitive-element-sequence polymerase chain reaction. *Clin. Infect. Dis.* 1995; 20: 836–841.
  69. Krzewinski J.W., Nguyen C.D., Foster J.M., Burns J.L. Use of random amplified polymorphic DNA PCR to examine epidemiology of *Stenotrophomonas maltophilia* and *Achromobacter* (*Alcaligenes*) *xylosoxidans* from patients with cystic fibrosis. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39 (10): 3597–3602.
  70. Spilker T., Vandamme P., Lipuma J.J. A multilocus sequence typing scheme implies population structure and reveals several putative novel *achromobacter* species. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50: 3010–3015.
  71. Spilker T., Vandamme P., Lipuma J.J. Identification and distribution of *Achromobacter* species in cystic fibrosis.

Поступила 01.07.15

УДК 616.24-002.28-02:[616.2:579.81]

## References

1. Woolhouse M.E. Population biology of emerging and re-emerging pathogens. *Trends Microbiol.* 2002; 10 (10, Suppl.): S3–S7.
2. Mahenthiralingam E. Emerging cystic fibrosis pathogens and the microbiome. *Paediatr. Respir. Rev.* 2014; 15 (Suppl. 1): 13–15. DOI: 10.1016/j.prrv.2014.04.006.
3. Yabuuchi E., Ohya A. *Achromobacter xylosoxidans* n. sp. from human ear discharge. *Jpn. J. Microbiol.* 1971; 15: 477–481.
4. Yabuuchi E., Yano I. *Achromobacter* gen. nov. and *Achromobacter xylosoxidans* (ex Yabuuchi and Ohya 1971) norn. rev. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1981; 31 (4): 477–478.

- J. Cyst. Fibros.* 2013; 12 (3): 298–301. DOI: 10.1016/j.jcf.2012.10.002.
20. The Main Site PubMLST of the Faculty of Zoology. Great Britain, Oxford: Oxford of University. <http://pubmlst.org/>
  21. Zhang Z., Fan X., Gao X., Zhang X.H. *Achromobacter* sediminum sp. nov., isolated from deep subseafloor sediment of South Pacific Gyre. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2014; 64 (Pt 7): 2244–2249. DOI: 10.1099/ijs.0.062265-0.
  22. Tan K., Conway S.P., Brownlee K.G. et al. *Alcaligenes* infection in cystic fibrosis. *Pediatr. Pulmonol.* 2002; 34 (2): 101–104.
  23. Registre français de la mucoviscidose – Bilan des données. 2013. <http://www.vaincrelamuco.org/sites/default/files/registre-2013.pdf>
  24. Vu-Thien H., Moissenet D., Valcin M. et al. Molecular epidemiology of *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, and *Alcaligenes xylosoxidans* in a cystic fibrosis center. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1996; 15 (11): 876–879.
  25. Amoureux L., Bador J., Siebor E. et al. Epidemiology and resistance of *Achromobacter xylosoxidans* from cystic fibrosis patients in Dijon, Burgundy: first French data. *J. Cyst. Fibros.* 2013; 12: 170–176.
  26. Magni A., Trancassini M., Varesi P. et al. *Achromobacter xylosoxidans* genomic characterization and correlation of randomly amplified polymorphic DNA profiles with relevant clinical features [corrected] of cystic fibrosis patients. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48 (4):1035–1039. DOI: 10.1128/JCM.02060-09.
  27. Trancassini M., Iebba V., Citerà N. et al. Outbreak of *Achromobacter xylosoxidans* in an Italian Cystic fibrosis center: genome variability, biofilm production, antibiotic resistance, and motility in isolated strains. *Front. Microbiol.* 2014; 5: 138. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00138. eCollection 2014.
  28. Lambiase A., Catania M.R., Del P.M. et al. *Achromobacter xylosoxidans* respiratory tract infection in cystic fibrosis patients. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2011; 30 (8): 973–980.
  29. Wang M., Ridderberg W., Hansen C.R. et al. Early treatment with inhaled antibiotics postpones next occurrence of *Achromobacter* in cystic fibrosis. *J. Cyst. Fibros.* 2013; 12: 638–643. DOI: 10.1016/j.jcf.2013.04.013.
  30. Steinkamp G., Wiedemann B., Rietschel E. et al. Prospective evaluation of emerging bacteria in cystic fibrosis. *J. Cyst. Fibros.* 2005; 4 (1): 41–48.
  31. Barrado L., Brañas P., Orellana M.Á. et al. Molecular characterization of *Achromobacter* isolates from cystic fibrosis and non-cystic fibrosis patients in Madrid, Spain. *J. Clin. Microbiol.* 2013; 51: 1927–1930. DOI: 10.1128/JCM.00494-13.
  32. Kanellopoulou M., Pournaras S., Iglezos H. et al. Persistent colonization of nine cystic fibrosis patients with an *Achromobacter* (*Alcaligenes*) *xylosoxidans* clone. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2004; 23 (4): 336–339.
  33. de Baets F., Schelstraete P., van Daele S. et al. *Achromobacter xylosoxidans* in cystic fibrosis: prevalence and clinical relevance. *J. Cyst. Fibros.* 2007; 6(1): 75–78.
  34. Traglia G., Papalia M., Almuzara M. et al. Presence of OXA-type enzymes in *Achromobacter insuavis* and *A. dolens*. *Curr. Microbiol.* 2014; 69 (4): 501–506. DOI: 10.1007/s00284-014-0611-y.
  35. Pereira R.H., Carvalho-Assef A.P., Albano R.M. et al. *Achromobacter xylosoxidans*: characterization of strains in Brazilian cystic fibrosis patients. *J. Clin. Microbiol.* 2011; 49 (10): 3649–3651. DOI: 10.1128/JCM.05283-11.
  36. Dupont C., Michon A.L., Jumas-Bilak E. et al. Inpatient diversity of *Achromobacter* spp. involved in chronic colonization of Cystic Fibrosis airways. *Infect. Genet. Evol.* 2015; 32: 214–223. doi: 10.1016/j.meegid.2015.03.012
  37. Papalia M., Almuzara M., Cejas D. et al. OXA-258 from *Achromobacter ruhlandii*: a species-specific marker. *J. Clin. Microbiol.* 2013; 51 (5): 1602–1605. DOI: 10.1128/JCM.03043-12.
  38. Ridderberg W., Bendstrup K.E., Olesen H.V. et al. Marked increase in incidence of *Achromobacter xylosoxidans* infections caused by sporadic acquisition from the environment. *J. Cyst. Fibros.* 2011; 10: 466–469.
  39. Ridderberg W., Wang M., Nørskov-Lauritsen N. Multilocus sequence analysis of isolates of *Achromobacter* from patients with cystic fibrosis reveals infecting species other than *Achromobacter xylosoxidans*. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50 (8): 2688–2894. DOI: 10.1128/JCM.00728-12.
  40. Green H., Jones A.M. The microbiome and emerging pathogens in cystic fibrosis and non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2015; 36 (2): 225–235. DOI: 10.1055/s-0035-1546752.
  41. Lobo L.J., Tulu Z., Aris R.M., Noone P.G. Pan-resistant *Achromobacter xylosoxidans* and *Stenotrophomonas maltophilia* infection in cystic fibrosis does not reduce survival after lung transplantation. *Transplantation.* 2015, Apr. 8. [Epub ahead of print].
  42. Lévesque R., Letarte R., Pechère J.C. Comparative study of the beta-lactamase activity found in *Achromobacter*. *Can. J. Microbiol.* 1983; 29: 819–826.
  43. Doi Y., Poirel L., Paterson D.L., Nordmann P. Characterization of a naturally occurring class D beta-lactamase from *Achromobacter xylosoxidans*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2008; 52 (6): 1952–1956.
  44. Voronina O.L., Chernukha M.Yu., Shaginyan I.A. et al. Characterization of *Burkholderia cepacia* complex strains genotypes isolated from hospitalized patients at the Russian Federation. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya.* 2013; 28 (2): 64–73 (in Russian).
  45. Voronina O.L., Kunda M.S., Aksenova E.I. et al. Instant diagnosis of microorganisms affecting the airways in cystic fibrosis patients. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2013; 11: 53–58 (in Russian)
  46. Voronina O.L., Kunda M.S., Ryzhova N.N. et al. The variability of the order *Burkholderiales* representatives in the Healthcare Units. *BioMed. Res. Int.* 2015; 2015: 680210. DOI:10.1155/2015/68021.
  47. Operations manual MUK 4.2.1890-04 'Determination of microorganisms sensitivity to antibacterials' (Approved by the Chief Hygienist of Russian Federation on the 4<sup>th</sup>, Mar, 2004) (in Russian)
  48. The Main Site EUCAST. <http://www.eucast.org/>
  49. Delgado S., Arroyo R., Jiménez E. et al. *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from breast milk of women suffering infectious mastitis: potential virulence traits and resistance to antibiotics. *BMC Microbiol.* 2009; 9: 82. DOI: 10.1186/1471-2180-9-82.
  50. Spilker T., Baldwin A., Bumford A. et al. Expanded multilocus sequence typing for *Burkholderia* species. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47 (8): 2607–2610. DOI: 10.1128/JCM.00770-09.
  51. Turton J.F., Mustafa N., Shah J. et al. Identification of *Achromobacter xylosoxidans* by detection of the bla(OXA-114-like) gene intrinsic in this species. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2011; 70 (3): 408–411. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2011.02.007.
  52. The Main Site CBMAR: Comprehensive Beta-lactamase Molecular Annotation Resource, University of Delhi South Campus, New Delhi, India. <http://14.139.227.92/mkumar/lactamasedb/>

53. The Main Site EMBL-EBI, European Bioinformatics Institute. <http://www.ebi.ac.uk>
54. The Main Site PubMLST of the Faculty of Zoology, Oxford University, Great Britain, Achromobacter MLST Databases. <http://pubmlst.org/achromobacter/>
55. Amoureux L., Bador J., Fardeheb S. et al. Detection of Achromobacter xylosoxidans in hospital, domestic, and outdoor environmental samples and comparison with human clinical isolates. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013; 79 (23): 7142–7149. DOI: 10.1128/AEM.02293-13.
56. Voronina O.L., Kunda M.S., Ryzhova N.N. et al. Selection patterns of the ubiquitous polyhostal microorganisms through representatives of three taxa. *Molekulyarnaya biologiya.* 2015; 49 (3): 380–390. DOI: 10.1134/S0026893315030176 (in Russian).

Received July 1, 2015

UDC 616.24-002.28-02:[616.2:579.81]

**Информация об авторах**

*Воронина Ольга Львовна* – к. б. н., ведущий научный сотрудник, доцент, зав. лабораторией анализа геномов ФГБУ "Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи" Минздрава России; тел.: (499) 193-37-60; e-mail: olv550@gmail.com

*Кунда Марина Сергеевна* – к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории анализа геномов ФГБУ "Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи" Минздрава России; тел.: (499) 193-37-60; e-mail: markunda99@gmail.com

*Рыжова Наталья Николаевна* – к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории анализа геномов ФГБУ "Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи" Минздрава России; тел.: (499) 193-37-60; e-mail: rynatalia@yandex.ru

*Аксенова Екатерина Ивановна* – к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории анализа геномов ФГБУ "Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи" Минздрава России; тел.: (499) 193-37-60; e-mail: aksenova16@gmail.com

*Семенов Андрей Николаевич* – лаборант-исследователь лаборатории анализа геномов ФГБУ "Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи" Минздрава России; тел.: (499) 193-37-60; e-mail: semenov\_an91@mail.ru

*Лазарева Анна Валерьевна* – к. м. н., зав. лабораторией микробиологии ФГБНУ "Научный центр здоровья детей" Минздрава России; тел.: (499) 134-30-83; e-mail: lazarevaav@nczd.ru

*Семькин Сергей Юрьевич* – к. м. н., зав. педиатрическим отделением ФГБУ "Российская детская клиническая больница" Минздрава России; тел.: (499) 780-08-06; e-mail: dr.semykin@mail.ru

*Амелина Елена Львовна* – к. м. н., зав. лабораторией муковисцидоза ФГБУ "НИИ пульмонологии" ФМБА России; тел.: (499) 780-08-06; e-mail: eamelina@mail.ru

*Симонова Ольга Игоревна* – д. м. н., зав. отделением пульмонологии и аллергологии ФГБНУ "Научный центр здоровья детей"; тел.: (499) 134-30-83; e-mail: oisimonova@mail.ru

*Красовский Станислав Александрович* – к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории муковисцидоза ФГБУ "НИИ пульмонологии" ФМБА России; тел.: (495) 465-74-15; e-mail: sa\_krasovsky@mail.ru

*Лунин Владимир Глебович* – д. б. н., зав. лабораторией биологически активных наноструктур ФГБУ "Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного акаде-

мика Н.Ф.Гамалеи" Минздрава России; тел.: (499) 193-37-60; e-mail: lunin1955@gmail.com

*Баранов Александр Александрович* – д. м. н., академик РАН, директор ФГБНУ "Научный центр здоровья детей" Минздрава России; тел.: (499) 134-30-83; e-mail: info@nczd.ru

*Чучалин Александр Григорьевич* – д. м. н., профессор, академик РАН, директор ФГБУ "НИИ пульмонологии" ФМБА России, председатель правления РРО, главный внештатный специалист терапевт-пульмонолог Минздрава России; тел. / факс: (495) 465-52-64; e-mail: chuchalin@inbox.ru

*Гинцбург Александр Леонидович* – д. б. н., профессор, академик РАН, директор ФГБУ "Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи" Минздрава России; тел.: (499) 193-30-01; e-mail: info@gamaleya.org

**Authors information**

*Voronina Olga Lvovna*, PhD in Biology, Chief Scientist, Assistant Professor, Head of Laboratory of Analysis of Genomes, N.F.Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (499) 193-37-60; e-mail: olv550@gmail.com

*Kunda Marina Sergeevna*, PhD in Biology, Senior Researcher at Laboratory of Analysis of Genomes, N.F.Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (499) 193-37-60; e-mail: markunda99@gmail.com

*Ryzhova Natal'ya Nikolaevna*, PhD in Biology, Senior Researcher at Laboratory of Analysis of Genomes, N.F.Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (499) 193-37-60; e-mail: rynatalia@yandex.ru

*Aksenova Ekaterina Ivanovna*, PhD in Biology, Senior Researcher at Laboratory of Analysis of Genomes, N.F.Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (499) 193-37-60; e-mail: aksenova16@gmail.com

*Semenov Andrey Nikolaevich*, Research Technician at Laboratory of Analysis of Genomes, N.F.Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (499) 193-37-60; e-mail: semenov\_an91@mail.ru

*Lazareva Anna Valer'evna*, PhD, Head of Laboratory of Microbiology, Federal Research Centre of Children's Health, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (499) 134-30-83; e-mail: lazarevaav@nczd.ru

*Semykin Sergey Yur'evich*, PhD, Head of Pediatric Department at Federal Research Centre of Children's Health, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (499) 780-08-06; e-mail: dr.semykin@mail.ru

*Amelina Elena Lvovna*, PhD, Head of Laboratory of Cystic Fibrosis, Federal Pulmonology Research Institute, Federal Medical and Biological Agency of Russia; tel.: (499) 780-08-06; e-mail: eamelina@mail.ru

*Simonova Olga Igorevna*, MD, Head of Department of Pulmonology and Allergology at Federal Research Centre of Children's Health, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (499) 134-30-83; e-mail: oisimonova@mail.ru

*Krasovskiy Stanislav Aleksandrovich*, PhD, Senior Researcher at Laboratory of Cystic Fibrosis, Federal Pulmonology Research Institute, Federal Medical and Biological Agency of Russia; tel.: (495) 465-74-15; e-mail: sa\_krasovsky@mail.ru

*Lunin Vladimir Glebovich*, PhD in Biology, Head of Laboratory of Biologically Active Nanostructures at N.F.Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (499) 193-37-60; e-mail: lunin1955@gmail.com

*Baranov Aleksandr Aleksandrovich*, MD, Academician of Russian Science Academy, Director of Federal Research Centre of Children's Health, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (499) 134-30-83; e-mail: info@nczd.ru

*Chuchalin Aleksandr Grigor'evich*, MD, Professor, Academician of Russian Science Academy, Director of Federal Pulmonology Research Institute, Federal Medical and Biological Agency of Russia; President of Russian Respiratory Society; Chief Therapist and Pulmonologist of Healthcare Ministry of Russia; tel. / fax: (495) 465-52-64; e-mail: chuchalin@inbox.ru

*Gintsburg Aleksandr Leonidovich*, Doctor of Biology, Professor, Academician of Russian Science Academy, Director of N.F.Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (499) 193-30-01; e-mail: info@gamaleya.org



СИНГЛОН®

МОНТЕЛУКАСТ  
4 мг, 5 мг, 10 мг

ОДНА ТАБЛЕТКА В ДЕНЬ

НА ОДНОМ ДЫХАНИИ



Повышает эффективность базисной терапии  
бронхиальной астмы<sup>1</sup>



Альтернатива низким дозам ИГКС<sup>1</sup>



Удобство применения без техники ингаляции<sup>2</sup>

1. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению бронхиальной астмы, 2013 г.  
2. Инструкция по применению препарата Синглон®.



ГЕДЕОН РИХТЕР

Представительство ОАО «Гедеон Рихтер» (Венгрия): г. Москва 119049, 4-й Добрынинский пер., д. 8  
Тел.: (495) 987-15-55, Факс: (495) 987-15-56 e-mail: centr@g-richter.ru www.g-richter.ru