

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ПЕРВЫЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА И.П. ПАВЛОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

МАХМУТОВА

Виктория Ринатовна

**РАЗРАБОТКА ОПТИМАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ВЗРОСЛЫХ БОЛЬНЫХ
МУКОВИСЦИДОЗОМ НА ОСНОВАНИИ ИХ ГЕНОТИПИЧЕСКИХ
И ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ
В СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ**

3.1.29. Пульмонология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Титова Ольга Николаевна
доктор медицинских наук, профессор

Санкт-Петербург – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	15
1.1 Современное состояние проблемы муковисцидоза	15
1.2 Генетика муковисцидоза. Этиология и патогенез болезни.....	20
1.3 Полиморфизм поражения различных органов и систем как отражение генетической гетерогенности болезни	25
1.4 Микробиология инфекционно-воспалительного процесса у больных муковисцидозом	29
1.5 Особенности взрослых пациентов с муковисцидозом	35
1.6 Принципы организации помощи больным муковисцидозом	38
1.7 Новая коронавирусная инфекция COVID-19 у пациентов с муковисцидозом.....	40
Глава 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	43
2.1 Общая характеристика обследованной группы больных и методы формирования клинических групп	43
2.2 Методы исследования	46
2.2.1 Общие методы исследования	46
2.2.1.1 Антропометрическое исследование.....	46
2.2.1.2 Генетическое исследование.....	47
2.2.1.3 Исследование функции внешнего дыхания.....	48
2.2.1.4 Микробиологическое исследование	48
2.2.2 Обследование на COVID-19.....	50
2.2.3 Статистические методы исследования	51
Глава 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	52
3.1 Характеристика пациентов Санкт-Петербурга и Ленинградской области за период 2016-2021 гг.	52

3.2 Генетическая характеристика пациентов с муковисцидозом	59
3.3 Микробиологическая характеристика пациентов с муковисцидозом	62
3.3.1 Анализ антропометрических данных пациентов с муковисцидозом.....	67
3.3.2 Анализ функциональных данных пациентов с муковисцидозом.....	68
3.3.3 Микробиологическая характеристика пациентов с муковисцидозом.....	69
3.3.3.1 Сравнительная характеристика чувствительности штаммов неферментирующих грамотрицательных бактерий к антибактериальным препаратам	69
3.3.3.2 Сравнительная эффективность схем лечения хронической неферментирующей грамотрицательной бактериальной инфекции	72
3.4 Новая коронавирусная инфекция COVID-19 у пациентов с муковисцидозом.....	78
3.4.1 Особенности течения новой коронавирусной инфекции COVID-19 у пациентов с муковисцидозом	78
3.4.2 Особенности лечения новой коронавирусной инфекции COVID-19 у пациентов с муковисцидозом	79
Глава 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	84
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	98
ВЫВОДЫ	99
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	101
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	102
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	103

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Оптимизация терапии орфанных заболеваний по праву считается актуальной задачей отечественного здравоохранения. Муковисцидоз (МВ) является наиболее распространённым полиорганным наследственным заболеванием с большой фенотипической и генотипической гетерогенностью, поражающим детей и взрослых во всем мире. Болезнь возникает в результате мутаций (генетических вариантов) в гене МВТР (муковисцидозный трансмембранный регулятор проводимости), кодирующий белок, который регулирует транспорт ионов на поверхности эпителия протоков желез внешней секреции, что приводит к поражению ряда систем органов (органы дыхания, поджелудочная железа, кишечник, желчные протоки, потовые железы, репродуктивная система). Прогрессирующий характер течения МВ, ранняя инвалидизация и нередко неблагоприятный исход делают его важной и актуальной медико-социальной проблемой [6]. Успехи в изучении генетических особенностей МВ, организация четко разработанной системы помощи больным, начиная с ранней диагностики, преемственного наблюдения, лечения, обеспечения пациентов самыми современными лекарственными средствами и методами терапии позволяют считать данную систему образцовой моделью для организации лечения орфанных заболеваний [124]. По мере накопления международного и российского опыта диагностики, наблюдения и лечения муковисцидоза, отмечено существенное увеличение продолжительности жизни пациентов с данной болезнью, которое преимущественно педиатрического заболевания уверенно шагнуло во взрослую сеть. [130, 133]. Постоянное взаимодействие эндогенных, экзогенных факторов и меняющихся условий внешней среды, создают сложную биологическую систему, совершенно меняющую картину болезни от легких клинических проявлений до тяжелого

хронического инфекционного процесса в органах дыхания, который в настоящее время и определяет продолжительность и качество жизни больных.

Трудно переоценить значение бактериальных осложнений дыхательной системы у взрослых пациентов, страдающих МВ. Тяжесть течения МВ зависит от развития инфекционных осложнений, вызванных условно-патогенными микроорганизмами: *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia cepacia complex*, *Achromobacter spp* [111]. Согласно регистру больных муковисцидозом в Российской Федерации за 2021 год частота хронического инфицирования дыхательных путей различной флорой составила *S.aureus* – 61,3%, *P. Aeruginosa* (хроническое инфицирование) – 41,0%, *Burkholderia cepacia complex* – 5,2%, *Achromobacter spp.* – 6,2% [34]. В литературе преимущественно проанализированы особенности микробиологического пейзажа у детей. Микробиологический статус взрослых пациентов МВ в РФ изучен недостаточно.

Инфицирование больных МВ бактериями *Achromobacter spp.* представляет особую опасность, так как данный микроорганизм обладает природной антибиотикоустойчивостью и быстро приобретает резистентность к антимикробным препаратам. Это затрудняет его эрадикацию в процессе лечения, способствует длительной персистенции возбудителя, приводя к быстрому переходу острой инфекции нижних дыхательных путей в хроническую форму [119].

В Российской Федерации в последние годы, после создания Регистра больных МВ, стали изучаться региональные особенности микрофлоры нижних дыхательных путей при муковисцидозе (МВ) и ее влияние на фенотип [58, 59, 70]. Не в полной мере освещен вопрос темпов хронического инфицирования патогенами группы *Achromobacter spp.* и динамики его резистентности в региональных группах пациентов с МВ.

Также все большее внимание уделяется особенностям индивидуального генетического статуса пациента и его влияния на фенотип больного. Данный вопрос недостаточно изучен в регионе г. Санкт-Петербурга и Ленинградской области (ЛО).

Взрослые пациенты, страдающие МВ представляют особый контингент в группе тяжелых наследственных заболеваний, они должны быть в зоне пристального внимания с учётом их индивидуальных особенностей, повышением требований к оптимизации, эффективности и безопасности терапии, в первую очередь антибактериальной. Сложившаяся десятилетиями тенденция эскалации антибактериальной терапии при лечении пациентов с МВ и инфицированием новых патогенных бактерий с выборочной природной устойчивостью не показывает своей эффективности и требует изучения и изменения алгоритмов лечения.

Таким образом, изучение этиологических и патогенетических особенностей формирования инфекционного процесса в легких у взрослых больных с учетом характера генетического дефекта и оптимизация терапии у взрослой когорты пациентов с МВ делают актуальным проведение данного исследования.

Степень разработанности темы исследования

Респираторные патогены нижних дыхательных путей у пациентов МВ с возрастом претерпевают изменения, в первые годы жизни чаще встречается золотистый стафилококк, далее основным возбудителем становится синегнойная палочка, то в последнее десятилетие большое клиническое значение приобретают неферментирующие грамотрицательные микроорганизмы: *Burkholderia cepacia complex*, бактерии рода *Achromobacter* и другие [61, 61, 62, 63]. А.В. Орлов и Л.А. Желенина установили связь между нормальным уровнем витамина Д в крови и снижением частоты высева грамотрицательной микрофлоры нижних дыхательных путей у детей. Изучение динамики респираторного микробиома у взрослых пациентов изучена недостаточно и представляет особый интерес современного здравоохранения.

Существенный вклад в изучение генотипических и фенотипических особенностей детей и взрослых пациентов с МВ Северо-Западного региона РФ внесли ученые Т.Е. Гембицкая и Е.В. Бойцова, которые впервые выявили

преобладание гомо и гетерозигот по мутации F508del в генотипе больных [9]. Изучение механизма бронхиальной обструкции у больных муковисцидозом в Санкт-Петербурге инициировала автор Л.А. Желенина во второй половине 1990-х годов [11,12].

Важно продолжить изучение генотипических и микробиологических особенностей в возросшей группе взрослых пациентов с МВ в регионе.

Со старта пандемии коронавирусной инфекции COVID-19, проблеме течения инфекции у пациентов МВ привлечено должное внимание и представляет интерес изучение особенности течения, исхода и фенотипа взрослого пациента МВ в Северо-Западном регионе РФ.

Как подчеркивают С.А. Красовский и Е.Л. Амелина с соавторами, МВ имеет свои эпидемиологические и генетические особенности, что необходимо учитывать при создании диагностических и лечебных программ [30].

Гипотеза о том, что региональные особенности микробиологического и генетического статуса взрослых пациентов Санкт-Петербурга должны быть учтены при выборе оптимальной антибактериальной терапии легла в основу данной работы.

Цель исследования

Разработать оптимальные алгоритмы антибактериальной терапии взрослых больных с муковисцидозом на основании особенностей генотипического, фенотипического статуса и мониторинга микробиоты.

Задачи исследования

1. Оценить эпидемиологическую ситуацию и провести сравнительный анализ изменений микробиома респираторного тракта у взрослых больных с муковисцидозом Санкт-Петербурга и Ленинградской области.

2. Определить распространенность типов мутаций гена трансмембранного регулятора муковисцидоза у пациентов с хроническим инфицированием неферментирующими грамотрицательными микроорганизмами.

3. Провести мониторинг резистентности *P.aeruginosa* и *Achromobacter spp.* и их влияния на исход заболевания.

4. Оценить влияние новой коронавирусной инфекции COVID-19 на течение и исход у пациентов с муковисцидозом и определить эффективность симптоматической терапии у больных с муковисцидозом при коронавирусной инфекции COVID-19.

5. Оптимизировать схемы противомикробного лечения взрослых больных муковисцидозом с учётом генотипических, фенотипических особенностей, этиологии воспалительного процесса в легких и мониторинга антибактериальной устойчивости клинически значимых неферментирующих грамотрицательных микроорганизмов.

Научная новизна исследования

1. Впервые проведено комплексное эпидемиологическое изучение структуры взрослых больных с муковисцидозом в Санкт-Петербурге и Ленинградской области за длительный период наблюдения.

2. Впервые определен состав микробиома респираторного тракта и его резистентность у пациентов с муковисцидозом Санкт-Петербурга и Ленинградской области за длительный период наблюдения.

3. Впервые определено течение и исход коронавирусной инфекции COVID-19 у взрослых пациентов с муковисцидозом Санкт-Петербурга и Ленинградской области.

4. Впервые оценена эффективность симптоматической терапии у взрослых пациентов муковисцидозом при коронавирусной инфекции COVID-19 в Санкт-Петербурге и Ленинградской области.

5. Впервые разработаны оптимальные алгоритмы антибактериальной и патогенетической терапии взрослых больных муковисцидозом в Санкт-Петербурге и Ленинградской области с учетом микробиологического и генотипического статуса.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Доказана целесообразность разделения взрослых пациентов на группы по тяжести мутаций для выделения группы риска по инфицированию НФГОБ.

Предложено применение антибактериальной терапии как части комплексного лечения взрослых пациентов МВ, а не приоритетного вида лечения.

Разработан оптимальный алгоритм терапии хронической инфекции нижних дыхательных путей чувствительными штаммами *Achromobacter xyl.* и *P. aeruginosa.*

Предложен алгоритм терапии хронической инфекции нижних дыхательных путей панрезистентным штаммом *Achromobacter xyl.*

Методология и методы исследования

Для реализации поставленных задач были использованы методы сравнительного когортного исследования с проспективным компонентом.

Результаты проведенного исследования базируются на данных комплексного обследования 60 взрослых больных с подтвержденным диагнозом МВ. Исследование выполнено на базе СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2» в период с 2016 по 2021 гг. Наблюдение и лечение в центре муковисцидоза СПб ГМПБ2 представляет собой систему замкнутого цикла, где амбулаторные пациенты регулярно обследуются (посев мокроты при каждом плановом визите, но не чаще 1 р в 3 месяца, исследование ФВД согласно клиническим рекомендациям МВ в РФ [21]). При наличии показаний пациенты проходят стационарное лечение в специально оборудованных палатах

пульмонологического отделения больницы. После завершения стационарного этапа, пациенты продолжают наблюдение амбулаторно с фиксацией всех данных анамнеза и исследований в амбулаторной карте. Все пациенты подписали форму информированного согласия при каждом стационарном лечении и ежегодное информированное согласие на амбулаторное консультирование и обследование.

У всех 60 обследованных был диагностирован муковисцидоз на основании классификационных критериев ECFS 2014 (European Cystic Fibrosis Society – Европейское общество муковисцидоза) [83], и далее обновленные стандарты диагностики ECFS 2018 [76].

В исследование включено 60 взрослых пациентов от 18 до 65 лет, из них 27 (45%) женщин и 33 (55%) мужчин. При отборе в исследование критериями исключения были пациенты, наблюдающиеся в центре менее 2 лет, период наблюдения аргументирован минимальными сроками 12 месяцев установки хронического инфицирования, и необходимостью последующего года для оценки достоверной динамики микрофлоры и эффективности лечения.

В рамках исследования анализировались случаи хронической инфекции нижних дыхательных путей, при котором пациенты получали курсы антибактериальной терапии согласно текущим клиническим рекомендациям по лечению МВ РФ на текущий год исследования. Случаи интермиттирующей инфекции не включались в исследование ввиду иной эрадикационной схемы лечения согласно клиническим рекомендациям по лечению МВ РФ на текущий год исследования.

Особое внимание уделялось достоверности микробиологического обследования: сбор и транспортировка образцов биоматериала проводилась согласно Методическим указаниям по микробиологической диагностике инфекций дыхательных путей у пациентов с муковисцидозом 2019 г., выявление грамотрицательных бактерий, идентификация которых может вызывать трудности: *Achromobacter spp.*, *Burkholderia spp.* [55, 56, 85], были идентифицированы методами молекулярной идентификации (времяпролетная масс-спектрометрия MALDI-TOF MS) [94].

Антибактериальная терапия назначалась в соответствии с текущими рекомендациями по лечению МВ и результатам чувствительности выделенных микроорганизмов. При выделении в мокроте одновременно двух и более микроорганизмов, выбор антибактериального препарата осуществлялся в зависимости от свойств более резистентного возбудителя, а также с учетом природной резистентности выделенных патогенов.

С 2020 г. по 2022 г. СПб ГБУЗ ГМПБ2, как городской многопрофильный стационар, неоднократно перепрофилировался для оказания медицинской помощи пациентам с новой коронавирусной инфекцией COVID-19. Все пациенты МВ, включенные в настоящее исследование, которым требовалось стационарное лечение COVID-19, проходили курс терапии в пульмонологическом отделении СПб ГБУЗ ГМПБ2 в периоды перепрофилирования.

Диагноз новой коронавирусной инфекцией COVID-19 устанавливался на основании ПЦР теста на sars-CoV2 или выявления диагностического уровня IgG к SARS CoV2 через 2-3 недели от старта симптомов. Тяжесть течения определялась согласно ВМР. Терапия назначалась согласно текущим ВМР. Проводилось дистанционное анкетирование по телефону всех 60 пациентов, включенных в исследование согласно опроснику по новой коронавирусной инфекции COVID-19 для пациентов МВ ECFS.

В рамках исследования пациентам проводился стандартный комплекс обследования, включавший лабораторные, микробиологические, инструментальные методы диагностики.

Полученные в рамках исследования сведения о клиническом течении, данные лабораторных, микробиологических, инструментальных методов исследования были занесены в базу данных и проанализированы. Применение современных методов обследования и информативных методик статистического анализа позволили сформулировать обоснованные выводы.

Положения, выносимые на защиту

1. Особенности генетического статуса взрослых пациентов с муковисцидозом Санкт-Петербурге и Ленинградской области является большое количество и разнообразие мягких мутаций, что способствует росту количества взрослых пациентов в регионе.

2. Генотип определяет фенотипические особенности (хроническое инфицирование *Achromobacter xyl.*), микробиологический статус, несмотря на лечение и выживаемость.

3. Эскалация антибактериальной терапии не должна быть приоритетным лечением у взрослых пациентов с муковисцидозом, а должна проводиться в рамках комплексного лечения. Не выявлено различий в сроках развития резистентности чувствительных штаммов *Achromobacter xyl.* при применении меропенема 3гр/сутки и цефтазидима 6 гр/сутки/ + амикацина 1гр/сутки. Не выявлено различий в выживаемости взрослых пациентов с муковисцидозом при терапии резистентных штаммов *Achromobacter xyl.* меропенемом 3гр/сутки и 6 гр/сутки.

4. Взрослые пациенты с муковисцидозом Санкт-Петербурга и Ленинградской области, вероятно, не являются уязвимым контингентом по тяжести течения и летального исхода при COVID-19 и перенесли новую коронавирусную инфекцию в 2020-2021 г. легче, чем можно было ожидать от пациентов с тяжелым хроническим инфекционным заболеванием легких.

5. В половине амбулаторных случаев коронавирусной инфекции COVID-19 у взрослых пациентов с муковисцидозом симптоматическое лечение эффективно без назначения антибактериальной терапии.

Апробация работы и внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в работу Центра интенсивной пульмонологии и торакальной хирургии СПб ГБУЗ ГМПБ № 2.

Результаты исследования доложены на профильных конференциях регионального и федерального уровня:

- Всероссийский терапевтический конгресс с международным участием «Боткинские чтения» (Санкт-Петербург, 2020 г.);
- Городская Научно-Практическая конференция Санкт-Петербургский Респираторный день (Санкт-Петербург, 2020 г.);
- XVI международный научный конгресс «Рациональная фармакотерапия» (Санкт-Петербург, 2021 г.);
- Всероссийская онлайн школа по муковисцидозу с международным участием «Муковисцидоз: из детства во взрослую жизнь» (Москва, 2021 г.).

Степень достоверности

Обоснованность и достоверность результатов подтверждается применением современных методов сбора и обработки исходной информации, а научные положения работы, выводы и практические рекомендации обоснованы и подтверждаются достаточным количеством наблюдений.

Личный вклад автора

Все этапы диссертационной работы выполнены при непосредственном участии автора. Автором самостоятельно выполнен аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы по теме диссертации, разработан дизайн исследования, проведен отбор пациентов, сбор клинических данных, выполнены клинические осмотры, консультирование. Самостоятельно проведен анализ материала, интерпретация полученных результатов, их изложение, а также формулировка выводов и практических рекомендаций. Доля автора в сборе информации – 100%, в статистической обработке – 80%, в обобщении и анализе материала – 100%. В работах, выполненных в соавторстве, автору принадлежит

значительная роль в постановке задач, проведении исследований, анализе и интерпретации результатов.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 4 статьи; все в рецензируемых научных журналах, определенных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования РФ.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы собственных исследований, обсуждения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы. Изложена на 118 страницах, иллюстрирована 22 рисунками и 16 таблицами. Список литературы включает 135 источников, из них 70 отечественных и 65 зарубежных.

Глава 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Современное состояние проблемы муковисцидоза

Муковисцидоз (МВ) является классическим менделевским аутосомно-рецессивным заболеванием, наиболее распространенным смертельным наследственным заболеванием с большой фенотипической и генетической гетерогенностью, поражающим детей и взрослых во всем мире. Болезнь возникает в результате мутаций в гене, кодирующем белок муковисцидозный трансмембранный регулятор проводимости (МВТР), который регулирует транспорт ионов на поверхности эпителия, в дыхательных путях, протоках поджелудочной железы, кишечнике, желчных и потовых протоках. Болезнь, несмотря на проводимую терапию, имеет неблагоприятный прогноз.

Преобладающая оценка частоты МВ составляет в среднем 1/2500 живорождённых среди европеоидов, со средней распространенностью 0,737 на 10000 населения в 27 странах ЕС, что аналогично значению 0,797 на 10000 человек в Соединенных Штатах Америки, только в Ирландии показатель выше – 2,98 [15].

Еще совсем недавно больные муковисцидозом умирали в раннем детском возрасте, или даже на первом году жизни, от пневмонии и истощения, обусловленного мальабсорбцией. В последние годы, благодаря достижениям в организации системы помощи больным МВ и созданию совершенно новых технологий терапии болезни, ситуация значительно изменилась.

Предполагаемый средний возраст выживания, который обозначает предполагаемый возраст, после которого проживут 50% младенцев, родившихся в данном году, достигает 50 лет и более в некоторых странах [64]. Согласно данным

регистра пациентов РФ за 2019 год медиана выживаемости за 2015-2019 гг. равна 33,8 лет [10, 22, 23, 24].

В течение последних двух десятилетий лечение пациентов МВ все чаще происходит в специализированных центрах МВ, а диагнозы, как правило, сообщаются в региональные или национальные регистры. Это облегчает определение распространенности МВ для большинства стран.

Хотя МВ остается серьезным заболеванием, успехи в его лечении заметно изменили характеристики популяции пациентов МВ. Значительные успехи достигнуты в фармакологическом моделировании функции белка МВТР – успешное использование препаратов группы потенциаторов и корректоров обозначили новую ступень в терапии заболевания. Важным шагом в продлении жизни пациентов МВ стали программы трансплантации легких и сердца с прогрессивным ростом увеличения выживаемости с каждым годом. Таким образом динамическое внедрение и оптимизация методов лечения привели к положительным изменениям качества и продолжительности жизни пациентов с МВ, увеличению доли взрослых пациентов.

Нельзя не отметить достижения отечественной медицины в организации помощи больным МВ.

Внедрение неонатального скрининга в РФ было осуществлено с июня 2006 года, через 10 лет от начала скрининга был проведен анализ его эффективности (Шерман В.Д., Кондратьева Е.И.), показано, что дети 6-9 лет, с установленным диагнозом в результате неонатального скрининга и подтверждающей постскрининговой диагностики, значительно отличались по таким основным показателям здоровья, как функция легких, физическое развитие, объем терапии, от детей с МВ той же возрастной группы, выявленным по клиническим проявлениям до внедрения скрининга.

Продолжено изучение осложнений МВ и клинико-генетические характеристики, такие как цирроз печени совместно с ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» (Кондратьева Е.И., Воронкова А.Ю.,

Монахов А.Р., Силина О.В.), мекониевого илеуса (Кондратьева Е.И., Шерман В.Д. и др.), полипоза носа совместно ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр оториноларингологии ФМБА России (Дайхес Н.А., Поляков Д.П., Петров А.С., Кондратьева Е.И.), аллергический бронхолегочный аспергиллез совместно с микологической клиникой ФГБОУ ВО «Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова» Минздрава России (Климко Н.Н., Борзова Ю.В., Шерман В.Д., Будзинский Р.М.), муковисцидоз-ассоциированный сахарный диабет (Е.И. Кондратьева) [4, 5, 45, 60].

С 2016 года после разработки ведущими генетиками ФГБНУ «МГНЦ» и других генетических центров России алгоритма ДНК диагностики, вошедшего в национальный консенсус, и широкого внедрения в МГНЦ методов секвенирования предметом исследований отдела стали клинические проявления муковисцидоза у пациентов с редкими генетическими вариантами гена *CFTR*, функциональный анализ вариантов с неясным клиническим значением. Были изучены мутации: L138ins, комплексный аллель S466X-R1070Q, p.Ser466X, E92K, 3272–16T> A, R334W, крупные перестройки, в том числе CFTRdele12,13del16, CFTRdele19-22(17a-19), CFTRdele8(7*), CFTRdele2-8(2-7*), не описанные ранее в международных базах данных. Впервые описаны генетические варианты: D579Y, с.831G> A, с.1083G> A, с.3139G> A, с.4298A> G, с.3325delA, с.451delC, с.2619+1G>A, с.743+2T> A, с.252T> A, FTRdele12,13del16, CFTRdele19-22(17a-19), CFTRdel4-8(4-7); del10-11(9-10) [21].

С 2018 года стартовала программа по повышению охвата ДНК-диагностикой пациентов различных регионов. За 2 года (2018-2019) благодаря программе существенно повысился охват генетическим обследованием пациентов с муковисцидозом: в 2011 году охват генетическим исследованием по данным регистра составил 91,8% (949 человек) [47], а в 2019 г. увеличился до 95,6%) [23].

Активно проводится внедрение инновационных методов персонализированной диагностики и терапии муковисцидоза.

В 2017 году в отделе впервые в РФ был успешно внедрен метод определения разности кишечных потенциалов. С помощью данного метода была описана активность CFTR канала у пациентов с редкими мутациями, характерными для нашей страны.

Проводятся совместные исследования с лабораторией стволовых клеток по изучению редких генетических вариантов гена *CFTR* с использованием форсколинового теста на кишечных органоидах, проведение функционального анализа с помощью системы минигенов *in vitro* ряда генетических вариантов гена *CFTR*, влияющих на паттерн нормального сплайсинга .

Совместно с лабораторией стволовых клеток в МГНЦ создан криобанк кишечных органоидов с распространенными и уникальными генетическими вариантами *CFTR*. Получены стабильные культуры кишечных органоидов от пациентов с подтвержденным диагнозом «муковисцидоз», с диагнозом, требующим уточнения, и с подозрением на заболевание. Каждому пациенту проведены исследования по оценке функции CFTR и эффективности CFTR-модуляторов с использованием форсколинового теста. Полученные результаты могут стать основанием для персонализированного назначения таргетной терапии [20].

Продолжено изучение нутритивного статуса пациентов с МВ. В ряде региональных центров апробировано программное обеспечение «Мониторинг нутритивного статуса, рациона питания и ферментной терапии при муковисцидозе», позволяющее проводить оценку физического развития, адекватность дието- и ферментотерапии для каждого пациента с муковисцидозом. Включение в комплексное лечение алгоритма индивидуализированной коррекции диеты и заместительной ферментной терапии с использованием программного обеспечения оказало положительное влияние на нутритивный статус и функцию легких [38].

Наибольшее внимание уделено изучению микробиологического статуса пациентов с муковисцидозом и подбор рациональной антибиотикотерапии. Совместно с лабораторией молекулярной эпидемиологии госпитальных инфекций

ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России создана «Программа для контроля микробиологического пейзажа дыхательных путей больных муковисцидозом и чувствительности к антибактериальным препаратам» для оценки бактериального пейзажа дыхательного тракта и динамического контроля.

Продолжается работа по изучению микробиологической характеристики патогенов дыхательного тракта совместно с сотрудниками ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (проф. Шагинян И.А., Чернуха М.Ю., Аветисян Л.Р.), микробиоты дыхательного тракта методом секвенирования (лаборатория анализа геномов ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России – зав. лаб. к.б.н., доц. Воронина О.Л.) [26]. Впервые в России проведен мониторинг видового состава микрофлоры дыхательного тракта у больных МВ и антибиотикорезистентность за 2015-2020 годы (Поликарпова С.В., Кондратьева Е.И., Воронкова А.Ю., Чернуха М.Ю.). Сотрудники отдела поддержали Европейское общество по муковисцидозу (ECFS) по организации программы наблюдения ECFS-COVID19 для сбора анонимной информации по особенностям инфекции при муковисцидозе и обратились ко всем региональным Центрам муковисцидоза с просьбой информировать о случаях выявления и даже подозрении на COVID-19. При изучении фармакогенетики и фармакокинетики антибактериальных препаратов изучается влияние полиморфизма генов 1-й и 2-й фазы биотрансформации ксенобиотиков на эффективность антибиотикотерапии и риск развития нежелательных побочных реакций у пациентов с муковисцидозом. Результаты исследования показали, что индивидуальные различия в процессах биотрансформации у пациентов с муковисцидозом ассоциированы с тяжестью течения инфекций дыхательных путей. Так, у пациентов, являющихся «быстрыми метаболиторами» определена склонность к грамотрицательной инфекции, что оказывает существенное влияние на функцию легких, частоту бронхолегочных обострений, требующих проведения внутривенной антибиотикотерапии [43, 46, 54].

Изучены особенности фармакокинетики препаратов (ципрофлоксацина при инфекции, вызванной *P. aeruginosa*, амоксициллин/клавулановая кислота – *S. aureus*) [19]. Показаны возрастные особенности фармакокинетики, зависимость концентрации лекарственных средств в крови от типа метаболитатора. Исследование по фармакокинетике основных антибактериальных средств, применяемых при муковисцидозе (Кондратьева Е.И., Кондакова Ю.А., Шадрин В.В.), также было отмечено 1 премией на 42-м Европейском конгрессе в Ливерпуле (Великобритания) в 2019 году.

Тема хронического воспаления при муковисцидозе находится в центре пристального внимания, изучается активность антимикробных пептидов у детей с муковисцидозом. Продолжается изучение эффективности и безопасности противовоспалительных средств при лечении больных МВ с хронической синегнойной инфекцией. Организация медицинской помощи пациентам с муковисцидозом В 2019-2020 году проведены подробные исследования по стоимости лечебно-реабилитационной помощи детям с муковисцидозом [57]. Тридцатилетний опыт сотрудников отдела показал, что лечение в амбулаторных условиях, условиях дневного стационара имеет явные преимущества. Продолжал внедряться в практическое здравоохранение принцип активного диспансерного наблюдения за больными, показана его эффективность и целесообразность.

1.2 Генетика муковисцидоза. Этиология и патогенез болезни

С развитием современной медицины и изучением актуальных вопросов, касающихся наследственных болезней на стыке специальностей, привело к повышению знаний врачей клиницистов, работающих с больными МВ в вопросах генетики этого заболевания.

Конец XX века явился началом молекулярно-генетического периода в исследованиях наследственных заболеваний. Ген трансмембранный регулятор

проводимости муковисцидоза (*МВТР*) (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)*) был идентифицирован в 1989 г. и положил начало к новым подходам к лечению заболевания МВ.

Ген располагается на длинном плече хромосомы 7, в области q31, состоит из 27 экзонов и ответственен за синтез трансмембранного регуляторного белка муковисцидоза. Особенность данного белка в том, что он располагается на мембране большинства эпителиальных клеток и является по своей структуре хлорным каналом, принимает участие в мембранном транспорте по проведению других ионов. Такая распространенность белка в организме обуславливает полиорганность поражения при данном заболевании.

На поверхности мембраны апикальных клеток происходит абсорбция ионов хлора после абсорбции ионов натрия по натриевым каналам. В результате баланс этих двух транспортных потоков приводит к поддержанию должной толщины цилиарного клиренса для защиты от бактериальных и вирусных агентов. В случае нарушения работы этого слаженного пассажа ионов уменьшается объем жидкости на поверхности дыхательных путей с нарушением врожденной системы удаления бактерий, доказаны аналогичные нарушения транспорта Na^+ и Cl^- и в тканях органов желудочно-кишечного тракта [120]. Мутации гена *CFTR* нарушают не только транспорт, но и секрецию ионов хлора. При затруднении их прохождения через клеточную мембрану увеличивается реабсорбция натрия железистыми клетками, нарушается электрический потенциал просвета, что вызывает изменение электролитного состава и дегидратацию секрета желез внешней секреции. В результате выделяемый секрет становится чрезмерно густым и вязким. При этом страдают легкие, желудочно-кишечный тракт, печень, поджелудочная железа, мочеполовая система.

К настоящему времени накоплена информация о более 2100 патогенных вариантов гена *МВТР* (мутаций по старой классификации), которые могут быть патогенными, вероятно патогенными, нейтральными и с неясной клиникой [75]. Хотя у некоторых пациентов болезнь протекает в более легкой форме, у подавляющего большинства наблюдаются типичные клинические признаки

хронического заболевания легких, экзокринной недостаточности поджелудочной железы и повышенная концентрация хлоридов в потовой жидкости. Клиническая гетерогенность при муковисцидозе (подчеркнём, что МВ традиционно определяется как моногенное заболевание) обусловлена не только аллельной гетерогенностью, но и эффектами других модифицирующих локусов, а также негенетических факторов, например, факторов внешней среды [74].

По характеру изменений нуклеотидных последовательностей в порядке убывания тяжести изменений можно выделить нонсенс – преждевременное образование стоп-кодона; миссенс – замена аминокислоты одну на другую; делеции и инсерции, которые приводят к сдвигу рамки считывания и далее нарушения сайта сплайсинга, инсерции и делеции не приводящие к сдвигу рамки считывания.

Наиболее известной является классификация патогенных вариантов в зависимости от их функциональных последствий согласно которой все варианты гена *MBTP* разделены на 6 классов:

Класс 1. Нарушение синтеза протеина – самые значительные по тяжести мутации, так как синтез белка абсолютно нарушен. К ним относят нонсенс мутации.

Класс 2. Нарушение созревания пептида – приводят к некорректному сворачиванию белка и полной гликозилированности. Многие миссенс мутации относятся к этому классу. Самой известной является мутация F508del.

Класс 3. Нарушение регуляции хлорного канала – белок синтезируется и встраивается в мембрану, однако не реагирует на стимуляцию цАМФ, а следовательно, нарушена регуляция и транспорта ионов не происходит.

Класс 4. Нарушение проводимости хлорного канала – все мутации со снижением проводимости канала.

Класс 5. Снижение количества функционального белка

Класс 6. Сниженная стабильность молекулы белка.

Традиционно перечисленные классы мутации делят на группу с более серьезными функциональными нарушениями, тяжелые мутации – 1-3 класс,

ассоциированные с классическими проявлениями МВ и группу с меньшими функциональными последствиями, мягкие мутации – 4-5 класс вариантов гена МВТР. В случае мягких мутаций сохраняется остаточная функция хлорного канала и можно наблюдать отсутствие грубых проявлений недостаточности поджелудочной железы и более низкие значения концентрации хлоридов пота при диагностике.

К настоящему моменту в базе данных мутаций гена *CFTR* – *CFTR1* отмечены 2090 вариантов. Наиболее распространенным патогенным вариантом является делеция трех нуклеотидов в 10 экзоне, приводящая к потере остатка фенилаланина в 508 положении молекулы белка (F508del). Согласно данным Европейского Регистра больных муковисцидозом (ECFSPR) за 2016 год относительная доля этой мутации составляет около 61,73% всех обследованных МВ хромосом [90]. Еще пятнадцать патогенных вариантов можно отнести к частым в мировой выборке, обследованных МВ аллелей, относительные частоты каждой из них превышают 0,5%: G542X – 2,66%, N1303K – 2,14%, G551D – 1,40%, W1282X – 1,07%, R117H – 1,04%, 2789+5G->A – 0,97%, 3849+10C->T – 0,87%, 1717G->A – 0,87%, R553X – 0,83%, *CFTR*dele2,3 – 0,82%, 621+1G->T – 0,65%, 2188AA->G – 0,59%, R1162X – 0,54%, D1152H – 0,54%, R347P – 0,50% [89]. Остальные мутации суммарно составляют 22,78% от всех обследованных МВ аллелей. Большинство из них являются редкими или даже уникальными. Молекулярно-генетические варианты МВ, обнаруженные у небольшой группы больных или даже в единственной семье, в некоторых популяциях могут достигать значительных частот. Распределение и частота мутаций гена *CFTR* значительно различаются в разных странах и этнических группах. Обобщению данных о частоте МВ, спектре и распределению мутаций гена *CFTR*, обуславливающих МВ, было посвящено объединенное заседание Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) в 2002 году, сведения по европейским пациентам ежегодно заносятся в Европейский регистр больных муковисцидоза – ECFPR. С 2011 года Российская Федерация выпускает собственный Регистр больных муковисцидозом, данные из которого заносятся в ECFPR. Данные

о генетической гетерогенности больных МВ имеют огромное значение как для организации помощи больным, так и для прогноза заболевания.

Например, самая частая мутация МВТР F508del в регионе Дании – Фарерские острова составляет 100%, а в Турции до 20%. В странах Средиземноморского бассейна частота этой мутации составляет около половины всех пациентов МВ. Также есть так называемая «восточно-славянская мутация» CFTR dele 2,3, часто встречающаяся (до 5%) в странах Восточной Европы, в том числе РФ. История развития каждой популяции и варианты гена МВТР зависят от динамики перемещения популяции в период ее формирования и после.

Именно поэтому генетическое разнообразие *МВТР* российских пациентов имеет широкий спектр, вследствие военно-исторических причин, обширности территорий, а также большого количества национальностей, проживающих в государстве. Самыми частыми патологическими вариантами в РФ являются F508del (53%), далее упомянутый CFTR dele 2,3 (6,09%) и E92K (3,04%) согласно последнему регистру МВ 2021 г. [34].

С повсеместным внедрением неонатального скрининга в 2006-2007 года в РФ появилась возможность выявления заболевания у новорожденного пациента до старта клинических проявлений.

Исследования корреляции генотипа и фенотипа выявили связь тяжелых аллельных вариантов с типичной мультиорганной формой муковисцидоза, в то время как мягкие варианты коррелируют с моносимптомными (в основном лёгочными) и (или) манифестирующими у взрослых заболеваниями, называемыми расстройствами, связанными с CFTR.

Зависимость генотипа и тяжести течения патологического процесса в легких убедительно не установлена, многие аспекты этой проблемы остаются спорными и дискуссионными. Изучая влияние возраста и генотипа на функцию лёгких у детей с МВ, в РФ – (800 детей, в возрасте 6-18 лет), авторы приходят к выводам, что при «тяжёлых» генотипах с возрастом показатели ОФВ1 и ФЖЕЛ снижаются, при «мягких» генотипах, изменения не однозначны, в частности наблюдалось снижение в подростковом возрасте (14-15 лет), но повышение

в другой группе 15-18 лет по сравнению с ними же в 11-14 лет) [8]. Различия в генотипе детей и взрослых больных МВ закономерны. «Тяжелые» генотипы достоверно чаще встречаются в группе детей, 3936 случаев против 306 в группе взрослых, и наоборот в группе взрослых достоверно больше «мягких» генотипов – 1356 против 245 [44].

За последнее десятилетие наблюдается рост числа взрослых больных МВ. В РФ согласно ежегодному регистру больных МВ РФ (808 пациентов (2019)), 2020 г., среди которых значительную долю (36%, 2019) составляют мягкие генотипы, однако их фенотипы остаются недостаточно изученным. Исследование влияния взаимодействия генотипа и фенотипа позволит прогнозировать тип течения заболевания и улучшить качество помощи пациентам. Очень большое значение у взрослых пациентов придаётся факторам, которые могут влиять на падение ФВД, такие как нутритивный статус, недостаточность поджелудочной железы, изменения гепатобилиарного тракта, хроническая инфекция и применяющееся антибактериальная терапия. Не вызывает сомнений факт, что именно поражения лёгких и осложнения со стороны органов дыхания являются основной причиной смерти взрослых больных МВ [112].

Генетические особенности МВТР в СПб, ЛО и их влияние на фенотип пациентов МВ, особенно в подгруппе взрослых, изучены недостаточно.

1.3 Полиморфизм поражения различных органов и систем как отражение генетической гетерогенности болезни

Прогрессирующие хронические заболевания бронхолегочной системы нередко сопровождаются повышением давления в малом круге кровообращения и дисфункцией правого желудочка (ПЖ), что утяжеляет течение основного патологического процесса и предопределяет неблагоприятный прогноз. Прогрессирующие и тяжелые нарушения со стороны бронхолегочной системы

у взрослых больных МВ нередко приводят к развитию прекапиллярной легочной гипертензии, что ухудшает прогнозы течения заболевания.

В результате обструкции в легких появляются зоны с невентилируемыми (альвеолярная гипоксия), но перфузируемыми альвеолами. В этих участках происходит смешивание венозной и артериальной крови, оттекающей от легких, возникает так называемый шунт. В норме величина легочного шунта не превышает 5-6% от величины сердечного выброса и обусловлена наличием бронхиальной легочной циркуляции (сосудистой системы, кровоснабжающей бронхи). У больных МВ величина легочного шунта возрастает при усугублении обструктивных нарушений, что приводит к гипоксемии. Снижение парциального напряжения кислорода в артериальной крови может быть обусловлено как гиповентиляцией, так и формированием внутрилегочного шунта справа налево, который плохо поддается кислородотерапии даже с высоким содержанием кислорода во вдыхаемом воздухе.

Показано, что хроническое воспаление приводит к эндотелиальной дисфункции и повышению легочного сосудистого сопротивления, что, в свою очередь, способствует повышению давления в ЛА. Эндотелиальная дисфункция приводит к хроническому снижению продукции вазодилататоров, наряду с избыточной выработкой вазоконстрикторов.

У большинства больных муковисцидозом панкреатическая недостаточность проявляется уже в неонатальный период. После рождения ребенка процессы закупорки протоков ПЖ от мелких к крупным продолжаются. С рождения и в течение последующих месяцев жизни в кровь ребенка продолжают поступать панкреатические белки. Например, иммунореактивный трипсиноген, который стал основой для протоколов неонатального скрининга на МВ. Интересно, что разрушительные процессы экзокринной части ПЖ в период новорожденности происходят совершенно бессимптомно, хотя они представляют собой выраженное воспаление с обструкцией протоков вязким содержимым, деструкцией ацинусов и генерализованным фиброзом всего органа.

Неминуемым следствием разрушения поджелудочной железы становится нарушение переваривания и всасывания в желудочно-кишечном тракте, прежде всего жиров и белков. При отсутствии соответствующего лечения эти процессы приводят к задержке физического развития ребенка. Примерно у 20% подростков и до 50% у взрослых пациентов развивается муковисцидоз зависимый диабет (МВЗД). Это уникальная форма диабета, имеющая признаки как 1, так и 2 типа. У некоторых пациентов с сохранной экзокринной функцией ПЖ также с возрастом может развиваться МВЗД. Обсуждаются и другие возможные факторы, кроме генетических, которые могут приводить к поражению ПЖ. В частности, роль процессов воспаления при МВ. На животных моделях были выявлены признаки того, что длительная нарушенная бикарбонатная секреция в двенадцатиперстной кишке может привести к панкреатическому ацинарному активирующему клеточную воспалительную реакцию [28].

Традиционно считается, что поражение ПЖ при муковисцидозе обуславливает следующие состояния: мекониевый илеус; стеаторея; выпадение прямой кишки; синдром дистальной интестинальной обструкции; панкреатит; диабет. Однако не все они обусловлены только панкреатической патологией. У 10-15% новорожденных заболевание манифестирует развитием мекониевого илеуса, как результата внутриутробной панкреатической недостаточности в сочетании с кишечными изменениями (повышенная вязкость кишечного секрета и низкая скорость продвижения кишечного содержимого). Позднее этим же механизмом обуславливается возникновение синдрома дистальной интестинальной обструкции. В связи с увеличением продолжительности жизни больных муковисцидозом (МВ), поражение печени становится важным клиническим проявлением, определяющим прогноз заболевания, наряду с легочными и трансплантационными осложнениями. Цирроз печени в общем списке причин смертности при муковисцидозе стоит на втором месте после бронхолегочных осложнений и составляет около 2,3-2,5% [81].

Поражение печени, как и многих других фенотипических проявлений МВ, зависит не только от генетического дефекта, но и от действия генов-модификаторов, находящихся вне локуса *CFTR*.

Наиболее специфичными показателями гепатобилиарной патологии при МВ являются повышение уровней ГГТП, 5-нуклеотидазы и щелочной фосфатазы.

Существуют прямые маркеры фиброза печени, параметры, которые непосредственно отражают уровень обмена веществ во внеклеточном матриксе печени: N-концевая последовательность проколлагена III, проколлаген IV типа, гиалуроновая кислота YKL-40, матричные металлопротеазы (MMPs), тканевые ингибиторы металлопротеаз (TIMPs) [14].

У больного с заболеванием печени о развитии портальной гипертензии говорят следующие клинические признаки: спленомегалия, асцит, печеночная энцефалопатия (ПЭ) и варикозное расширение вен пищевода.

Несмотря на то, что особое внимание при изучении муковисцидоза (МВ) уделяется легочным аспектам, желудочно-кишечные проявления играют значительную роль при данном заболевании, начиная с детского возраста.

Внешнесекреторная недостаточность поджелудочной железы проявляется у большинства пациентов с МВ уже при рождении или в первые недели жизни. Мальабсорбция жира приводит к замедлению роста, трудностям с набором веса и дефициту жирорастворимых витаминов и незаменимых жирных кислот. Большой процент пациентов страдает гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью и нарушением моторики кишечника. У значительного числа пациентов с МВ наблюдаются явления кишечной непроходимости, варьирующие от периодических болей в животе и запоров до потенциально опасного для жизни синдрома дистальной интестинальной обструкции (кишечной непроходимости), а также мекониевой непроходимости. Как уже было сказано выше, при МВ выявлена четкая зависимость между мутациями в гене *CFTR* и недостаточностью внешнесекреторной функции поджелудочной железы. Однако связь между другими проявлениями МВ и *CFTR* генотипом остается неоднозначной. В частности, течение бронхолегочного процесса, определяющее качество

и продолжительность жизни больных МВ в 90% случаев, напрямую не зависит от CFTR генотипа. Это же относится и к патологии, возникающей со стороны желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) [29].

В кишечном эпителии происходят те же процессы, что и в дыхательных путях, где секреция хлора, наряду с торможением натрия, является движущей силой для молекул воды, устремляющейся в просвет протоков. При МВ нарушение функции *CFTR* приводит к снижению секреции жидкости и хлора, что, в свою очередь, влияя на регуляцию эпителиальных натриевых каналов (ENaC), вызывает повышение всасывание натрия, а затем и жидкости из слизистого содержимого кишечника. Высокоспецифичные поражения для МВ со стороны ЖКТ это мекониевый илеус, синдром дистальной интестинальной обструкции или фиброзирующая колонопатия.

У 90% больных МВ отмечается увеличение слюнных желез, т.к. *CFTR* располагается в эпителиальных клетках слюнных протоков, однако выраженного клинического значения это не имеет [50]. В слюне уменьшается водный компонент и увеличивается концентрация кальция, однако закупорка слюнных желез вязким секретом и воспаление развивается крайне редко.

1.4 Микробиология инфекционно-воспалительного процесса у больных муковисцидозом

Люди с муковисцидозом (МВ) восприимчивы к инфицированию дыхательных путей различными видами бактерий [103].

Прогноз течения муковисцидоза (МВ) зависит от тяжести поражения органов дыхания и развития инфекционных осложнений, вызванных условно-патогенными микроорганизмами, среди которых доминирующую роль играют *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia cepacia complex*, *Achromobacter spp* [31]. Многие из этих видов

тесно связаны филогенетически и имеют сходные фенотипы, что затрудняет точную лабораторную идентификацию.

Летальные исходы больных МВ в 90-95% случаев происходят по причине инфекционного, часто генерализованного процесса.

У здоровых людей, попадающие в легкие бактерии попадают на слизистый слой, покрывающий основные дыхательные пути, и удаляются посредством мукоцилиарного очищения, а затем проглатываются и разрушаются кислотами желудка. Вследствие дефекта гена МВ мукоцилиарное очищение легких нарушается из-за вязкости дегидрированных секретов воздушных путей и происходит бактериальная колонизация легких.

Способность бактерий к формированию биопленки считается маркером возбудителя, который может вызывать хроническую инфекцию. Биопленки имеют важное клиническое значение, потому что в виде биопленок бактерии устойчивы к эрадикации фагоцитами и их элиминации при лечении антибиотиками (минимальная ингибирующая концентрация антибиотика увеличивается при этом в 100 и более раз) [125].

Хроническая инфекция у больных МВ связана с формированием биопленки на ткани легких.

Клинические синдромы, связанные с инфекционными заболеваниями, вызываемыми *S. aureus*, включают бактериемию, пневмонию, эндокардиты, септические артриты, остеомиелиты и формирование глубоких абсцессов. Особое значение для больных МВ представляют хронические гнойновоспалительные заболевания лёгких, вызванные *S. aureus*, протекающие в виде смешанной инфекции. *S. aureus* является условно-патогенным микроорганизмом, который в первую очередь колонизирует респираторный тракт у больных муковисцидозом [3]. Особое значение для больных муковисцидозом имеют метициллиноустойчивые стафилококки (MRSA), которые обладают устойчивостью ко многим антибиотикам. Метициллиноустойчивые стафилококки обнаруживаются во многих больницах большинства стран мира. MRSA распространяются от человека к человеку, обычно с рук медперсонала. Однако

могут встречаться и другие механизмы передачи, например, воздушно-капельный. Некоторые штаммы являются чрезвычайно трансмиссивными, распространяясь внутри палат, между палатами и из больницы в больницу. Вирулентность *MRSA* варьирует, однако она не выше, чем у метициллинчувствительных штаммов *S.aureus* [105, 106].

Среди возбудителей хронической инфекции лёгких у больных муковисцидозом значимое место занимают грамотрицательные неферментирующие бактерии, общими признаками которых являются природная устойчивость ко многим антибиотикам, высокая резистентность к дезинфектантам и распространение в больничных стационарах от больного к больному [116, 132].

Наиболее часто вызывающие инфекции НГОб принадлежат к нескольким родам, и условно могут быть разделены на оксидазоположительные – роды *Pseudomonas* (кроме видов *P. luteola* и *P. oryzihabitans*), *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Moraxella*, *Chryseobacterium*, и оксидазоотрицательные – роды *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter*, *Bordetella* (кроме *B. pertussis*, *B. avium*, *B. bronchiseptica*, *B. hinzii*). Большинство из упомянутых выше родов и видов НГОб обладают высокой степенью фенотипического и генотипического родства с бактериями рода *Pseudomonas* и многие из них еще в 90-х годах прошлого века относились к данному роду. Все из этих НГОб могут быть выделены из окружающей среды, однако клинической значимостью характеризуются только отдельные виды некоторых родов [128, 134].

Псевдомонады широко распространены в природе с преимущественным обитанием в окружающей среде, связанной с водой. Из-за их способности выживать в водной среде, эти микроорганизмы, особенно *P. aeruginosa*, стали одной из основных проблем как возбудители госпитальных инфекций [35].

Бактерии *P. aeruginosa* является ведущей причиной нозокомиальных инфекций дыхательного тракта. Особое значение имеют для больных муковисцидозом. Основную роль в патогенезе инфекции легких у больных

муковисцидозом играет мукоидный фенотип *P. aeruginosa* и воспалительные реакции больного [122].

Значимым признаком для *P. aeruginosa* является природная устойчивость ко многим антибиотикам: бензилпенициллину, ампициллину, амоксициллин-клавуланату, ампициллин-сульбактаму, цефалоспорином первого и второго поколения.

Это обусловлено с одной стороны, тем, что для многих микроорганизмов основной экологической нишей является почва, а среди почвенных микроорганизмов известно достаточное число штаммов-продуцентов антибиотиков, а с другой, – с многообразием у этих представителей различных внехромосомных элементов (плазмид, бактериофагов), способных нести в составе генома детерминанты лекарственной устойчивости. Помимо хорошо известных механизмов резистентности к антимикробным препаратам у неферментирующих, грамотрицательных бацилл распространены MDR насосы эффлюкса.

При геномном анализе клинически изолированного штамма *A. xylosoxidans* с фенотипическими исследованиями его важных патогенных признаков выявлены гены, участвующие в анаэробном росте, формировании биопленки, гены устойчивости к антибиотикам, кодирующих системы откачивания и ферменты, модифицирующие антибиотики [102]. Исследователи подчеркивают необходимость исследования и клинической патогенности *A. xylosoxidans* с целью повышения эффективности терапии данного микроба.

О колонизации легких *Vcc* у больных муковисцидозом впервые сообщено в начале 1970-х гг. Приблизительно у 20% больных, колонизированных *Vcc*, возникал, так называемый, «цепация синдром», характеризующийся некротизирующей пневмонией с лихорадкой, бактериемией, увеличением скорости оседания эритроцитов и лейкоцитозом, который приводил к быстрому летальному исходу.

Хроническая инфекция нижних дыхательных путей является ведущим фактором, определяющим тяжесть клинического течения и прогноз муковисцидоза (МВ). При изучении микрофлоры нижних дыхательных путей

различных возрастных групп детей, больных МВ, исследователями различных стран установлено, что основными возбудителями инфекции легких у больных МВ, являются *P. aeruginosa*, *S. aureus* и *H. influenzae*. Показано что в первые годы жизни у больных МВ доминирует золотистый стафилококк, а затем основным возбудителем становится синегнойная палочка [25, 52]. В последнее десятилетие очевидную клиническую значимость приобретают недостаточно изученные микроорганизмы – неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГОБ) – *Burkholderia cepacia complex (Bcc)*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter spp.*, нетуберкулезные микобактерии, грибы рода *Aspergillus*. При этом каждый патоген способен вызвать воспаление, которое может в той или иной степени привести к повреждению дыхательных путей, снижению лёгочной функции, ухудшению клинического статуса. С практической точки зрения для диагностики хронической инфекции приемлемыми являются критерии, предложенные Lee et al. (2003), согласно которым обнаружение патогена более чем в 50% образцов мокроты или смывов в течение предшествующих 12 месяцев может трактоваться как хроническая инфекция. Установлено, что в 2/3 случаев хроническая инфекция легких вызывается не монокультурой, а ассоциацией микроорганизмов. По данным российских авторов группы Е.И. Кондратьевой, наиболее часто встречающейся ассоциацией является сочетание *P. aeruginosa* + *S. aureus* (18,2%), а также *P. aeruginosa* + *Bcc* (9,1%). В 18% случаев от больных в составе микробных ассоциаций выделяли одновременно *P. aeruginosa* мукоидный и немучоидный фенотипы. В составе ассоциаций, кроме *P. aeruginosa*, часто выделяли других представителей НГОБ – *S. maltophilia*, *A. Baumannii*, что, вероятно, обусловлено тропизмом этих видов микроорганизмов к легочной ткани. В отношении *S. maltophilia* клиницисты ориентируются на клиническую картину и микробиологический профиль относительно того, следует ли лечить инфекцию *Stenotrophomonas maltophilia* у людей с муковисцидозом [69]. Полученные данные послужили основанием для заключения, что для больных МВ характерным проявлением инфекционных осложнений является смешанная инфекция и что *Bcc*

является госпитальной микрофлорой в отделениях, где проходят лечение больные МВ.

Проведя анализ полученных данных в отношении значительного количества пациентов с МВ из различных регионов Российской Федерации, мы стали применять разработанные алгоритмы комплексного подхода в рутинной микробиологической практике лаборатории.

Для пациентов Самарской области исследование жидкости назального лаважа уже вошло в протокол регулярного обследования. Благодаря этому, в 2019 году удалось на раннем этапе выявить колонизацию, а клиницистам назначить терапию затрагивающую ВДП у двух пациентов со штаммами *Achromobacter.xyl.* и одного пациента со штаммом *P. aeruginosa* с использованием ингаляторов с пульсовой подачей антибактериальных препаратов. Аналогичным образом, на основании проведенного исследования жидкости назального лаважа и выявления в ней штаммов *P. aeruginosa* была скорректирована лечащими врачами терапия пациента из республики Татарстан (достигнута микробиологически подтвержденная эрадикация из носа и зева), а также пациентки Оренбургской области (достигнута эрадикация штамма из легких, рост культуры из жидкости назального лаважа сохраняется, отмечено снижение количества с 10⁵ до 10² КОЕ/мл жидкости).

Анаэробные бактерии могут обитать в инфицированной анаэробной слизи дыхательных путей и по данным части исследователей колонизация синегнойной палочкой увеличивает вероятность присутствия анаэробных бактерий в мокроте [126, 131].

Также есть данные, что *P. aeruginosa* может адаптироваться или акклиматизироваться к окружающей среде в легких во время роста в бескислородных частях околоносовых пазух [65, 66].

Таким образом, разработка и внедрение в рутинную практику комплексного подхода к микробиологической диагностике бактериальных осложнений при МВ является актуальной задачей современной медицины. Предложенные подходы и

алгоритмы диагностики позволяют выявить колонизацию клинически значимыми штаммами бактерий на раннем этапе, что может служить эффективной профилактической мерой в отношении недопущения развития хронической бактериальной инфекции, особенно у тех пациентов, НДП которых еще не колонизированы указанными возбудителями. Своевременное выявление и назначение терапии в отношении указанных бактерий будет способствовать сохранению легочной функции и, как следствие, увеличению продолжительности жизни пациентов.

Такое динамичное изменение доминирующей актуальной флоры пациентов МВ, послужило поводом для старта изучения региональных особенностей. Настоящий вопрос в СПб и ЛО изучен недостаточно и явился одной из задач данного исследования.

1.5 Особенности взрослых пациентов с муковисцидозом

Успехи в лечении этого заболевания в детском возрасте привели пациентов во взрослые клиники и поставили новые вопросы перед специалистами, занимающимися вопросами лечения взрослых больных МВ.

Значительный рост числа взрослых больных муковисцидозом, произошедший за последние десятилетия во всем мире, стал убедительным подтверждением эффективности существующих подходов к лечению этого тяжелого моногенного заболевания. К важнейшим достижениям в оказании помощи больным МВ следует отнести: проведение неонатального скрининга и раннюю диагностику болезни, раннее начало лечения, наблюдение в специализированных центрах помощи для больных МВ командой специалистов, ингаляционную терапию препаратом рекомбинантной ДНКазы, ингаляционную антибактериальную терапию, введение в практику лечения микросферическими панкреатическими ферментами, развитие методик кинезиотерапии, появление

и активное внедрение таргетной (патогенетической) терапии, преемственность передачи больных из педиатрической системы во взрослую сеть, профилактику и лечение ожидаемых осложнений МВ, трансплантацию лёгких и печени, программу лечения дыхательной недостаточности, психологическую поддержку пациентов. Всё это ежегодно увеличивает средний возраст пациентов с МВ и существенно улучшает качество их [33, 47, 48, 49]. В 2018 г. медиана выживаемости больных МВ в США и странах Западной Европы приблизилась к 40 годам. В России также имеет место значительное увеличение продолжительности жизни и доли взрослых пациентов. По данным Регистра больных муковисцидозом в Российской Федерации, 2022 года (в Регистре имеются сведения о 3142 больных проверять из 81 региона) доля взрослых, старше 18 лет составила 24,7%, в некоторых Федеральных округах она достигает 40%, в Москве – 35,7% от числа наблюдаемых пациентов, что является хорошим показателем и сопоставимо с количеством взрослых в странах Евросоюза. В данном году в Регистре при расчёте выживаемости использован статистический подход Североамериканского регистра больных МВ. Проведен расчёт продолжительности жизни для пациентов за 2014-2018 годы. Медиана ожидаемой продолжительности составила 33,8 лет, доверительный интервал – 30,6-37,2 года. Самый старший по возрасту больной МВ наблюдался в Москве, ему в 2022 году было 73 года. В Санкт-Петербурге – 65 лет в 2022 г. В качестве исторической справки стоит вспомнить, что достаточно долго, в связи с низкой выживаемостью, МВ во всем мире являлся педиатрической проблемой. Только, в шестидесятых годах прошлого века появились отдельные наблюдения МВ у подростков и взрослых, причем авторы подчеркивали, что патология органов дыхания у этих больных превалировала над изменениями со стороны желудочно-кишечного тракта. В 1979 году ведущие специалисты в области МВ Р. Di Sant Agnese и P.V. Davis утверждали, что МВ является одной из частых причин хронических обструктивных заболеваний легких у лиц до 30 лет. Эти прогнозы в дальнейшем полностью оправдались. Атипичные (нормальный «потовый» тест), стертые и (или) легкие формы МВ долгое время относили к другим нозологиям:

хроническому бронхиту, локальным и множественным бронхоэктазиям. После введения в практику молекулярно-генетических методов диагностики было выявлено, что в большинстве подобных случаев имел место «мягкий» генотип МВ с минимальными проявлениями панкреатической недостаточности. Молекулярно-генетические методы исследования значительно расширили возможности диагностики и уточнили особенности фенотипических проявлений при разных генотипах больных. «Муковисцидоз взрослых» можно условно разделить на две неравные группы основная часть – больные, заболевшие в раннем детстве, диагноз у которых был поставлен рано (правильнее сказать – своевременно), достигшие взрослого возраста, переданные в 18 лет для дальнейшего наблюдения и лечения во «взрослую» клинику и меньшая часть – больные с поздней манифестацией. С современных позиций это скорее всего гомозиготы по мягким мутациям или компаунды – «тяжёлая» + «мягкая» мутация. Введение в 2007 г. неонатального скрининга на территории РФ определило существенный прогресс в ранней верификации МВ (неонатальный скрининг, популяризация знаний о МВ среди врачей, медицинской общественности и населения, стандартизация потового теста, улучшение генетического тестирования). Тем не менее, среди больных старшего возраста случаи врачебных ошибок и поздней диагностики заболевания не являются редкостью, хотя в отдельных случаях поздняя диагностика МВ при нетипичной картине болезни скорее свидетельствует о достаточной квалификации врача и заинтересованном отношении к необычному пациенту. При анализе материала о сроках диагностики МВ на основании данных, начиная с 2011 года, установлено, что в 2022 году правильный диагноз верифицирован в старшем возрасте в 3,3% от общего числа больных и у 13,1% среди группы взрослых. Максимальный возраст диагностики МВ составил 59 лет.

В связи с возросшей общемировой частотой инфицирования нижних дыхательных путей микроорганизмом *Achromobacter xyl.* у пациентов с муковисцидозом за последние 15 лет, а также увеличение доли взрослых пациентов с муковисцидозом, влияние приобретенной устойчивости данной

оппортунистической инфекции к карбапенемам на вентиляционную функцию остается малоизученной. Исследования влияния резистентных штаммов *Achromobacter xyl.* к карбапенемам на динамику снижения ОФВ1, нутритивный статус у взрослых пациентов с муковисцидозом с различными генотипами в течении длительного временного промежутка в РФ ранее не проводилось.

1.6 Принципы организации помощи больным муковисцидозом

Актуальная проблема по резистентности персистирующих возбудителей привела к тому, что помимо классического сочетания стационарного и амбулаторного этапов, больные часто получают антибиотики широкого спектра внутрь, внутривенно или ингаляционно. Нередко это происходит в домашних условиях, что позволяет сохранить функцию легких и предотвратить госпитализацию. В то же время происходит отбор устойчивых штаммов и появляются полирезистентные возбудители. В связи с этим, профилактика перекрестного инфицирования больных муковисцидозом – одно из важных условий стабилизации респираторной функции, уменьшения числа обострений и увеличения выживаемости больных муковисцидозом.

Меры по профилактике инфекций в стационаре, в амбулаторных лечебных учреждениях и в домашних условиях различаются и не взаимозаменяемы. Так, например, по сравнению с амбулаторными больными больные в стационаре в целом более тяжелые и выделяют больше мокроты с высоким содержанием патогенных микроорганизмов. Контакт между больным и медицинским работником в амбулаторных условиях может быть более длительным и тесным при визите по поводу заболевания, чем при плановом визите.

Все больные муковисцидозом, у которых выделена *Burkholderia cepacia*, метициллиноустойчивые штаммы *Staphylococcus aureus* или устойчивые к ванкомицину энтерококки, должны находиться в одноместных палатах с

отдельным душем [87]. Больных муковисцидозом, которые не инфицированы *Burkholderia cepacia*, метициллиноустойчивыми штаммами *Staphylococcus aureus* и устойчивыми к ванкомицину энтерококками, по возможности помещают в одноместные палаты или в палату с больными, не страдающими муковисцидозом и с низким риском инфекций.

За последние 40 лет наблюдается увеличение среднего возраста выживаемости пациентов с муковисцидозом. Этот прогресс был достигнут благодаря уровню помощи, оказываемой педиатрами и взрослыми врачами в центрах по уходу за муковисцидозом.

С увеличением количества взрослых пациентов МВ все чаще диагностируются взрослые пациенты с атипичным МВ. Опыт лечения МВ подчеркивает важность связанных со здоровьем взрослых психосоциальных проблем. Как указывает J. Zack et al. [135] современные пациенты МВ старше 18 лет ведут полноценную социальную жизнь, в среднем 60% работают, 36% состоят в браке и у 40% есть дети.

Центры по уходу за муковисцидозом централизуют и интегрируют знания и навыки различных областей медицины для оказания специализированной помощи пациентам с детства до зрелого возраста.

Переход к взрослой жизни важен для успешного перехода к лечению БФ у взрослых.

Также M. Roussey et al. отмечает, что важно инициировать региональные научные исследования в центрах МВ, особенно разработку новых методов лечения, что будет способствовать увеличению продолжительности жизни [123].

Различные центры МВ с увеличением среднего возраста и количества взрослых пациентов МВ активно готовится к увеличению числа молодых людей, нуждающихся в специализированной помощи, ориентированной на взрослых. Однако наилучшие результаты возможно получить в случае ориентации именно на микробиологические, социальные и психологические особенности взрослых пациентов МВ [88].

Таким образом непрерывность лечения этого мультисистемного заболевания в системе цикла амбулаторной и стационарной службы лучше всего обеспечить при сотрудничестве между лечащим врачом пациента и междисциплинарной команды по лечению муковисцидоза, а также с условием изучения региональных особенностей фенотипа взрослых пациентов МВ.

1.7 Новая коронавирусная инфекция COVID-19 у пациентов с муковисцидозом

В первые месяцы пандемии коронавирусной инфекции COVID-19 врачи, работающие с пациентами с МВ опасались худшего, ожидая, как минимум, тяжелого течения новой инфекции у пациентов с хроническим инфекционным заболеванием легких. Любая вирусная инфекция может провоцировать тяжелое обострение МВ, и пандемия новой вирусной инфекции вызвала особенную настороженность. Во время пандемии гриппа 2009 года вирус H1N1 вызвал значительное увеличение обострений у пациентов МВ, части пациентов с тяжелым течением потребовалось проведение ИВЛ, ухудшение сопровождалось высокой летальностью [109].

В центрах МВ Европы и США были усилены профилактические меры, которые скрупулёзно выполнялись в этой группе пациентов, такие как использование масок для лица, соблюдение надлежащей гигиены рук, далее добавились замена очных визитов на теле медицинское консультирование, отмена исследований функции внешнего дыхания и выполнения бронхоскопии для предотвращения распространения вируса.

Европейский Центр МВ организовал регистр пациентов МВ, перенесших COVID9 ECFSPR, куда были включены пациенты из 30 стран.

В многонациональном когортном исследовании 40 человек с CF из восьми стран-участниц заболеваемость SARS-CoV-2 составила 0,07%, что примерно

половина от показателя в 0,15%, зарегистрированного среди населения в целом. Средний возраст инфицированной когорты составил 33 года, что было выше среднего возраста общей популяции CF, при этом только один пациент (3%) был моложе 16 лет; это отражает меньшее количество сообщений о педиатрических случаях COVID-19, диагностированных в популяции, не связанной с CF [72].

Вероятно, это связано со строгим соблюдением мер социального дистанцирования у этих пациентов с детства. Их повседневная жизнь уже включает регулярная ингаляционная терапия, соблюдение терапии и тщательной гигиены, ношение масок в общественных местах, ограничения на посещения мероприятий в закрытых помещениях во избежание передачи вирусных и бактериальных патогенов от пациента к пациенту. Также обсуждается возможная эффективность ежедневного ингаляционного приема дорназы альфа у пациентов МВ как цитокинового шторма и тяжелого течения COVID-19 инфекции.

С патогенетической точки зрения повышенные концентрации эластазы нейтрофильных клеток связаны с усилением повреждения легких и снижением легочной функции при МВ. Соответственно, ингибиторы эластазы нейтрофильных клеток успешно используются в испытаниях для лечения МВ. Следует отметить, что провоспалительный дисбаланс избыточной эластазы нейтрофильных клеток участвует в развитии острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), связанного с COVID-19 [82].

Следовательно, ингибиторы эластазы нейтрофилов также были предложены в качестве потенциальных методов лечения, которые могут быть перепрофилированы для лечения ОРДС и связанного с ним повреждения легких/

Кроме того, ингаляционная дорназа альфа, распространенное лекарство от CF, в настоящее время проходит испытания для лечения COVID-19 [118]. Его предполагаемый защитный эффект связан с его очисткой от внеклеточных ловушек нейтрофилов, которые играют патогенную роль при инфекции SARS-CoV-2 [93].

Наконец, азитромицин, часто назначаемый антибиотик при CF, было высказано предположение о потенциальном воздействии на COVID19 – как

путем модуляции иммунного ответа, так и из-за слабой противовирусной активности [99]. Несмотря на то, что в начале пандемии большинство медицинских сообществ классифицировали пациентов МВ как особо уязвимых к респираторному дистресс синдрому от коронавирусной инфекции, текущие международные данные свидетельствуют о том, что уровень заболеваемости ниже среднего по сравнению с населением в целом [92].

Подводя итог, следует сказать, что пациент с МВ, подвергшийся воздействию SARS-CoV-2, может принимать лекарства, которые смягчают клинически тяжелую форму COVID-19.

Отмечена разнородность данных по заболеваемости новой коронавирусной инфекции COVID-19 у пациентов МВ в зависимости от страны и региона. Вопрос особенностей течения новой коронавирусной инфекции COVID-19 у взрослых пациентов СПб и ЛО изучен недостаточно и явился одной из задач данной работы.

Глава 2

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Общая характеристика обследованной группы больных и методы формирования клинических групп

Набор пациентов и клиническая часть работы выполнялась на базе пульмонологического отделения № 2 Центра Интенсивной Пульмонологии и Торакальной Хирургии СПб ГБУЗ Городской Многопрофильной Больницы № 2 Санкт-Петербурга. Было проведено открытое ретроспективно – проспективное сравнительное исследование. Длительность исследования составила 6 лет – с января 2016 по декабрь 2021 гг.

Диагноз заболеваний устанавливался согласно диагностическим критериям ECFS 2014 (European Cystic Fibrosis Society – Европейское общество муковисцидоза) [83], и далее обновленные стандарты диагностики ECFS 2018 [76].

В исследование включено 60 взрослых пациентов от 18 до 65 лет, из них 27 (45%) женщин и 33 (55%) мужчин. Нижний возрастной порог пациентов объясняется статусом взрослого человека при достижении 18 лет согласно ВОЗ и стартом наблюдения и лечения пациента во взрослой сети здравоохранения РФ. Наблюдение и лечение в центре муковисцидоза СПб ГМПБ2 представляет собой систему замкнутого цикла, где амбулаторные пациенты регулярно обследуются (посев мокроты при каждом плановом визите, но не чаще 1 р в 3 месяца и исследование ФВД согласно клиническим рекомендациям МВ в РФ [16, 18]) и при наличии показаний проходят стационарное лечение в специально оборудованных палатах пульмонологического отделения больницы. После завершения стационарного этапа, пациенты продолжают наблюдение амбулаторно с фиксацией всех данных анамнеза и исследований в амбулаторной карте. Все пациенты подписали форму информированного согласия при каждом

стационарном лечении и ежегодное информированное согласие на амбулаторное консультирование и обследование.

За время данного исследования проанализированы и отобраны данные из 273 историй болезни (48 (2016); 41 (2017); 59 (2018); 56 (2019); 36 (2020); 33 (2021), 60 амбулаторных карт и 383 посевов мокроты, включенных в исследование пациентов. Снижение количества визитов и исследований в 2020-2021 гг. связаны с пандемией новой коронавирусной инфекции и последующим ограничением очных контактов с пациентами.

При анализе за год таких количественных показателей пациентов как ИМТ, ОФВ1, учитывались лучшие показатели за календарный год.

В рамках исследования анализировались случаи хронической инфекции нижних дыхательных путей, при котором пациенты получали плановые 14 дневные курсы антибактериальной терапии согласно текущим клиническим рекомендациям по лечению МВ РФ. Случаи интермиттирующей инфекции не включались в исследование ввиду иной эрадикационной схемы лечения согласно клиническим рекомендациям по лечению МВ РФ. В нашей работе мы применяли общепринятые мировым обществом МВ критерии хронической инфекции Lee et al. (2003), согласно которым обнаружения микробиологического патогена более чем в 50% образцов мокроты в течение прошедших 12 месяцев расценивается как хроническая инфекция, в случае высева патогенна менее чем из 50% образцов мокроты за прошедшие 12 месяцев расценивается как интермиттирующая инфекция. Было выделено 14 пациентов с хроническим инфицированием *Achromobacter spp.* и 22 пациента с *P. aeruginosa*: из них 8 пациентов с немуюкоидным штаммом и 14 пациентов с мукоидным штаммом. Пациенты получали лечение согласно текущим клиническим рекомендациям. Антибактериальная терапия назначалась по результатам чувствительности выделенных микроорганизмов. При выделении в мокроте одновременно двух и более микроорганизмов, выбор антибактериального препарата осуществлялся в зависимости от свойств более резистентного возбудителя, а также с учетом природной резистентности выделенных патогенов.

Все пациенты выполняют ингаляционную терапию через компрессорный небулайзер с соблюдением мер санитарной обработки небулайзера после каждого использования.

Генетическое исследование пациентов, проживающих в Санкт-Петербурге выполнялось в НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отто. В случае установки генетического статуса в другом регионе на момент постановки диагноза, результат учитывался согласно заключению по проведению полногеномного секвенирования гена *CFTR*.

С 2020 г. по 2022 г. СПб ГБУЗ ГМПБ2 как городской многопрофильный стационар неоднократно перепрофилировался для оказания медицинской помощи пациентам с новой коронавирусной инфекцией COVID-19. Все пациенты МВ, в т.ч. включенные в настоящее исследование, которым требовалось стационарное лечение COVID-19 проходили курс терапии в пульмонологическом отделении в периоды перепрофилирования.

Критерии включения:

1. Пациенты старше 18 лет обоих полов.
2. Проживающие в Санкт-Петербурге и Ленинградской области.
3. Установленный диагноз муковисцидоз согласно диагностическим критериям ECFS (European Cystic Fibrosis Society – Европейское общество муковисцидоза) 2014 г. [105] и далее обновленные стандарты диагностики ECFS 2018 [99].

Критерии не включения:

1. Возраст менее 18 лет.
2. Некомплаентные пациенты, не следующие рекомендациям по лечению.

Критерии исключения:

1. Период наблюдения в центре муковисцидоза менее 2 лет.

Указанный минимальный для включения период наблюдения аргументирован минимальными сроками 12 месяцев установки хронического

инфицирования, и необходимостью последующего года для оценки достоверной динамики микрофлоры и эффективности лечения.

Методы исследования, использованные в данном исследовании, были определены междисциплинарной командой специалистов по МВ.

2.2 Методы исследования

2.2.1 Общие методы исследования

1. Сбор жалоб, анамнеза и опрос по системам и органам при поступлении в стационар и на амбулаторном визите.

2. Объективный осмотр по органам и системам.

Сбор анамнеза проводился в палате отделения или амбулаторно-консультативном кабинете пульмонолога.

В результате осмотра особое внимание уделялось оценке нутритивного статуса и признакам дыхательной недостаточности больного.

2.2.1.1 Антропометрическое исследование

Измерение массы тела проводилось на метрологически проверенных медицинских весах пульмонологического отделения № 2 СПб ГБУЗ ГМПБ2. Исследование проводилось в утреннее время натощак.

Измерение роста проводилось в положении стоя измерительной планкой по верхушечной точке при стандартном положении головы. Вертикальный ростомер устанавливался в срединной вертикальной плоскости. Во время измерения роста

пациент касался вертикальной планки четырьмя точками: затылком, лопатками, ягодицами и пятками.

Нутритивный статус оценивался по показателю индекс массы тела (ИМТ = вес/рост² (кг/м²): более 18,5 кг/м² – норма; менее 18,5 кг/м², но более 16 кг/м² – дефицит массы тела; менее 16 кг/м² – выраженный дефицит массы тела.

Исследование роста и веса проводилось одним и тем же исследователем, теми же инструментами.

При МВ оценке физического статуса придается огромное значение, т.к. низкий нутритивный статус может определять тяжесть течения заболевания, его прогноз и качество жизни.

2.2.1.2 Генетическое исследование

Согласно международным клиническим рекомендациям ECFS, а также российскому Консенсусу по муковисцидозу рекомендована молекулярная диагностика – секвенирование гена МВТР по Сенгеру.

Генетическое исследование гена МВТР. 100% включенных пациентов генетически обследованы: использовано генотипирование наиболее распространенных мутаций (30 частых мутаций в Санкт-Петербурге) или полноэкзомное секвенирование гена МВТР в случае выявления только одной мутации (метод Сэнгера). Мутации МВТР I-III классов отнесены к «тяжелым» мутациям, мутации IV-V классов отнесены к «мягким» мутациям (критерии ERCF 2001 г).

Также важно отметить о понимании вариативных мутаций у данных пациентов. Однако при оценке генетиком группы пациентов, включенных в исследование, не оказалось вариантов генов из этой группы.

2.2.1.3 Исследование функции внешнего дыхания

Исследование ФВД проводилось в отделении функциональной диагностики СПб ГБУЗ ГМПБ№ 2 на бодиплетизмографе экспертного уровня MasterScreen Body Care Fusion, Jager в соответствии с Федеральными клиническими рекомендациями по использованию спирометрии Российского Респираторного Общества. Метод спирометрии выбран для оценки функционального статуса, как доступный метод исследования, достоверно отражающий дыхательные объемы.

Прибор в полной мере соответствует техническим требованиям, проходил ежедневную калибровку для исключения утечки воздуха. Проверки зафиксированы в журнале калибровки.

Врачом функциональной диагностики пациенту проводилось 3 и более теста дыхательного маневра, с перерывами 1-2 мин, до достижения 3 достоверно сопоставимых попыток, с соблюдением правильного паттерна дыхательного маневра.

Дыхательный маневр – это измерение ЖЕЛ выдоха, когда сначала выполняется глубокий вдох, затем выдох. Характер нарушений дыхания определялся с помощью границ нормы и отклонений по Р.Ф. Клементу и соавт. (1986 г.).

Критерии качества исследований соблюдены в каждом исследовании и проверены врачом функциональной диагностики. Для анализа результата учитывались лучшие абсолютные показатели значений ОФВ1 и ФЖЕЛ за год согласно принятым стандартам.

2.2.1.4 Микробиологическое исследование

Исследовалась свободноотделяемая мокрота, как оптимальный биоматериал для микробиологического исследования респираторных инфекций, сбор

и транспортировка образцов биоматериала проводилась согласно Методическим указаниям по микробиологической диагностике инфекций дыхательных путей у пациентов с муковисцидозом 2019 г.

Частота микробиологического обследования респираторных инфекций у пациентов с МВ составляла 1 раз в 3 месяца. Основным методом диагностики хронической респираторной инфекций являлся культуральный метод с посевом респираторных образцов на неселективные, селективные и хромогенные питательные среды (рекомендуемые питательные среды для основных этиологически значимых микроорганизмов респираторных инфекций при МВ [39, 42]). Выявление грамотрицательных бактерий, идентификация которых может вызывать трудности: *Achromobacter spp.*, *Burkholderia spp.* [84], идентифицированы методами молекулярной идентификации (времяпролетная масс-спектрометрия MALDI-TOF MS). Определение чувствительности микроорганизмов, выделенных от пациентов с МВ, к антибактериальным препаратам и интерпретацию результатов проводили в соответствии с Клиническими рекомендациями «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам 2019 г.» [40, 41].

Идентификация бактерий комплекса *B. ceracia* является многоэтапной и единственной в практике, где необходима комбинация фенотипических и генотипических методов, т.е. использование полифазного таксономического подхода.

Фенотипически сложно идентифицировать *Achromobacter spp.* Очень часто *Achromobacter spp.* ложно диагностируют как *Bcc* в связи с фенотипическим сходством с *Bcc* при культивировании на 5% кровяном агаре и ростом на BCSA-селективной для *Bcc* среде. Для подтверждения принадлежности бактерии к виду *Achromobacter spp.* необходимо использовать биохимические тест системы, например API 20 NE (BioMerieux), MALDI-TOF и ПЦР для выявления локуса в 16S рДНК со специфическими праймерами [53]. Точность идентификации микроорганизмов при использовании различных методов Методы идентификации

Микробиологический Молекулярно-генетический – ПЦР со специфическими праймерами MALDITOF.

Оценка результата идентификации с использованием MALDI-ToF масс-спектрометра проводилась автоматически с помощью программного обеспечения MALDI Biotyper RTC по уровню коэффициента совпадения (Score) от 0 до 3, при этом идентификация при уровне 0,000-1,699 рассматривалась как низкодостоверная, идентификация до рода высокодостоверная при значениях – 1,700-1,999, идентификация высокодостоверная до вида при значениях – 2,000-2,999, в соответствии с рекомендациями производителя оборудования. Выделение белков для анализа гетерогенности популяции штаммов *Burkholderia spp.*, а также изучения идентичности белковых профилей штаммов *P. aeruginosa*, проводилось с использованием метода экстракции муравьиной кислотой.

2.2.2 Обследование на COVID-19

Диагноз устанавливался на основании ПЦР тест на sars CoV2 или выявления диагностического уровня IgG к SARS CoV2 через 2-3 недели от старта симптомов. Тяжесть течения определялась согласно ВМП. Терапия назначалась согласно текущим ВМП. Проводилось дистанционное анкетирование по телефону согласно опроснику по новой коронавирусной инфекции COVID-19 для пациентов МВ ЕСФС.

Пациенты, проходившие стационарный курс лечения, получали его в полном объеме согласно текущим ВМП по лечению новой коронавирусной инфекции SARS CoV2.

2.2.3 Статистические методы исследования

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием методов параметрической и непараметрической статистики.

Описательная статистика по количественным данным представлена в виде среднего и стандартного отклонения $M (SD)$ в случае нормального распределения или медианы, первого и третьего квартилей в случае $Me (Q1; Q3)$ негауссовского распределения. При этом если по логике изложения требовалось сравнить значения между группами и, хотя бы одно выборочное распределение не было нормальным, то описательная статистика для всех групп представлялась в виде $Me (Q1; Q3)$. Нормальность проверялась при помощи критерия Колмогорова – Смирнова.

Проверка гипотез для номинальных значений (пол) проводилась при помощи критерия хи-квадрат. Для количественных значений, при сравнении разных групп, если обе выборки распределены нормально, то применялся критерий Стьюдента, если хотя бы одна была негауссовской – критерий Манна-Уитни. Для зависимых выборок в случае нормальных распределений использовался парный критерий Стьюдента, в противном случае – критерий Вилкоксона.

При проверке гипотез достаточным условием отклонения нулевой гипотезы являлось p -значение, меньшее 0,05 с учетом поправки на множественные сравнения по методу Холма-Бонферрони с границами 0,017, 0,033 и 0,05 для упорядоченных p -значений.

Статистическая обработка материала выполнялась на ЭВМ с помощью программы Microsoft Excel 365 и пакета статистических программ SPSS.

Глава 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В исследовании приняли участие 60 взрослых больных с МВ, 16 пациентов из этого числа перенесли в дальнейшем новую коронавирусную инфекцию COVID-19 и будут представлены отдельно. За шестилетний период наблюдения 9 больных умерли, что составляет 15% от выборки включенных больных, 53 пациента живы на 2021г. Сохранение такого объёма выборки к концу периода шестилетнего наблюдения позволяет делать выводы о репрезентативности представленных данных.

3.1 Характеристика пациентов Санкт-Петербурга и Ленинградской области за период 2016-2021 гг.

За время наблюдения с 2016 года количество взрослых больных имело тенденцию к увеличению, как за счет перехода больных МВ по достижению совершеннолетия из детского центра во взрослую лечебную сеть, так и за счёт диагностики впервые выявленного МВ у пациентов уже во взрослом возрасте (таблица 1).

Таблица 1 – Общее число взрослых больных МВ в СПб в исследуемый период 2016-2021 гг.

Показатель	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Общее число	26	31	41	49	57	53
Живы	25	31	41	47	53	51
Умерли	1	0	0	2	4	2

Количество взрослых пациентов с муковисцидозом в регионе выросло с 26 до 57, в 2,19 раз (на 119%) за 6 лет с 2016 по 2021 гг. Мужчин – 33 человека (55%), женщин – 27 человек (45%). Наибольшие темпы прироста пациентов наблюдались в 2018 г. (+10 пациентов), 2019 г. (+8 пациентов) и 2020 г. (+8 пациентов).

Таблица 2 – Средний возраст установления диагноза взрослых больных МВ

Возраст установления диагноза, годы	Результат
M±SD	11±1,54
Me (IQR)	8,69 (11,99)

Средний возраст установления диагноза составил 11 лет, медиана 8,69 лет (таблица 2), таким образом, большинству пациентов диагноз был установлен в детском возрасте.

При оценке динамики возрастной структуры по годам (рисунок 1) отмечен неуклонный рост среднего возраста пациентов с 27 до 29 лет, параллельно с ежегодным увеличением выборки пациентов. Также обращает на себя внимание наличие 2-х пациентов пенсионного возраста 62 и 64 лет на 2021 г. среди взрослых пациентов с МВ.

При анализе динамики возрастной структуры по годам (рисунок 1) отмечен рост интерквартильного размаха возраста пациентов ежегодно, так в 2016 г. наблюдались пациенты с 20 до 31 года, к 2021 г. показатель увеличился и составил от 25 до 36 лет.

Таким образом, засчет ежегодного прироста количества пациентов при переходе из детской сети во взрослую сеть, возраст младшего пациента выборок сохраняется в диапазоне 18-19 лет с 2017 по 2021 гг., а интерквартильный размах возраста пациентов пропорционально ежегодно растет. Самый многочисленный пул пациентов за весь период исследования составлял пациенты от 22 до 32 лет.

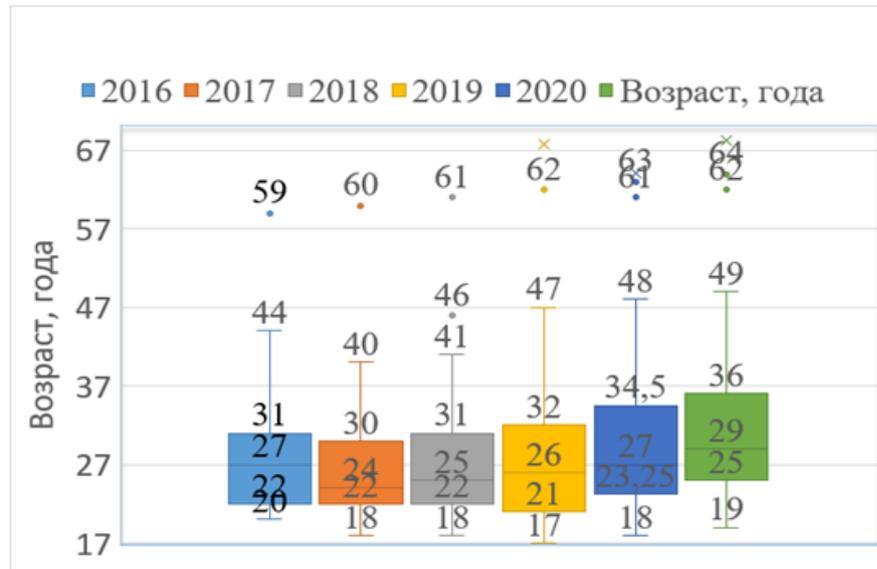


Рисунок 1 – Динамика возрастной структуры взрослых больных МВ по годам

За период наблюдения наиболее стабильной по численности оказалась группа 18-23 лет (рисунок 2), все другие 4 группы продемонстрировали увеличение численности ежегодно, особенно группа 42+ с 2020 г. года. Что доказывает увеличение числа больных, как за счет ожидаемого перехода диагностированных пациентов из детской сети во взрослую, так и выявление у пациентов МВ в возрастных группах 24-29 лет, 30-35 лет, 36-41 год и группе 42+ лет.

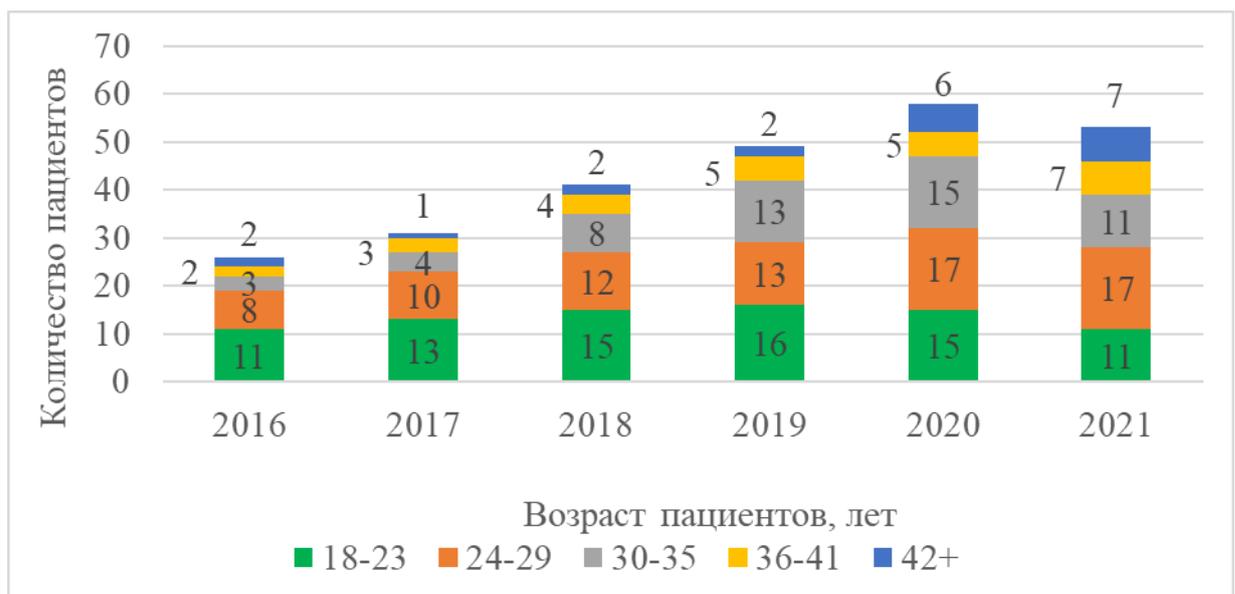


Рисунок 2 – Количество пациентов возрастных групп взрослых больных МВ по годам

В таблице 3 продемонстрированы абсолютные значения каждого года наблюдения, в результате был определен неуклонный рост количества и возраста пациентов всех групп 24-29 лет, 30-35 лет, 36-41 год и также 42+ лет.

Таблица 3 – Основные эпидемиологические показатели взрослых пациентов МВ в 2016-2021 гг.

Количество пациентов	2016	2017	2018	2019	2020	2021
	26	31	41	49	57	53
Возраст, лет	26,78±	26,77±	27,82±	27,93±	29,77±	31,33±
M±SD	1,71	1,54	1,35	1,25	1,26	1,33
Me (IQR)	24 (8,73)	24 (8,59)	25 (8,66)	26 (8,79)	27 (9,58)	29 (9,68)
Респираторная функция						
ОФВ1, % должн.		M±SD	58,09±	55,31±	54,82±	53,91±
			4,83	4,48	4,45	4,44
		Me (IQR)	46	45	42,6	41,7
			(30)	(29,39)	(31,17)	(29,81)
ФЖЕЛ, % должн.		M±SD	75,02±	72,83±	74,82±	72,24±
			3,76	3,90	3,59	3,48
		Me (IQR)	70	67	68	66
			(23,51)	(25,62)	(25,19)	(24,75)
ИМТ, кг/2						
M±SD	20,56±	19,14±	20,02±	19,81±	19,77±	20,12±
	0,69	0,72	0,52	0,45	0,45	0,58
Me (IQR)	20,71	18,10	19,45	19,60	19,67	20,23
	(3,47)	(3,25)	(3,34)	(3,38)	(3,35)	(3,41)

В динамике за 6 лет наблюдается увеличение среднего возраста: 26,78 года ±1,71 (2016 г.) до 31,33±1,33 лет (2021 г.), что также отразилось в росте медианы с 24 до 29 лет за исследуемые 6 лет (таблица 3).

При оценке респираторной функции по показателю ОФВ1 отмечено прогрессивное уменьшение среднего показателя с 58,09% (2018 г.) до 53,91% (2021 г.) во всей выборке. В то время как среднее значение показателя ФЖЕЛ изменилось менее значительно с 75,02% (2018 г.) до 72,24% (2021 г.).

Нутритивный статус исследуемых пациентов не подвергся убедительным изменениям: медиана значений ИМТ оставалась примерно одинаковой за период наблюдения: 20,71 (2016 г.), 18,1 (2017 г.), 19,45 (2018 г.), 19,60 (2019 г.), 19,67 (2020 г.), 20,23 (2021 г.) соответственно.

При анализе результатов (рисунок 3) в группе «тяжелых» генотипов средний возраст выявления заболевания был меньше и составил 3,44 года, в то время как в группе «мягких» генотипов 11,58 лет. Также обращает на себя внимание значительный разброс возраста выявления заболевания от 0 до 39,6-43 лет в обеих исследуемых группах. Однако возраст верификации диагноза достоверно был выше в группе больных с «тяжелыми» генотипами в сравнении с группой «мягких» генотипов.

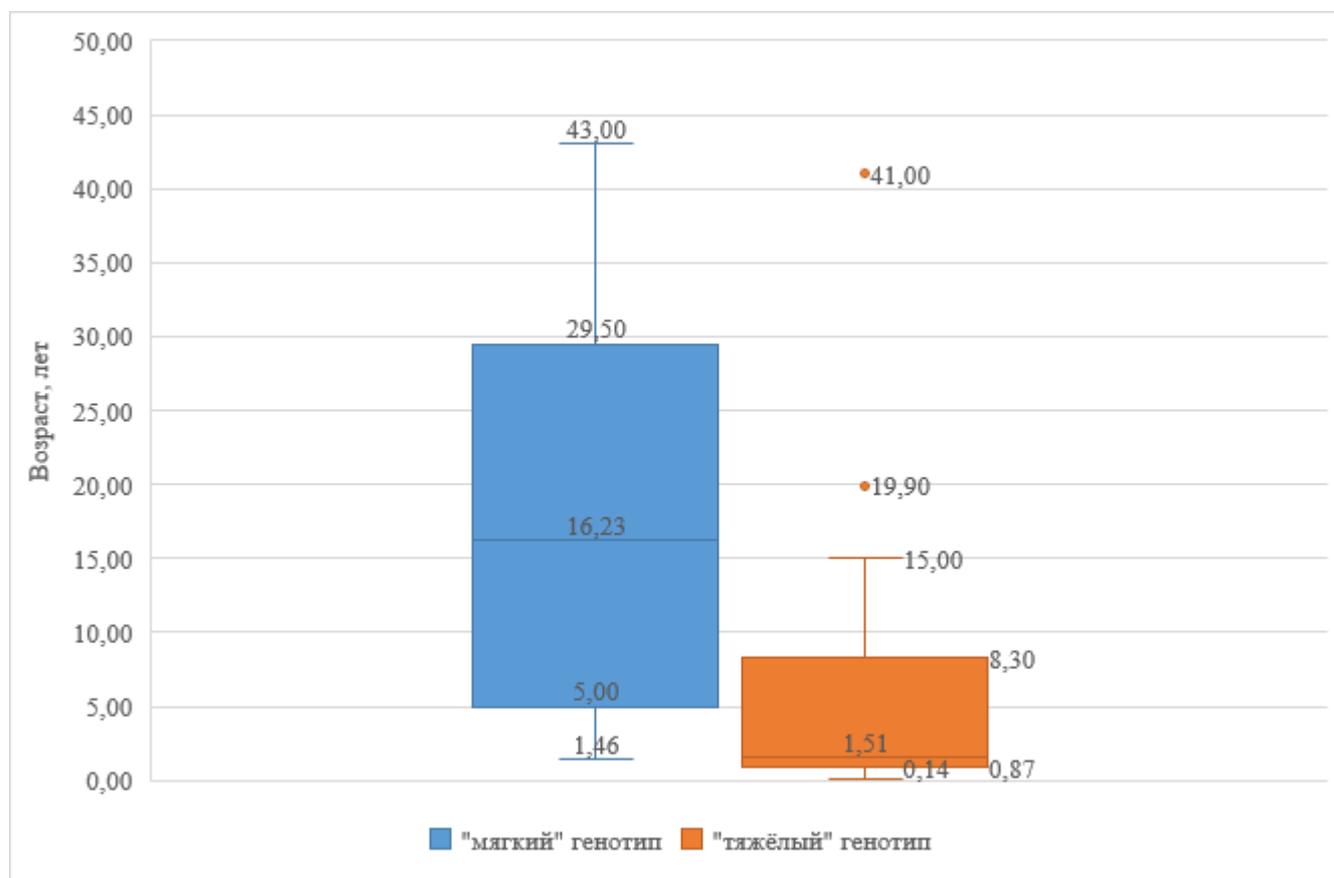


Рисунок 3 – Средний возраст выявления МВ

Средний возраст взрослых пациентов с муковисцидозом оказался выше в группе мягких мутаций 31,6 лет, в то время как в группе тяжелых мутаций 28,3 лет (рисунок 4).

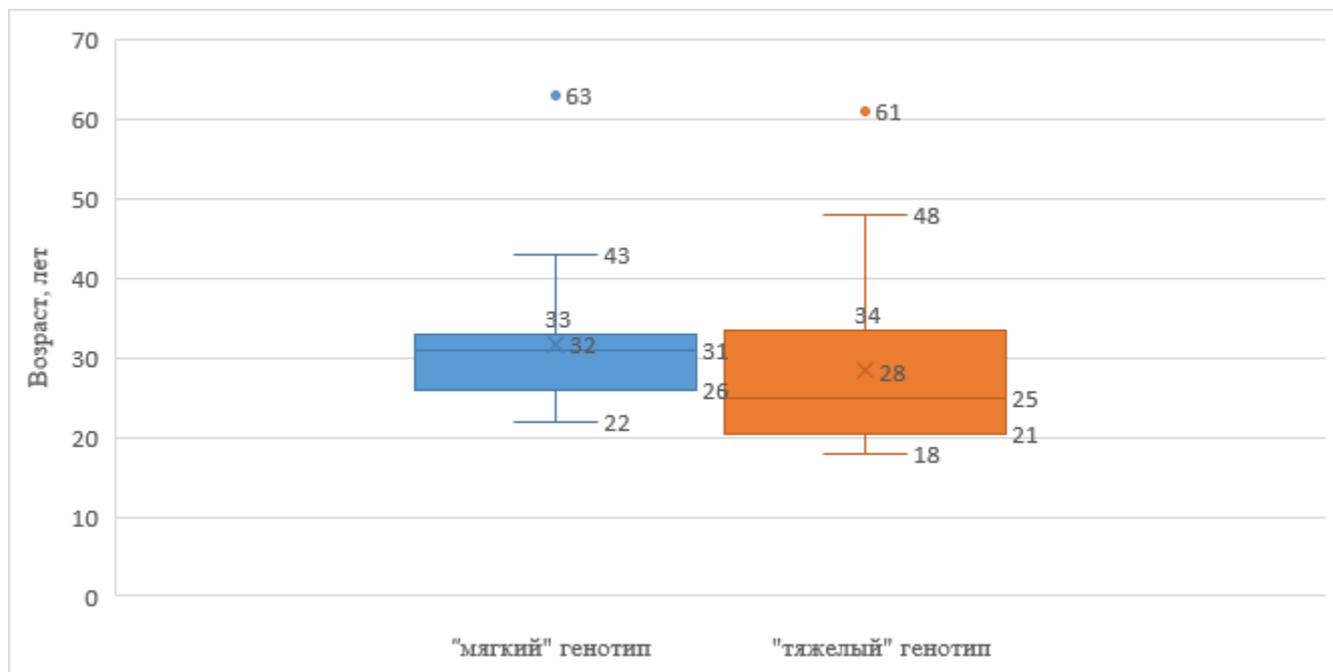


Рисунок 4 – Средний возраст пациентов с «мягким» и «тяжелым» генотипом

Наглядно отражено в динамике (рисунок 5) рост количества пациентов в возрастных группах 24-29 лет, 30-35 лет среди «мягких» генотипов, в то время как в группе «тяжелых» генотипов наблюдалось значительное снижение количества пациентов в динамике: с 14 пациентов в группе 24-29 лет до 0 пациентов в группе 36-41 лет.

Не было выявлено различий в гендерной структуре взрослых пациентов с МВ, количество мужчин и женщин достоверно не отличались во всех возрастных группах (рисунок 6).

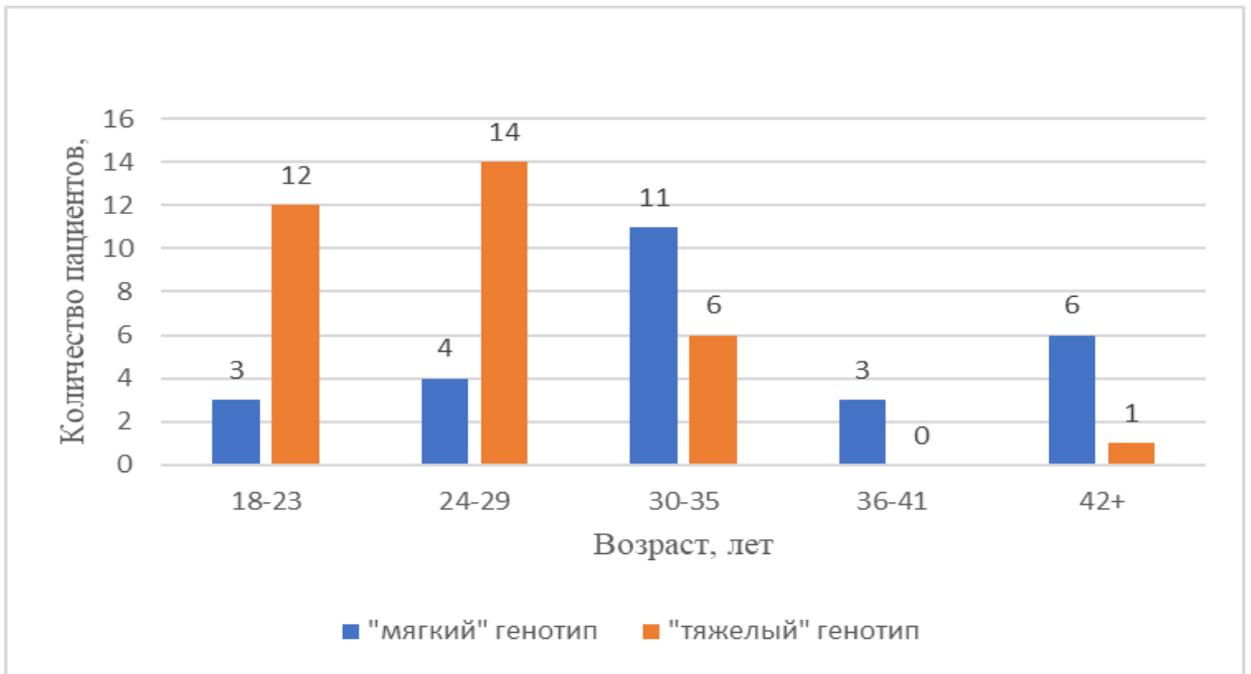


Рисунок 5 – Возрастная структура пациентов с мягким и тяжелым генотипом

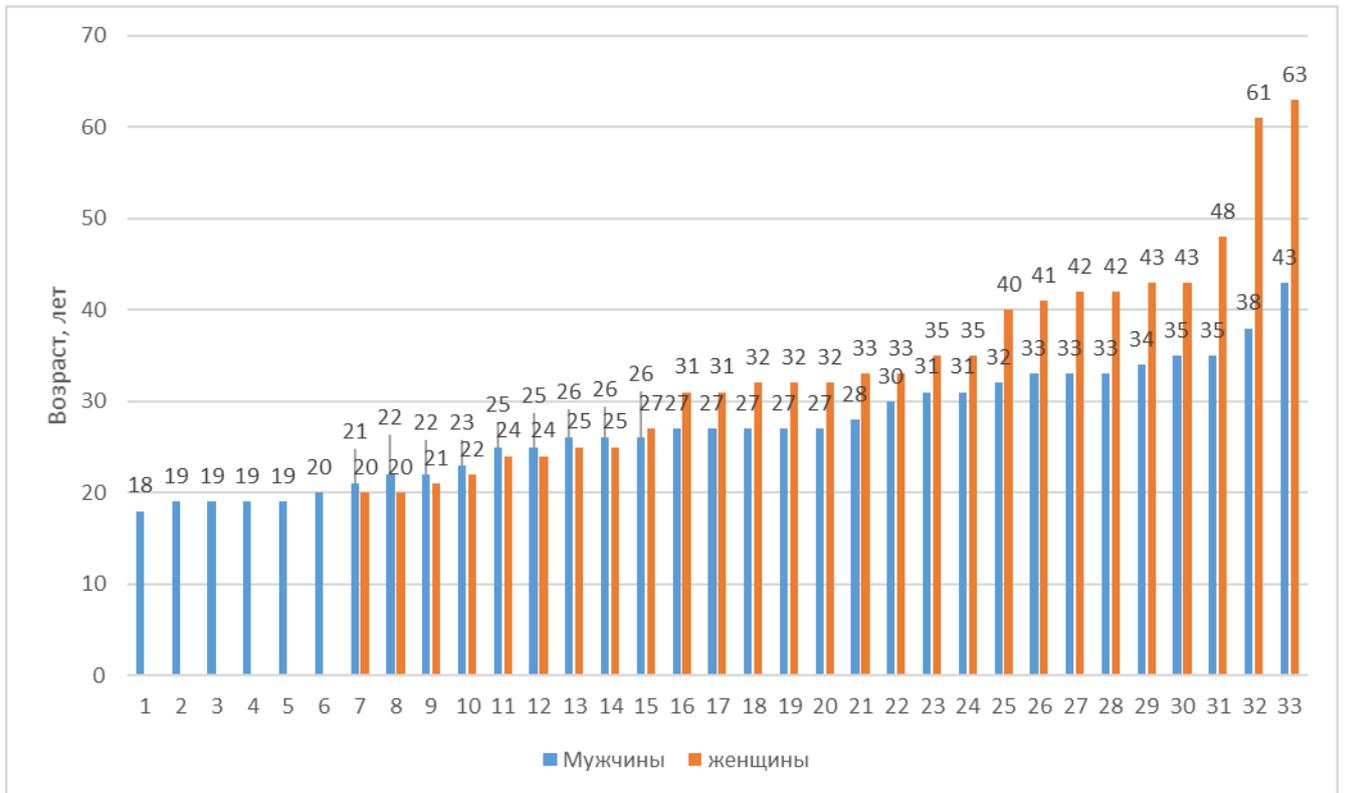


Рисунок 6 – Возрастно-половая структура обследованных больных (n=60)

3.2 Генетическая характеристика пациентов с муковисцидозом

Охват генетического обследования в Санкт-Петербурге и Ленинградской области самый высокий в РФ и составляет согласно регистру МВ 2021 г. 99%. Все обследованные больные МВ, вошедшие в данную работу, прошли генетическое исследование, были выявлены 2 патологические мутации, ассоциированные с развитием МВ (100%).

При анализе генетического статуса пациентов закономерно преобладание «тяжелых» генотипов (55%) (рисунок 8), однако выявленная доля 45% «мягких» генотипов в регионе оказалась выше среднего показателя РФ 36,7% согласно регистру МВ РФ 2021 г. «Мягкий» генотип взрослых пациентов МВ в регионе характеризуются значительным разнообразием и в 30% являются уникальными для СЗФО (рисунок 7).

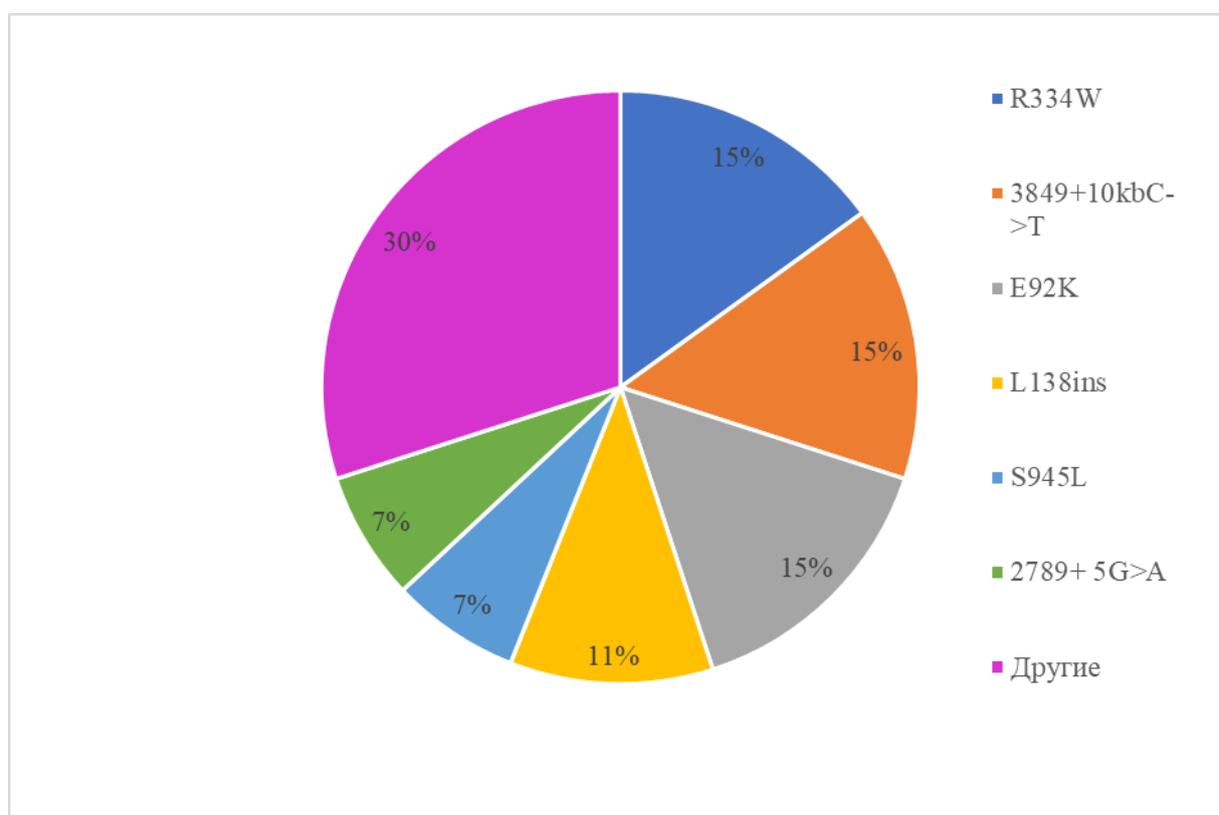


Рисунок 7 – Структура «мягких» генотипов

Установлено следующее распределение пациентов с «мягкими» генотипами: R334W – 4 (15%), 3849+10kbC-> T – 4 (15%), L138ins – 3 (11%), E92K – 4 (15%), S945L – 2 (7%), 2789+ 5G>A-2(7%).

У 8 пациентов (30%) имеется уникальный для региона тип «мягкого» генотипа взрослых пациентов МВ на момент 2021 г. (D1152H, L1093P, p.Lys1468Asn, F1286S, Q98R, 4022insT, -461A-> G, E217G).

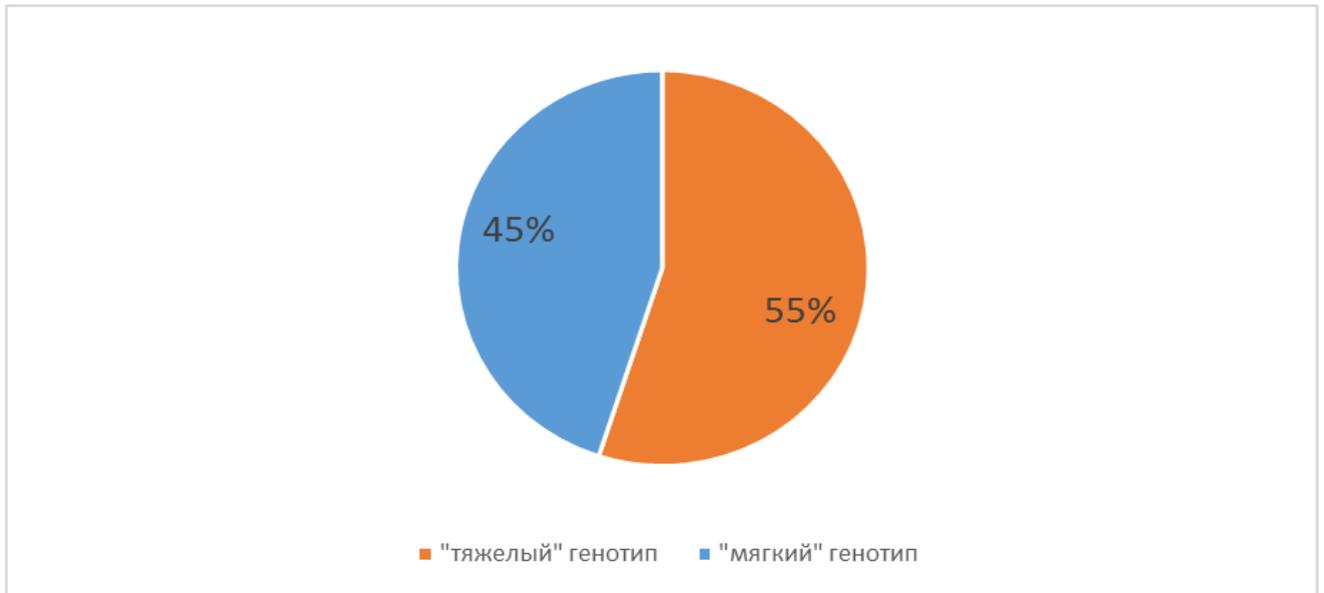


Рисунок 8 – Соотношение «тяжелых» / «мягких» генотипов

Среди обследованных преобладали мутации F508del/не F508del – 63,4%, далее следовали мутации не F508del/не F508del – 25%, и самую малую группу составили пациенты с генотипом гомозигота по F508del – 11,6% (таблица 4).

Таблица 4 – Частота гомозигот и гетерозигот по F508del и генотипов без F508del

508del/F508del	F508del/не F508del	не F508del/не F508del
7 (11,6%)	38 (63,4%)	15 (25%)

При распределении видов генотипа по возрастам отмечено уменьшение количества гомозигот по F508del в возрасте до 30 лет (рисунок 9), что связано со смертью части пациентов в этом возрасте в исследуемой выборке. Группа генотипов F508del/не F508del представлена в среднем на одном уровне во всех группах наблюдения. Исключение составляет возраст 36-41 год, пациенты которой представлены только генотипами не F508del/не F508del и обусловлены малочисленностью данной группы в нашей исследуемой группе пациентов.

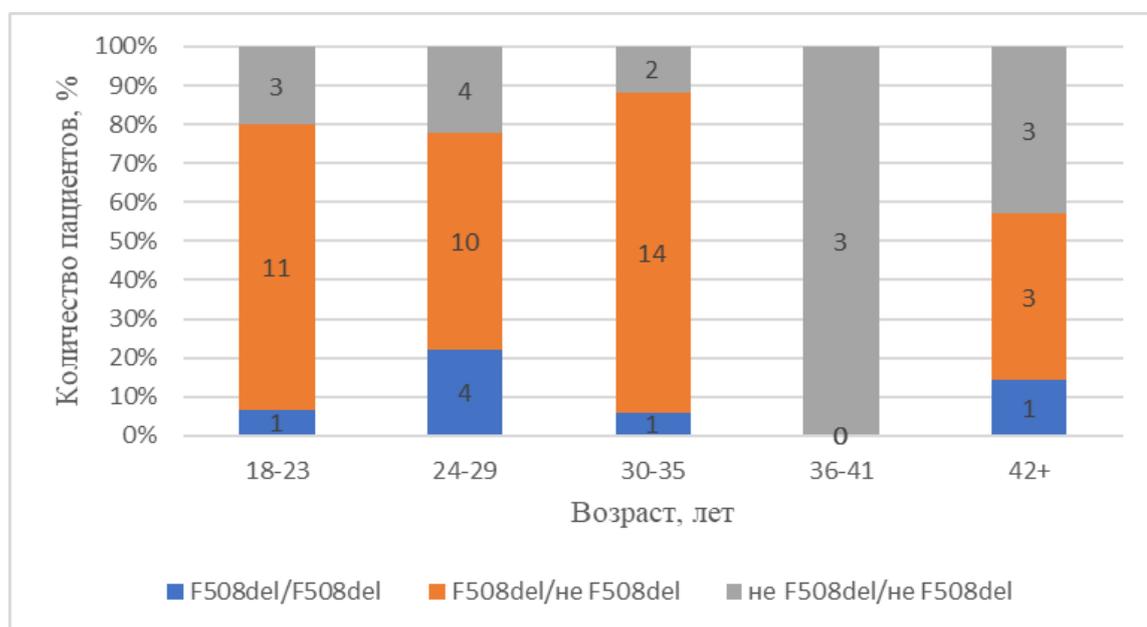


Рисунок 9 – Распределение гомозигот и гетерозигот по F508del и генотипов без F508del в зависимости от возраста

Большинство пациентов с хроническим инфицированием *P. aeruginosa mucoid* и *Achromobacter xyl.* имели «тяжелый» генотип 71,4% и 64,2% соответственно (таблица 5), в то время как пациенты с немуюкоидным штаммом *P. aeruginosa* имели «тяжелый» генотип только в 37,5%, что достоверно ниже, чем в других двух группах.

Таблица 5 – Генетический статус взрослых пациентов с хроническим инфицированием основных НФГОб

Параметр	«Тяжелый» генотип (%)
Хр.инфицирование <i>Achromobacter xyl.</i>	64,2%
Хр.инфицирование <i>P. aeruginosa mucoid</i>	71,4%
Хр.инфицирование <i>P. aeruginosa</i>	37,5%

3.3 Микробиологическая характеристика пациентов с муковисцидозом

За период исследования с января 2016 г. по декабрь 2021 г. от 60 взрослых пациентов с МВ было получено в общей сложности 685 проб мокроты.

На рисунке 11 приведено графическое изображение динамики респираторной флоры за период наблюдения 5 лет у единой группы наблюдения пациентов (n=24) в возрасте 19-29 лет. Проводимый в течение 5 лет учет динамики микрофлоры показал закономерную ведущую роль хронической синегнойной инфекции *P. aeruginosa*, которая была выявлена у 50,0-58,3% пациентов. Синегнойная инфекция считается хронической, если *P. aeruginosa* идентифицировалась более чем в 50% образцов мокроты в течение 1 года. Высев считается интермиттирующим, если в течение предшествующего года возбудитель обнаруживался менее чем в 50% образцов мокроты.

При анализе интермиттирующего высева синегнойной инфекции наблюдалось постепенное снижение выявляемости с 16,6% до 0,04%, что является характерной динамикой для взрослых пациентов с МВ. Как показано на рисунке 10, с 2018 г. отмечен тревожный экспоненциальный рост *A. xylosoxidans* более чем в 2 раза – от 4 (16,6%) до 9 пациентов (37,5%) в данной выборке, а также сохранение аналогичной высокой доли возбудителя в общей структуре в последующем 2019 г.

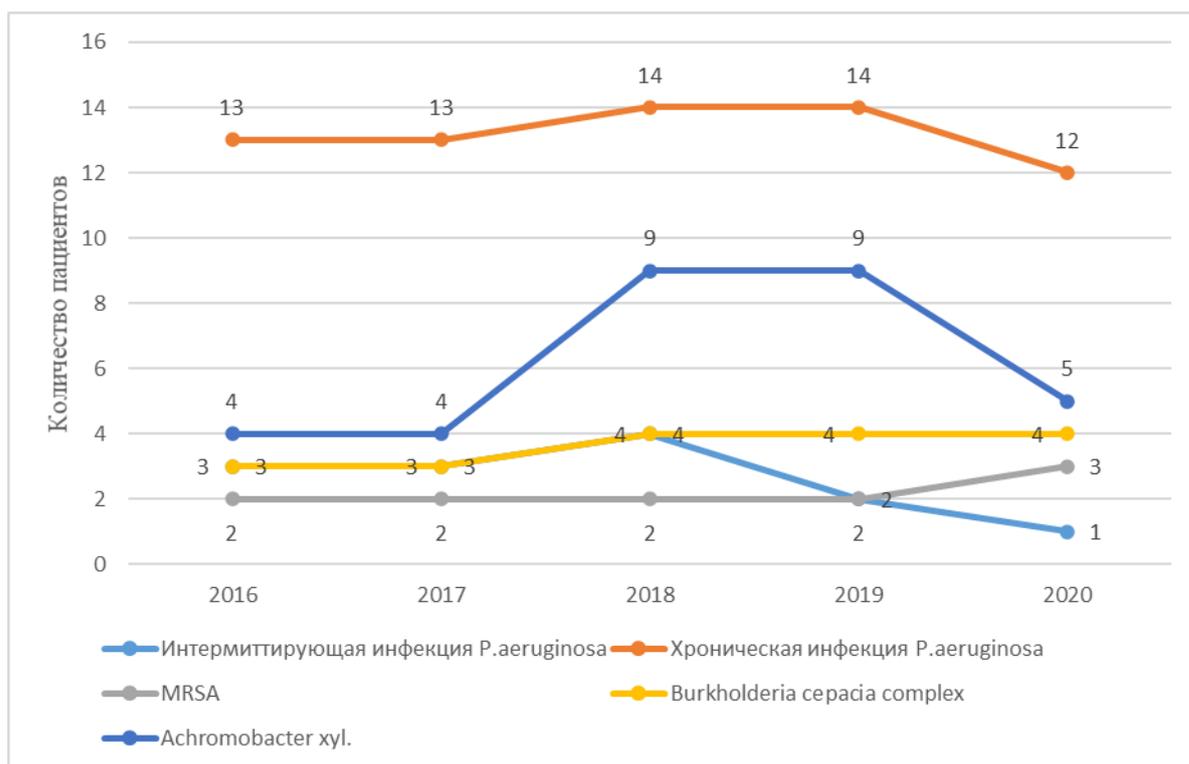


Рисунок 10 – Динамика респираторной флоры единой выборки (n=24) взрослых пациентов МВ СПб

Не выявлено значимой разницы ($p > 0,05$) по возрасту пациентов в группах с хронической синегнойной инфекцией и *Achromobacter spp.*, медиана возраста составила 26 и 28 лет соответственно.

В отношении *Burkholderia spp.* наблюдался меньший рост встречаемости возбудителя, максимально составивший до 16,6% в общей доле, в то время как показатель MRSA составил от 8% до 12,5% за 5 лет наблюдения.

Следует заметить симметричное снижение количества пациентов в конце периода наблюдения в группах больных, инфицированных синегнойной инфекцией и *Achromobacter spp.*, что мы объясняем смертью пациентов именно в этих 2 микробиологических группах: 3 больных из группы *Achromobacter spp.* умерли в 2020 г., также как и 1 пациент из группы хронической синегнойной инфекции. Все погибли от прогрессирования основного заболевания. В контексте обсуждения смертельных исходов в период пандемии COVID-19 в 2020 г. необходимо уточнить, что клиническая картина у 4 умерших пациентов была

характерна для тяжелого обострения МВ, вызванного тяжелой грамотрицательной бактериальной инфекцией, и не соответствовала клинико-рентгенологическим признакам коронавирусной инфекции COVID-19. Также все 4 погибших в этот период пациента проходили неоднократное лабораторное исследование назофарингеальных мазков методом полимеразной цепной реакции на SARS-CoV-2 в период обострения, приведшего к летальному исходу, и результаты тестов были отрицательными во всех случаях. Таким образом, самая высокая летальность наблюдалась в группе больных с *Achromobacter spp.* – 12,5% к пятому году наблюдения, в группе хронической синегнойной инфекции она была меньше, чем в первой, и составила 4,1% к пятому году наблюдения.

На рисунке 11 представлена видовая структура респираторной микрофлоры всех 60 взрослых пациентов с МВ, наблюдавшихся в центре СПб ГБУЗ «ГМПБ № 2» за период 2016-2020 гг., с учетом ежегодного роста количества пациентов. Часть из них (18 человек (70,8%) от всех новых пациентов за период 2016-2020 гг.) перешли из детской сети, часть – поступили на учет в центр при первичном выявлении заболевания во взрослом возрасте (в 2018 г. 1 пациент в возрасте 35 лет, в 2019 г. 3 пациента в возрасте 21, 30 и 41 год соответственно) или по причине переезда пациентов с МВ из других регионов РФ с уже установленным диагнозом в возрасте младше 18 лет, наблюдавшихся до этого в других центрах МВ (по 1 пациенту в 2016, 2017 и 2019 гг. соответственно).

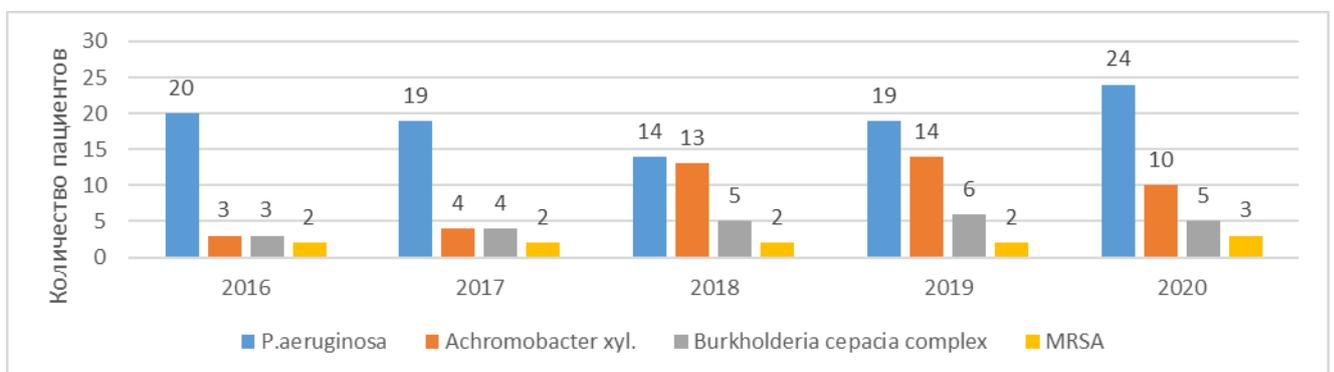


Рисунок 11 – Динамика хронической инфекции взрослых пациентов СПб и ЛО

Самыми частыми микроорганизмами в посевах взрослых пациентов МВ из клинически значимых явились *P.aeruginosa*, *Achromobacter xyl.* и *B.cepacia complex* (таблица 6).

Таблица 6 – Структура изолятов микрофлоры, выделенных из мокроты взрослых пациентов МВ СПб и ЛО

Микроорганизм	% изолятов
<i>S.aureus</i>	31,6%
<i>P. aeruginosa</i>	28,1%
<i>Achromobacter xyl.</i>	9,8%
<i>B. cepacia complex</i>	4,1%
<i>S. maltophilia</i>	2,1%
<i>Serrata marcescens</i>	2,1%
<i>Acinetobacter spp.</i>	2,1%
Другие НФГОБ	1,6%
<i>Klebsiella pneumonia</i>	4,7%
MRSA	3,7%
<i>Neisseria subflava</i>	2,8%
<i>Aspergillus spp.</i>	1,9%
<i>Candida spp.</i>	5,4%

Общая доля НФГОБ из всех выделенных изолятов составила значительную часть 49,9%. Доля *Achromobacter spp.* составила 9,8%, что является самым высоким показателем в сравнении с другими регионами РФ.

При оценке структуры выделенных НФГОБ отмечено разнообразие патогенных видов, выделение таких редких видов как *Ochrobactum anthropi*, *Shewanella algae* (таблица 7, рисунок 12).

Таблица 7 – Структура изолятов НФГОБ взрослых пациентов МВ СПб за период 2016-2021 гг.

Микроорганизм	% изолятов в регионе
<i>P. aeruginosa</i>	57,1%
<i>Achromobacter xyl.</i>	20,0%
<i>B. cepacia complex</i>	8,4%
<i>S. maltophilia</i>	4,2%
<i>Serrata marcescens</i>	4,2%
<i>Ochrobactum anthropi</i>	1,9%
<i>Shewanella algae</i>	1,5%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2,1%
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	0,6%

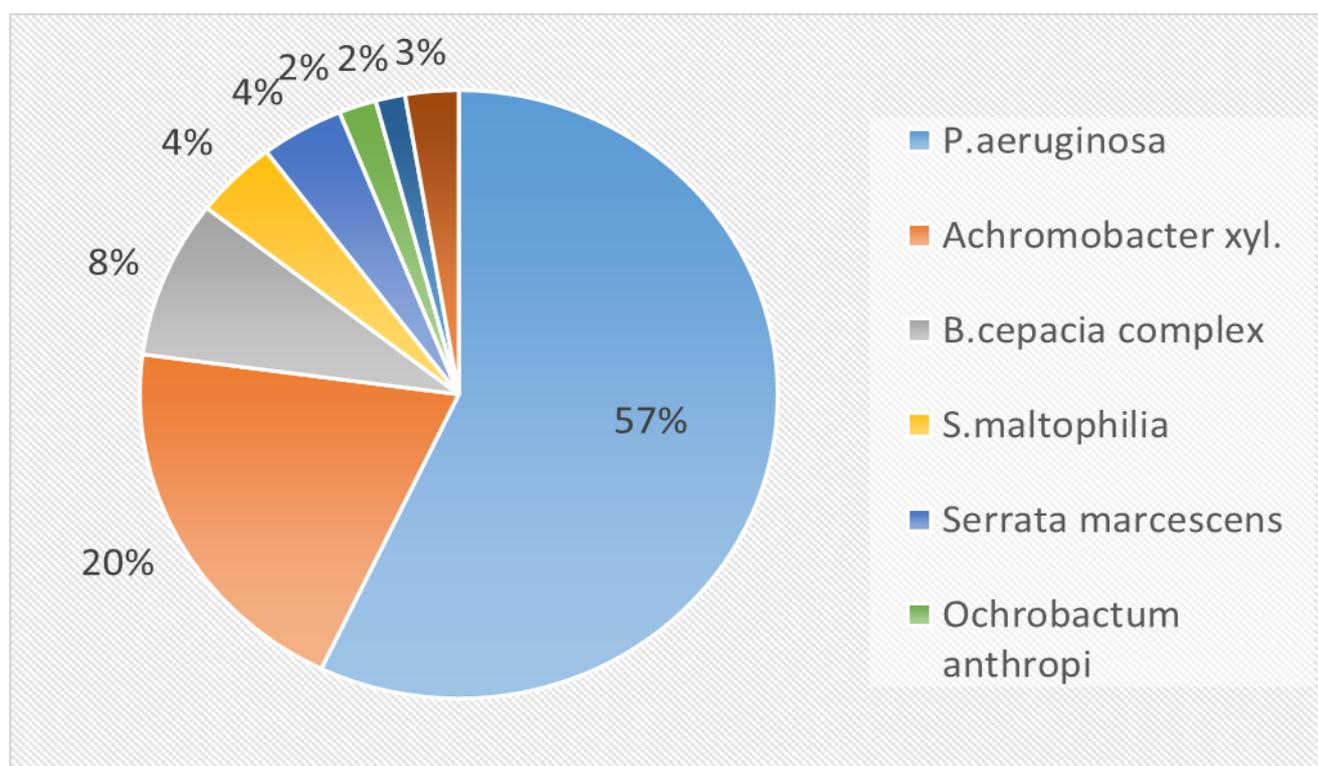


Рисунок 12 – Структура изолятов НФГОБ взрослых пациентов МВ СПб за период 2016-2021 гг.

3.3.1 Анализ антропометрических данных пациентов с муковисцидозом

При муковисцидозе (МВ) оценке физического статуса придается огромное значение. Снижение темпов роста или потеря массы является прогностически неблагоприятным маркером и сам по себе может определять тяжесть течения заболевания МВ, его прогноз и качество жизни.

При оценке динамики ИМТ групп «тяжелого» и «мягкого» генотипа за период наблюдения (рисунок 13) отмечен достоверно более высокий нутритивный статус у пациентов с «мягким» генотипом и составляет в среднем на 2 кг/м² выше за весь период наблюдения.

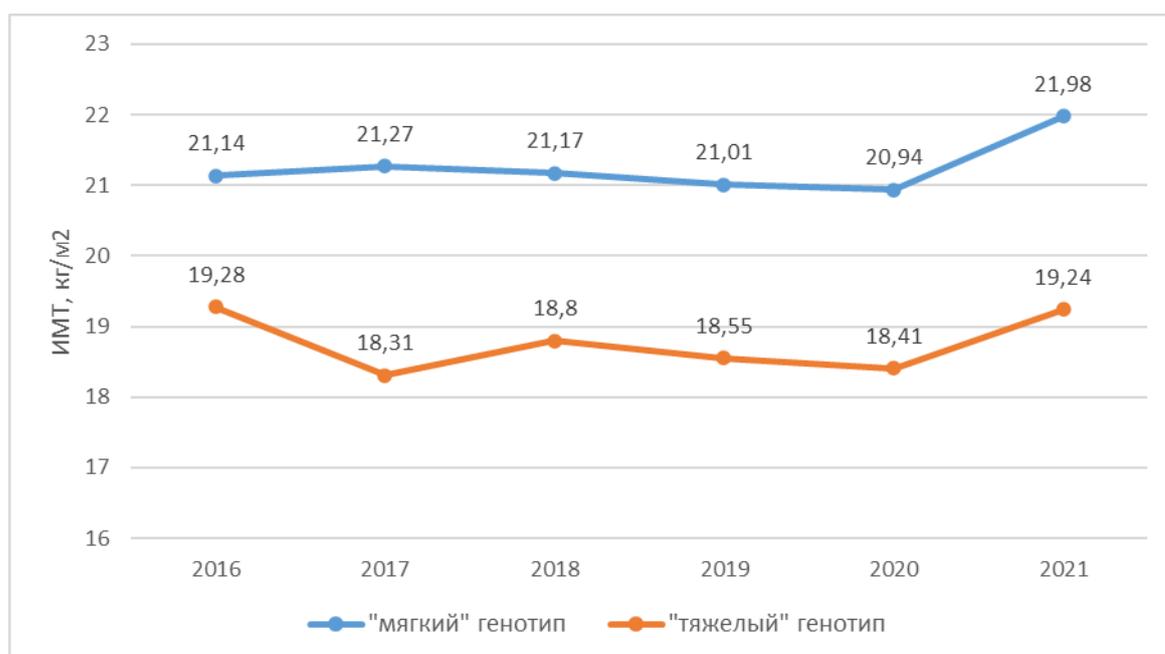


Рисунок 13 – ИМТ у взрослых пациентов МВ с «мягким» и «тяжелым» генотипом

Также на графике определяется положительная динамика ИМТ к 2021 г. в обеих генотипических группах: увеличение ИМТ с 20,94 до 21,98 кг/м² и с 18,41 до 19,24 кг/м² в группах «мягкого» и «тяжелого» генотипа соответственно.

3.3.2 Анализ функциональных данных пациентов с муковисцидозом

При оценке динамики снижения ОФВ1 как маркера функционального статуса установлено, что в обеих группах чувствительных и резистентных штаммов *Achromobacter xyl.* ежегодно значительно снижался показатель ОФВ1, при этом группа резистентных штаммов *Achromobacter xyl.* имела в среднем более низкий показатель ОФВ1 в каждый год наблюдения (таблица 8).

Таблица 8 – Распределение функционального статуса у больных МВ

Группа	Me	Me	Me	Me	Me	p
	(Q1-Q3)	(Q1-Q3)	(Q1-Q3)	(Q1-Q3)	(Q1-Q3)	
	ОФВ1 2016	ОФВ1 2017	ОФВ1 2018	ОФВ1 2019	ОФВ1 2020	
Чувствительны к карбапенемам	2,07 (1,73- 2,82)	1,99 (1,57- 2,77)	1,85 (1,47- 2,74)	1,68 (1,07- 2,59)	1,48 (1,00- 2,42)	p(16/17)=0,025 p(17/18)=0,025 p(18/19)=0,025 p(19/20)=0,023
Резистентны к карбапенемам	1,69 (1,48- 1,87)	1,55 (0,96- 1,79)	1,32 (0,92- 1,73)	1,04 (0,85- 1,59)	0,85 (0,73- 1,30)	p(16/17)=0,014 p(17/18)=0,014 p(18/19)=0,014 p(19/20)=0,025

3.3.3 Микробиологическая характеристика пациентов с муковисцидозом

3.3.3.1 Сравнительная характеристика чувствительности штаммов неферментирующих грамотрицательных бактерий к антибактериальным препаратам

Результаты оценки динамики резистентности *Achromobacter xyl.* к карбапенемам представлены на рисунке 14. При сравнительном анализе активности карбапенемов (меропенем) в отношении *Achromobacter xyl.* в период 2016-2017 гг. выявлены следующие закономерности- карбапенемы были активны в отношении 50% штаммов *Achromobacter xyl.* В 2018 г. карбапенемы также демонстрировали достаточно высокую чувствительность к исследуемому микроорганизму, но в 2019-2020 гг. активность снизилась до 37,5% и 30,7% соответственно, что значительно ниже, чем в предыдущие годы.

Также отмечено увеличение количества пациентов с хроническим инфицированием *Achromobacter xyl.* с 4 человек в 2016 г. до 14 и 13 человек соответственно в 2019 и 2020 гг. Если в период 2016-2018 гг. количество чувствительных и резистентных штаммов в выборке пациентов с хроническим инфицированием *Achromobacter xyl.* сохранялось в равном количестве, то в последующих годах баланс значительно сместился в сторону резистентных штаммов и чувствительность снизилась до 37,5% в 2019 г. и далее до 30,7% в 2020 г.

Таким образом, при мониторинге резистентности *Achromobacter xyl.* к карбапенемам за 6 лет вместе с ростом количества инфицированных пациентов отмечен прогрессивное снижение чувствительности штаммов *Achromobacter xyl.* к карбапенемам.



Рисунок 14 – Мониторинг резистентности *Achromobacter xyl.* к карбапенемам

Проведен сравнительный анализ сроков формирования панрезистентности чувствительных штаммов *Achromobacter spp.* при терапии препаратами цефтазидим 6 гр/сутки+амикацин 1 гр/сутки и меропенем 3 гр/сутки.

В группах сравнения (таблица 9) не было выявлено различий по возрасту инфицирования *Achromobacter spp.* и ИМТ. При оценке показателей доли «тяжелых» генотипов и среднего значения ОФВ1 не было выявлено статистически значимых различий, однако можно отметить тенденцию большей доли «тяжелых» генотипов в группе терапии меропенема (71,4% против 57,1%), а также более низкого среднего уровня ОФВ1 ($30,08 \pm 5,37\%$ против $48,11 \pm 10,10\%$). Таким образом группы явились однородными для достоверного сравнения при различных схемах лечения.

Не выявлено различий в сроках формирования резистентности к карбапенемам в группах цефтазидим 6 гр/сутки+амикацин 1 гр/сутки и меропенем 3 гр/сутки, сроки составили $3,28 \pm 1,22$ лет и $4,71 \pm 1,44$ соответственно (рисунок 15).

Таблица 9 – Группы терапии *Achromobacter spp.* препаратами цефтазидим 6 гр/сутки+амикацин 1 гр/сутки и меропенем 3 гр/сутки

Показатель	Цефтазидим 6 гр + амикацин 1 гр/сутки	Меропенем 3 гр/сутки	P value
Пол, % мужчин	4 (57,1%)	4 (57,1%)	–
Возраст инфицирования, <i>Achromobacter spp.</i> , лет	24,14±3,18	19±2,47	0,22
"тяжелый" генотип, %	4 (57,1%)	5 (71,4%)	
ОФВ1, %	48,11±10,10	30,08±5,37	0,14
ИМТ, кг/м ²	20,75±2,15	17,77±1,32	0,22
Срок формирования панрезистентности, лет	3,28±1,22	4,71±1,44	0,46

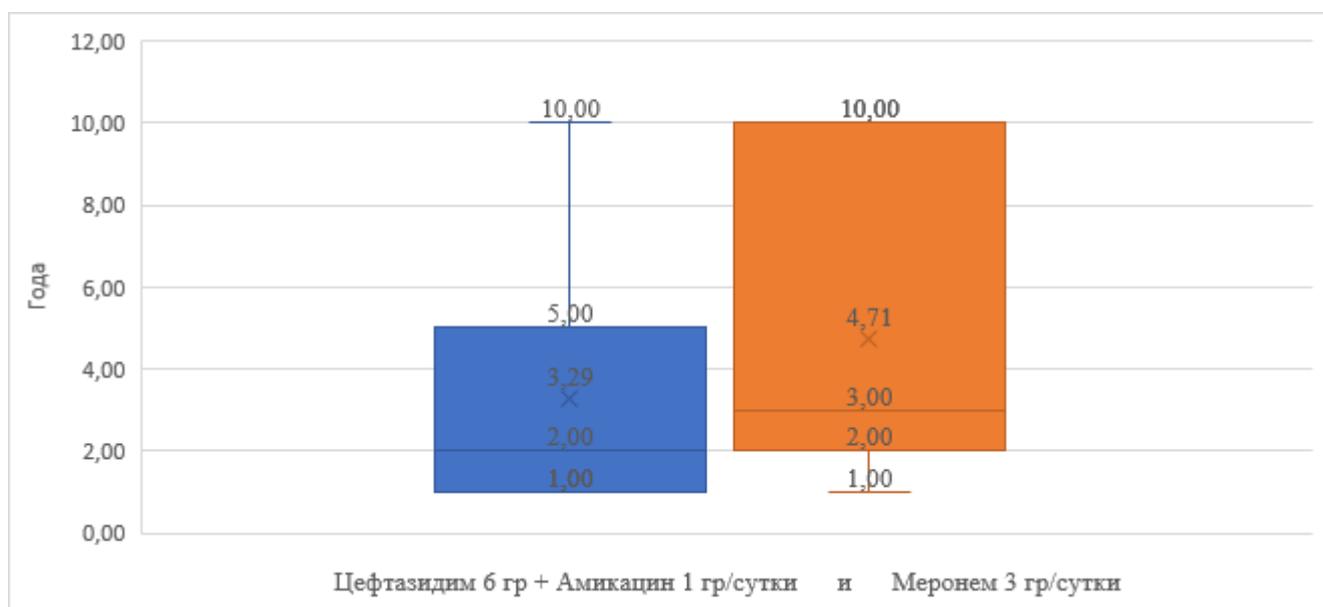


Рисунок 15 – Сроки формирования панрезистентности *Achromobacter spp.*

3.3.3.2 Сравнительная эффективность схем лечения хронической неферментирующей грамотрицательной бактериальной инфекции

Для оценки эффективности лечения двух групп проведена сравнительная характеристика двух групп по количеству, полу, среднему возрасту и срокам инфицирования. При оценке основных характеристик двух сравниваемых групп не отмечено разницы по возрасту, доли тяжелых мутаций и срокам инфицирования *Achromobacter spp.* (таблица 10).

Таблица 10 – Основные характеристики групп пациентов с терапией меропенем 3 гр/сутки и меропенем 6 гр/сутки

Показатель	Меропенем 3 гр/сутки	Меропенем 6гр/сутки	P value
Количество	7	4	–
% мужчин	5 (71,5%)	1 (25%)	–
Средний возраст, лет	29,14±2,69	24,75±2,32	p=0,24
% тяжелых мутаций	4 (57,1%)	2 (50%)	–
Сроки инфицирования, <i>Achromobacter spp.</i> , лет	8,42±2,22	8,75±2,25	p=0,31
ИМТ, кг/м ²	18,95±0,80	19,40±0,92	p=0,85
ОФВ1, %	1,68±0,12	1,69±0,44	p=0,98
Частота обострений в год	1,71±0,35	2,33±0,33	p=0,25
Продолжительность курсов	24±5,03	32,66±4,66	p=0,12

В группе меропенем 3 гр/сутки преобладали мужчины 71,5%, а в группе меропенем 6 гр/сутки их было меньшинство. В отношении среднего возраста

и сроков инфицирования группы сравнения были однородны. Таким образом, предложенные группы сравнения пригодны для достоверного сравнения эффективности лечения разных схем дозирования антибактериального препарата.

Для оценки эффективности терапии нами выбран показатель продолжительности жизни в сроки исследования 2016-2021 гг., ввиду того что все 11 пациентов с хроническим инфицированием *Achromobacter spp.* проходили курсы антибактериальной терапии в рамках стационарного лечения, задокументирована положительная клинико-лабораторная динамика на фоне лечения и отсутствие осложнений у всех включенных пациентов обеих групп.

При оценке количества пациентов в группах сравнения (рисунок 16) в динамике наглядно отражены схожие темпы уменьшения количества пациентов в каждой группе: в группе меропенем 3 гр/сутки к концу срока наблюдения умер 1 пациент из 4 (25%), в группе меропенем 6 гр/сутки к концу срока наблюдения умерло 3 пациента из 7 (42,8%).



Рисунок 16 – Динамика количества пациентов исследуемых групп с хроническим инфицированием панрезистентного штамма *Achromobacter xyl.*

Данные рисунка 17 показывают, что частота обострения муковисцидоза была выше у пациентов с «тяжелым» генотипом, чем у пациентов с «мягким» генотипом.

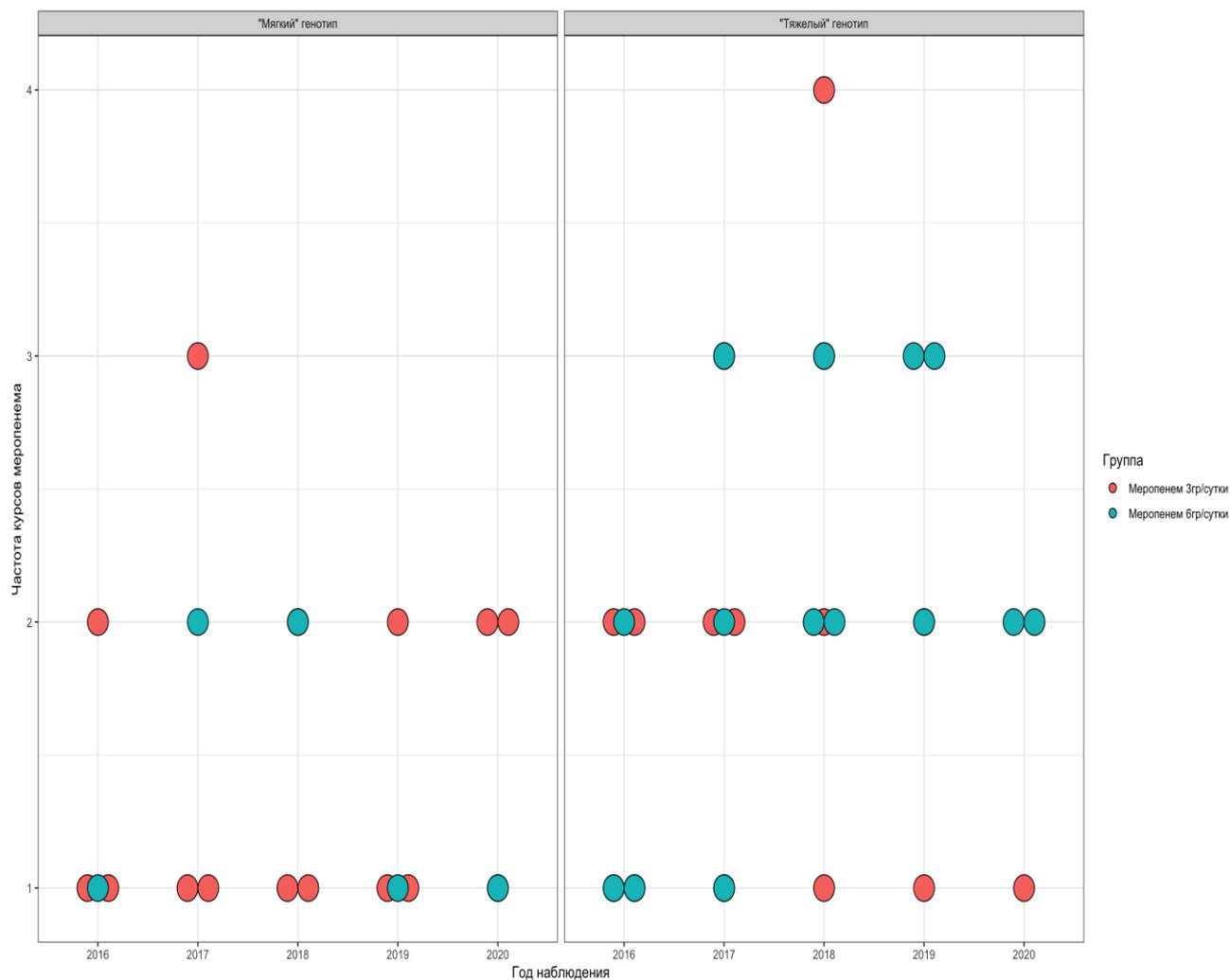


Рисунок 17 – Частота курсов меропенема у пациентов с хроническим инфицированием панрезистентного штамма *Achromobacter xyl.* с «мягким» и «тяжелым» генотипами

С целью анализа выживаемости пациентов из групп сравнения составлены кривые выживания Каплана-Майера в зависимости от типа мутации (рисунок 18) и от схемы лечения (рисунок 19). Все умершие пациенты были из группы «тяжелого» генотипа и не было получено различий в сроках выживаемости

у пациентов с хроническим инфицированием панрезистентного штамма *Achromobacter xyl.* в группах терапии меропенем 3 гр/сутки или меропенем 6 гр/сутки (χ^2 квадрат = 2.9054(-31), p value = 1).

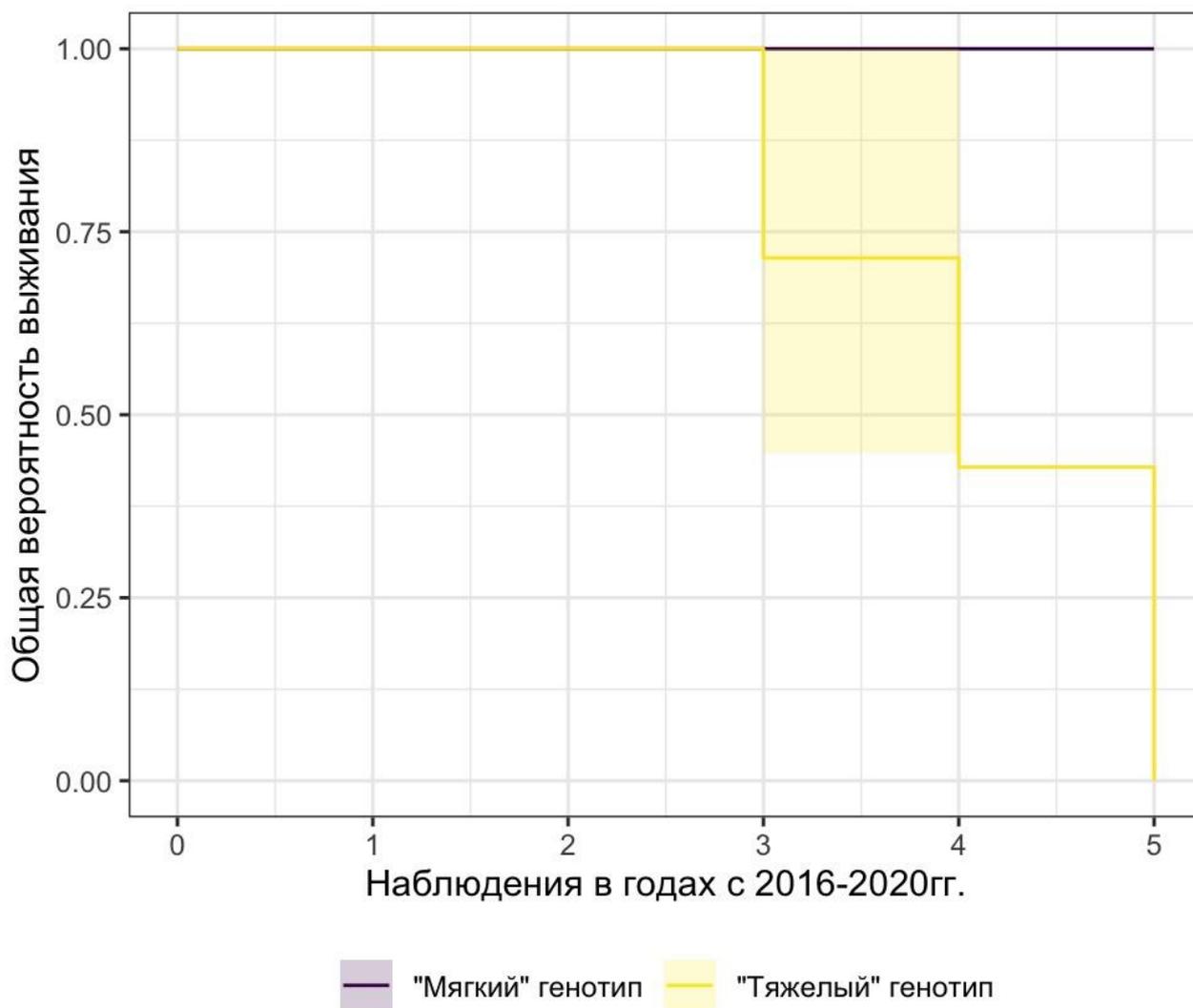


Рисунок 18 – Выживаемость пациентов с хроническим инфицированием панрезистентного штамма *Achromobacter xyl.* с «мягким» и «тяжелым» генотипами

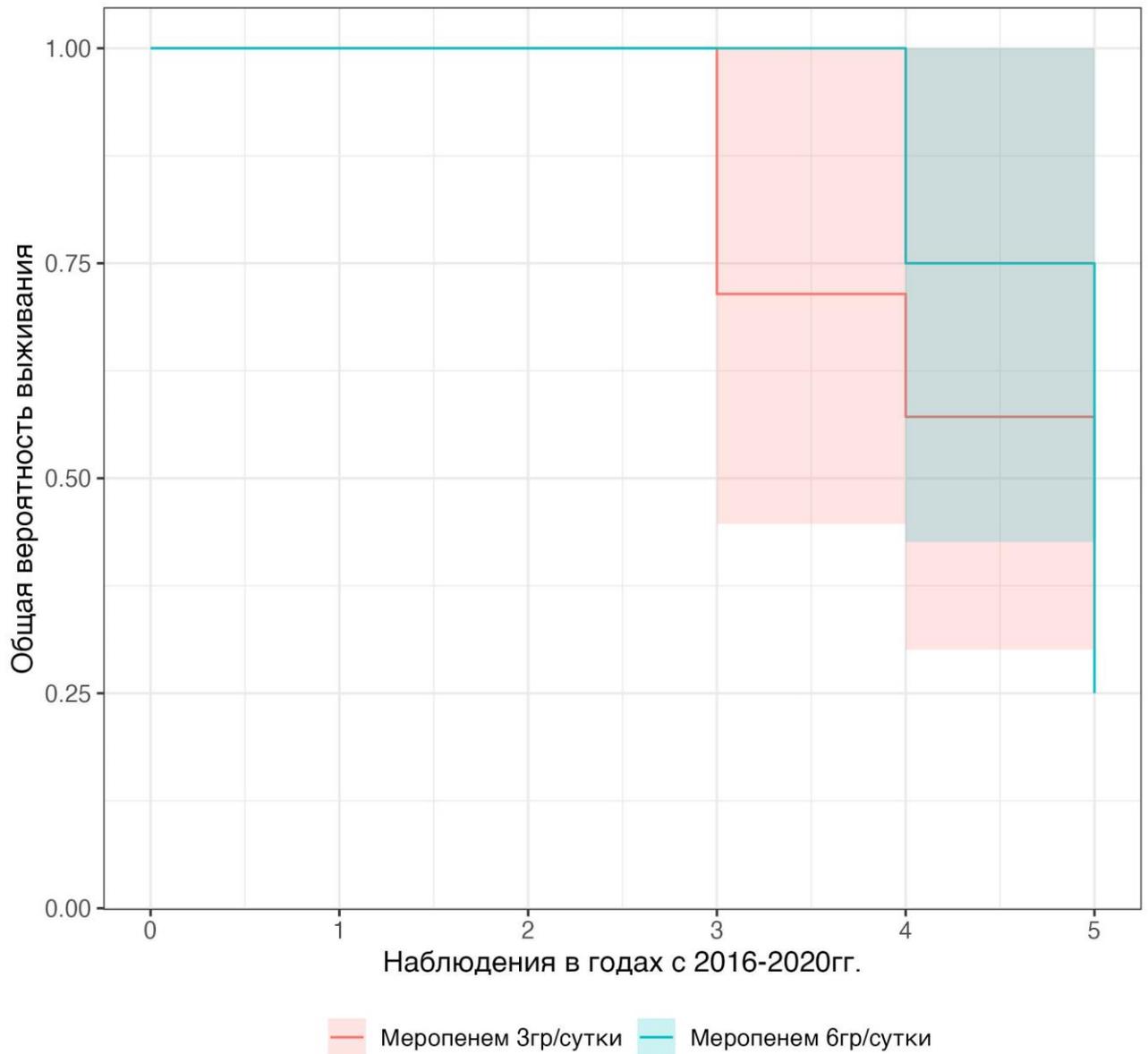


Рисунок 19 – Выживаемость пациентов с хроническим инфицированием панрезистентного штамма *Achromobacter xyl.* в группах терапии меропенем 3 гр/сутки и меропенем 6гр/сутки

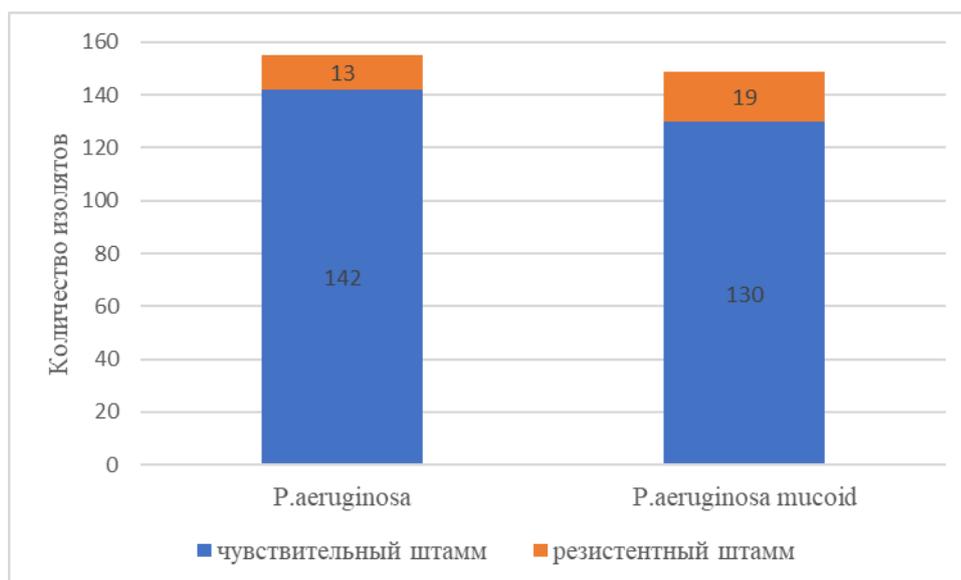


Рисунок 20 – Структура изолятов *P. aeruginosa* и чувствительность к тобрамицину

Тобрамицин является стандартным антипсевдомональным антибиотиком, но его эффективность снижается из-за ограниченной проницаемости биопленки.

Для оценки региональных особенностей проведен анализ чувствительности изолятов синегнойной инфекции к тобрамицину.

Значительный процент штаммов *P. aeruginosa* 90,8% оказались чувствительны к тобрамицину (рисунок 20). Группа мукоидного штамма *P. aeruginosa* показала меньшую чувствительность, чем группа немучоидного штамма, однако также оказалась в значительном проценте случаев 86,7% чувствительны к тобрамицину. Таким образом выявлена высокая региональная чувствительность мукоидных и немучоидных штаммов к тобрамицину.

3.4 Новая коронавирусная инфекция COVID-19 у пациентов с муковисцидозом

В данном разделе мы остановимся на анализе данных, полученных у больных МВ, перенесших новую коронавирусную инфекцию COVID-19.

3.4.1 Особенности течения новой коронавирусной инфекции COVID-19 у пациентов с муковисцидозом

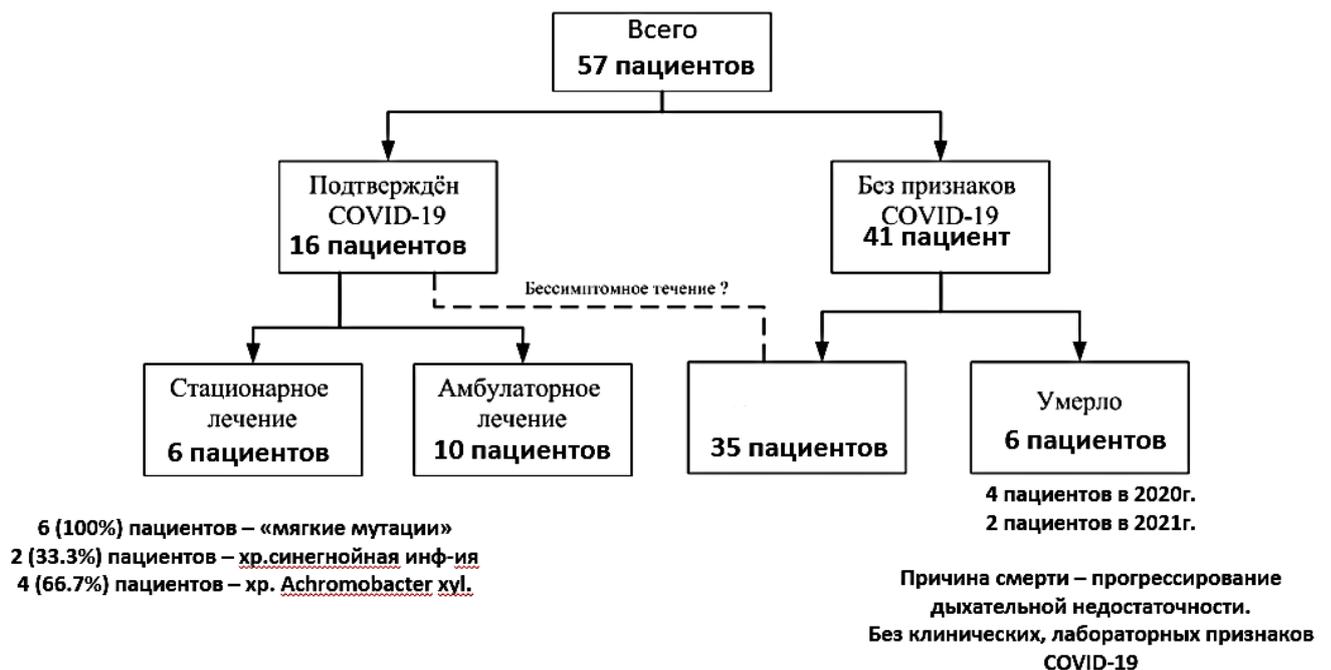


Рисунок 21 – Распределение пациентов с МВ, перенесших COVID-19

3.4.2 Особенности лечения новой коронавирусной инфекции COVID-19 у пациентов с муковисцидозом

Среди 56 пациентов у 10 (рисунок 21) выявлена коронавирусная инфекция, у 2 пациентов протекала в тяжелой форме, осложнилась внебольничной двусторонней пневмонией, проведено стационарное лечение с положительным эффектом. 8 пациентов перенесли инфекцию в легкой форме, проведено амбулаторное лечение также с положительным эффектом. При оценке нутритивного статуса у заболевших, у единственной пациентки с дефицитом массы тела (ИМТ =15,2 кг/м²) было отмечено тяжелое течение COVID-19, потребовавшее стационарного лечения. Второй госпитализированный пациент имел ИМТ на нижней границе нормы (ИМТ =18,56 кг/м²). Несмотря на течение мировой пандемии, сохраняется потребность в проведении стационарных курсов лечения больных МВ при тяжелом обострении. 3 пациентов с тяжелым течением смешанной формы муковисцидоза умерли за время наблюдения в связи с тяжелым обострением основного заболевания и прогрессирующей дыхательной недостаточностью. Клинико-рентгенологическая картина, лабораторные данные пациентов не соответствовали коронавирусной инфекции, минимум двукратные ПЦР на SARS CoV2 были отрицательные, данных за COVID-19 не получено.

Не было отмечено тяжелого течения или летальных исходов COVID-19 у взрослых пациентов МВ в регионе. Заболевание протекало преимущественно в легкой форме, в трети случаев потребовалась стационарное лечение в связи с обострением основного заболевания (рисунок 22).

Согласно результатам исследования 37,5% пациентов прошли стационарное лечение, 62,5% амбулаторное лечение (таблица 11), из них половина – 5 пациентов (31,5%) получали исключительно симптоматическое лечение нестероидными противовоспалительными средствами амбулаторно без дополнительного назначения антибактериальной терапии.

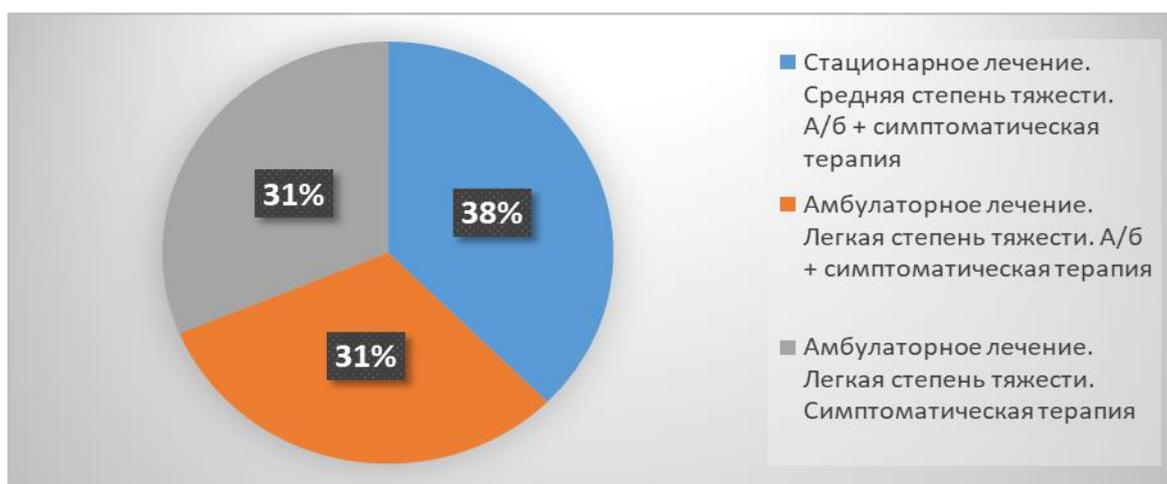


Рисунок 22 – Лечение COVID-19 взрослых пациентов МВ в СПб и ЛО

Таблица 11 – Основные показатели течения коронавирусной инфекции COVID-19 у взрослых пациентов МВ в исследуемой группе

Показатель	Результат
Подтвержден	16 (28%)
Стационарное лечение	6 (37,5%)
Амбулаторное лечение	10 (62,5%)
Антибактериальная + симптоматическая	5 (31,25%)
Симптоматическая терапия	5 (31,25%)
Степени тяжести COVID-19	
легкая	10 (62,5%)
средняя	6 (37,5%)
тяжелая	0
умерли от COVID-19	0
умерли от обострения МВ	6 (10,5%)

Среди симптомов преобладали лихорадка (93,7%) и одышка (75%) у абсолютного большинства пациентов (таблица 12).

Таблица 12 – Частота симптомов взрослых пациентов МВ с коронавирусной инфекцией COVID-19

Показатель	Результат
Лихорадка	15 (93,7%)
Одышка	12 (75%)
Увеличение мокроты	7 (43,7%)
Усиление кашля	6 (37,5)
Миалгия	8 (50%)
Головная боль	7 (43,7%)
Кровохарканье	3 (18,7%)
Рвота	3 (18,7%)
Аносмия	3 (18,7%)

Все пациенты, включенные в исследование, получали муколитическую терапию дорназа альфа и большинство (62,5%) получали симптоматическую терапию (таблица 13).

Таблица 13 – Терапия пациентов МВ с коронавирусной инфекцией COVID-19

Показатель	Результат
Антибактериальная внутривенно	3 (18,7%)
Антибактериальная таблетированная	6 (37,5%)
Симптоматическая	10 (62,5%)
Муколитическая (дорназа альфа)	16 (100%)

По результатам нашего исследования вакцинированы в выборке была меньшая часть пациентов и составила 38.5% (таблица 14).

Таблица 14 – Соблюдение базисной терапии пациентами МВ в период пандемии коронавирусной инфекцией COVID-19

Показатель	Результат
Вакцинированы	22 (38,5%)
Выполнение рекомендаций	
Более тщательно	7 (43,7%)
Так же	9 (56,3%)
Выполнение кинезиотерапии	
Более тщательно	5 (31,2%)
Так же	11 (68,8%)

Также обращало на себя внимание что около половины пациентов 43,7% более тщательно выполняли рекомендации по плановой ежедневной терапии и 31,2% более тщательно выполняли обязательную ежедневную кинезиотерапию. Также важно отметить, что никто из пациентов в нашем исследовании не снизили регулярность выполнения рекомендаций и ежедневной кинезиотерапии, 56,3% и 68,8% соответственно продолжили плановое лечение с той же регулярностью, как и до пандемии коронавирусной инфекции COVID-19.

Течение пандемии заставило пациентов более тщательно выполнять рекомендации и режим кинезиотерапии. Тем не менее большинство пациентов (75%) (таблица 15) отметила увеличение частоты обострения заболевания в этот период.

Таблица 15 – Динамика частоты обострения пациентов МВ с коронавирусной инфекцией COVID-19

Частота обострений	Результат
Чаще	12 (75,0%)
Реже	4 (25,0%)

При оценке фенотипов пациентов (таблица 16) не отмечено различий по типу генотипа или вида инфицирования нижних дыхательных путей на развитие коронавирусной инфекции COVID-19.

Таблица 16 – Фенотип пациентов МВ с коронавирусной инфекцией COVID-19

Порядковый номер	Возраст	Хр. инфицирование	Тип генотипа	Лечение
1	27	<i>P. aeruginosa</i>	мягкий	амбулаторное
2	32	<i>P. aeruginosa</i>	мягкий	стационарное
3	43	<i>Achromobacter xyl.</i>	мягкий	стационарное
4	31	<i>P. aeruginosa</i>	мягкий	амбулаторное
5	31	<i>Achromobacter xyl.</i>	тяжелый	стационарное
6	31	<i>Burcholderia cepacia</i>	мягкий	амбулаторное
7	21	<i>St. aureus</i>	мягкий	амбулаторное
8	63	<i>P. aeruginosa</i>	мягкий	стационарное
9	33	<i>P. aeruginosa</i>	тяжелый	амбулаторное
10	25	<i>St. aureus</i>	тяжелый	амбулаторное
11	32	<i>P. aeruginosa</i>	тяжелый	амбулаторное
12	33	<i>Achromobacter xyl.</i>	мягкий	амбулаторное
13	32	<i>St. aureus</i>	мягкий	амбулаторное
14	20	<i>P. aeruginosa</i>	тяжелый	стационарное
15	35	<i>St. aureus</i>	мягкий	амбулаторное
16	21	<i>P. aeruginosa</i>	тяжелый	стационарное

Среди пациентов перенесших коронавирусную инфекцию COVID-19 в обеих группах амбулаторного и стационарного лечения встречались пациенты и с «тяжелым» и с «мягким» генотипом в равной степени, также, как и с хроническим инфицированием как золотистым стафилококком, так и инфицированием грамотрицательной флорой (*P. aeruginosa*, *Achromobacter xyl.* и *Burcholderia cepacia*).

Глава 4

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

МВ является редким моногенным жизнеугрожающим заболеванием, при котором у больных сокращается продолжительность жизни и её качество – в настоящее время в основном за счёт поражения органов дыхания [2]. Современная комплексная терапия МВ, назначаемая согласно клиническим рекомендациям, привела к существенному продлению жизни больных и улучшению её качества, как следствие – увеличению числа взрослых больных (по данным регистра пациентов МВ в РФ за 2021 г. число взрослых больных МВ составили 27,4% от общего числа больных). Если ранее о тяжести состояния больного судили по степени поражения функции поджелудочной железы, то в настоящее время тяжесть состояния в основном определяется микробно-воспалительными поражениями лёгких. Под влиянием современной антимикробной терапии, меняется не только статус пациента, но и характер микробного сообщества хронического воспаления в лёгких, что заставляет оперативно проводить мониторинг, анализировать динамику инфекционного процесса в легких, корректировать терапию.

Нами проанализированы данные 60 взрослых больных МВ старше 18 лет. Количество взрослых пациентов с муковисцидозом в Санкт-Петербурге выросло с 26 человек до 57, в 2,19 раз (на 119%) за 6 лет с 2016 по 2021 гг. Мужчины незначительно преобладали в нашей выборке (55%). Наибольшие темпы прироста пациентов наблюдались в 2018 г. (+10 пациентов), 2019 г. (+8 пациентов) и 2020 г. (+8 пациентов), таким образом отмечен прогрессивный рост количества взрослых пациентов с МВ в регионе.

При сравнении данных Регистров больных МВ в РФ предыдущих лет (2011-2021 гг.) отмечено как динамическое увеличение общего числа пациентов: 2011 год – 1026 человек, 2019 год – 3169 человек, 2020 год – 3722 человека

и 2021 год – 3969 человек соответственно, более, чем в 3 раза по сравнению с 2011 г., так и числа взрослых больных (данные приведены ниже).

При этом, увеличение количества включенных в регистр пациентов, связано как с увеличением количества регионов, участвующих в составлении регистра, так и с увеличением количества пациентов в каждом регионе. Доля взрослых пациентов за последние опубликованные 3 года 2019-2021 гг. при едином количестве включенных регионов, также увеличилась с 25,5% (2019 г.) до 27,4% (2021 г.) [34], таким образом полученные данные нашего исследования и динамика регистров РФ последних лет по количеству взрослых пациентов аналогичны.

Доля взрослых пациентов с МВ в СПб (27,3%) оказалась ниже большинства регионов со схожим количеством включенных в регистр пациентов: в Москве 37,4%, в Ярославской области 46,2%, Республика Татарстан 36,8%, ниже процент взрослых пациентов с МВ отмечен в Красноярском крае 13,2% и Свердловской области 26,6%.

При оценке динамики возрастной структуры пациентов по годам (таблица 2) в динамике за 6 лет наблюдается увеличение среднего возраста: с $26,78 \text{ лет} \pm 1,71$ (2016 г.) до $31,33 \pm 1,33$ лет (2021 г.), и обращает на себя внимание наличие 2-х пациентов пенсионного возраста 62 и 64 лет на 2021 г. среди взрослых пациентов с МВ. Таким образом, самый старший пациент с МВ в отчетном 2021 году в РФ наблюдался в Санкт-Петербурге.

Следует отметить, что при анализе генетических и фенотипических особенностей в группе пациентов с «тяжелыми» мутациями средний возраст выявления заболевания был меньше и составил 3,44 года, в то время как в группе «мягких» мутаций 11,58 лет, таким образом возраст верификации диагноза был достоверно ниже среди больных с «тяжелыми» мутациями, нежели «мягкими». Обращает на себя внимание значительный разброс возраста выявления заболевания от 0 до 39,6-43 лет в обеих исследуемых группах. Генетический статус нашел отражение в среднем возрасте взрослых пациентов с МВ,

он оказался выше в группе «мягких» мутаций 31,6 лет, в то время как в группе тяжелых мутаций составил 28,3 лет.

Полученные данные коррелируют с российскими данными другого региона [27], где также подтверждено доминирование тяжелых генотипов МВТР в группе пациентов дошкольного возраста, в то время как в группах школьного возраста и взрослых пациентов преобладали мягкие генотипы. Исследователи отмечают, что течение заболевания у пациентов с мягким генотипом было более благоприятным, несмотря на более позднее выявление и начало лечения, объясняя это протективным влиянием мягких мутаций. Аналогичного мнения придерживаемся и мы на основании полученных результатов. Среди обследованных нами взрослых пациентов с МВ не было выявлено различий в гендерной структуре во всех возрастных группах.

Следует отметить, что охват генетического обследования в Санкт-Петербурге и ЛО самый высокий в РФ и составляет, согласно регистру МВ 2021 г., 99%. Выявлено преобладание тяжелых генотипов (55%) в регионе, однако выявленная доля 45% мягких генотипов оказалась выше среднего показателя по РФ 36% согласно регистру МВ РФ 2021 г. Эта группа «мягких» генотипов характеризуется значительным разнообразием, частота вариантов мутаций 3849+10kbC->T – 4 (15%), L138ins(11%) и E92K (15%) в регионе также оказались одними из самых частых по РФ, в то время как частота варианта R334W(15%) в регионе оказалась значительно выше чем по РФ (0,7%).

В 30% (8 пациентов) мягкие мутации оказались уникальными для региона на момент 2021г.: D1152H, L1093P, p.Lys1468Asn, F1286S, Q98R, 4022insT, – 461A->G, E217G. Интересно отметить, что среди неповторяющихся «мягких» мутаций в регионе только D1152H вошел в список аллельных частот генетических вариантов нуклеотидной последовательности гена МВТР в РФ с частотой более 0,1%, таким образом оставшиеся 7 из перечня уникальных в регионе мутаций оказались очень редкими и для РФ в целом.

Геномные прорывы изменили диагностику, классификацию и лечение муковисцидоза [113].

Был проведен анализ преобладающих групп мутаций, нами показано, что преобладают мутации F508del/не F508del – 63,4%, далее следовали мутации не F508del/не F508del – 25%, и самую небольшую группу составили пациенты с генотипом гомозигота по F508del – 11,6%. Полученные данные схожи с регистром 2021 г. где общее распределение групп мутаций по РФ составило 45,4%, 24,9% и 28,2% соответственно. Однако также интересно отметить, что структура групп мутаций взрослых пациентов с МВ СПб отличалась от отдельных регионов РФ в 2021г.: группа генотипов гомозигот по F508del (22,7%) в СПб оказалась ниже по численности чем в СЗФО в целом (30,5%), а также ниже, чем в Центральном федеральном округе (27,4%), Южном федеральном округе (32,8%) и Дальневосточном федеральном округе (33,7%), число гомозигот по F508del в СПб превысило только Северо-Кавказский федеральный округ (10,3%), где традиционно в структуре мутаций превалирует национальный вариант 1677delTA(28,4%). Группа генотипов F508del/не F508del в СПб оказалась, наоборот, выше (63,4%) большинства регионов: Центральный федеральный округ (49,4%), Южный федеральный округ (44,9%), Дальневосточный федеральный округ (39,8%). А группа не F508del/не F508del по СПб (25%) была схожей с таковыми по регионам РФ: Москва (26,5%), Приволжский федеральный округ (24,4%), Дальневосточный федеральный округ (26,5%).

При анализе распределения гомозигот, гетерозигот по F508del и генотипов без F508del в зависимости от возраста больных в исследуемом регионе установлена общая тенденция уменьшения доли гомозигот по F508del с увеличением возраста пациентов – 11 пациентов в группе 18-23 года и 3 пациентов в группе старше 42 лет, которая совпадает с данными по РФ за 2021г., где наблюдалось уменьшение доли гомозигот по F508del с 30% в группе 18 лет до 12,9% в группе старше 36 лет. По остальным генетическим вариантам

наблюдалась разноплановая динамика, связанная с небольшой выборкой взрослых пациентов исследуемого орфанного заболевания – группа 36-41 год составила 3 больных, группа старше 42 лет составила 7 больных.

Необходимо подчеркнуть, что у пациентов с МВ в последнее десятилетие во всем мире клиническую значимость приобретает *Achromobacter xyl* [129]. По данным Регистра 2020 г. частота встречаемости этого патогена у взрослых достигла 14,6% [23]. Все пациенты в нашем исследовании, инфицированные бактериями рода *Achromobacter spp.* относились к виду *Achromobacter xyl*. и его распространенность составила от 16,6% до 37,5% к 2020 г. Исследование микробиома проводилось в сроки с 2016 до 1 квартала 2020 г., поскольку далее после старта пандемии COVID-19 микробиологическое исследование мокроты наших пациентов с МВ значительно сократилось в 2020 г. и первой половине 2021 г. и далее не учитывалось в анализе полученных данных согласно поставленным задачам.

Несмотря на то, что согласно отечественным данным инфицирование *Achromobacter spp.* среди больных МВ в РФ в Санкт-Петербурге одно из самых высоких 7,1%, Москве 5,7%, Центральном ФО 6,3%, но ниже в сравнении с данными ряда других стран, где частота инфицирования *Achromobacter spp.* значительно выше у взрослых пациентов и составляет до 19,8-29% за длительный период наблюдения, что позволяет относить *Achromobacter spp.* уже в текущее время к основным возбудителям МВ в СПб, в том числе и в РФ и расценен как оппортунистический патоген который может вызывать фатальные инфекции у пациентов с МВ [89, 107].

Анализ динамики респираторной флоры показал закономерную доминирующую роль хронической синегнойной инфекции во все годы наблюдения и составил 50-58%. При анализе интермиттирующего высева синегнойной инфекции наблюдалось постепенное снижение частоты с 16,6% до 0,04%, что является характерной динамикой для взрослых пациентов с МВ. Отмечен тревожный экспоненциальный рост *Achromobacter xyl*. более чем в 2 раза – с 4 (16,6%) до 9 пациентов (37,5%) в данной выборке в 2018-2019 гг.,

а также сохранение аналогичной высокой доли возбудителя в общей структуре всех высевов в последующем 2019 г. (рисунки 2, 3). Следует отметить симметричное снижение количества пациентов в конце периода наблюдения в группах больных, инфицированных синегнойной инфекцией и *Achromobacter spp.*, что связано с летальным исходом части пациентов именно в этих 2 микробиологических группах.

Показатели высева *Burkholderia spp.* и *MRSA* были примерно одинаковые на протяжении всего периода наблюдения и составили 12,5-17% и 8-12,5% соответственно.

Продолжительность жизни пациентов с «мягким» генотипом оказалась выше, чем в группе с «тяжёлым» генотипом, несмотря на значимо более позднее установление диагноза и начало терапии (в среднем на 14 лет). В этой группе не было смертельных исходов. Пациенты с «мягким» генотипом имели более высокий нутритивный статус в период 2018-2021 года, за этот период в динамике среди них не наблюдалось достоверного уменьшения уровня ОФВ₁. Полученные результаты о более сохранном течении МВ у лиц с «мягким» генотипом схожи с описанными в литературе [17, 32]. Установленный диагноз МВ даёт возможность организовать плановое динамическое наблюдение за пациентами с более «мягким» течением болезни для своевременной профилактики и терапии заболевания, направленных прежде всего на проявления поражений органов дыхания. Среди больных с «тяжёлым» генотипом динамика заболевания была другой. Умерло 7 пациентов (23%), причина смерти – тяжёлая дыхательная недостаточность. У данных пациентов у 5 (71,4%) из 7 погибших больных отмечено хроническое инфицирование *Achromobacter xyl.* и хроническое инфицирование *P. aeruginosa* у 5 (71,4%) из 7, у 3 (42,8%) сочетание двух хронических патогенов. Все погибшие пациенты с хронической инфекцией *Achromobacter xyl.* имели панрезистентный штамм микроба. Отмеченный в исследовании двукратный рост инфицирования *Achromobacter xyl.* сопровождался снижением чувствительности возбудителя к карбапенемам.

Таким образом выявлены значительные региональные отличия структуры генотипов (большее количество «мягких» генотипов) и распространенности хронического инфицирования нижних дыхательных путей НФГ ОБ (доля *Achromobacter xyl.* выше) у взрослых пациентов с МВ в СПб в сравнении с данными РФ, что важно продолжить исследовать и учитывать при выборе антибактериальных препаратов в схемах лечения.

По результатам нашего исследования можно предположить, что для взрослых пациентов с муковисцидозом с «тяжелым» генотипом разумно тщательно соблюдать меры профилактики инфицирования НФГ ОБ и ранней эрадикации в случае заражения, т.к. последующее хроническое инфицирование и развитие резистентности *Achromobacter xyl.* имеют неблагоприятный прогноз по динамике снижения функционального и нутритивного статуса. Пациенты из группы «мягких» мутаций, согласно полученным данным, находятся в группе меньшего риска.

Исследования командами специалистов молекулярных механизмов развития МВ при различных генетических вариантах гена МВТР дают возможность уже в настоящее время достичь значимых результатов в клинической практике по увеличению продолжительности жизни пациентов с «мягкими» мутациями МВ и улучшению качества жизни больных МВ. Полученные данные об особенностях генотипов взрослых больных МВ и выявленная зависимость клинико-функциональных показателей больных МВ от спектра патогенной флоры в различных по генотипам группах пациентов позволят усовершенствовать медицинские и санитарно-эпидемиологические мероприятия для снижения инфицированности больных и повышения продолжительности их жизни. Мониторинг антибактериальной устойчивости клинически значимой неферментирующих Грамм-отрицательных бактерий даст возможность оптимизировать схемы противомикробной терапии.

Тяжесть течения МВ во многом определяется особенностями этиологии возбудителя инфекционного процесса в лёгких и генотипом больного. При анализе связи между генотипом МВТР и типами бактериальной инфекции

дыхательных путей у обследованных нами больных было установлено, что у гомозиготных или гетерозиготных по мутации F508 del, была повышена вероятность хронического инфицирования *P. aeruginosa* или *Achromobacter xyl.*, более высокая частота множественных инфекционных микроорганизмов.

При сопоставлении тяжести генотипа преобладал тяжелый генотип в 64,2% в группе с хроническим инфицированием *Achromobacter xyl.* и 71,4% в группе мукоидного штамма *P. aeruginosa*. При этом в группе с немучоидным штаммом *P. aeruginosa* наоборот преобладали пациенты с мягким генотипом 62,5%, что, вероятно, связано с более частыми курсами антибактериальной антисинегнойной терапии у пациентов с тяжелым генотипом МВ, в ответ на которую *P. aeruginosa* чаще подвергается мукоидной конверсии по данным литературы.

Полученные данные схожи с описанными в литературе, в ряде работ [110], где также установлена связь генотипа МВ и типом инфицирующей микрофлоры, пациенты с определенной мутацией с меньшей вероятностью будут колонизированы грамотрицательными микроорганизмами.

Стоит отметить, что часть работ не выявили взаимосвязи генотипа и фенотипа, в них показана высокая вариативность генетического спектра в популяциях *P. aeruginosa* без убедительной зависимости микробиологического фенотипа от генотипа [95, 96]. Вероятно, в этом случае оказывает влияние микробиологические факторы окружающей среды, система ксенобиотиков, вне зависимости от генотипа.

Хроническая инфекция *P. aeruginosa* является независимым фактором риска ускоренного падения легочной функции и снижения выживаемости [71, 72]. Ряд исследований и клиническая практика доказывают значительное улучшения качества и продолжительности жизни у больных МВ с появлением аминогликозидов, цефалоспоринов 3-4 поколения, фторхинолонов, карбапенемов, активных против *P. aeruginosa* [114]. Хорошо известны преимущества аэрозольного применения антибактериальных препаратов в виде высокого депонирования в просвете бронхов и низком уровне в сыворотке крови [104, 127].

Тобрамицин является стандартным антисепдомональным антибиотиком, ингаляционный тобрамицин значительно улучшает терапевтическое действие по сравнению с парентеральным введением аминогликозидов [68, 97, 98].

Чувствительность к тобрамицину по данным литературы составляет от 81,4 до 93%, в ряде исследований выявлены определенные генетические локусы в штаммах синегнойной палочки, придающие устойчивость к тобрамицину [67, 96].

Для оценки региональных особенностей нами проведен анализ чувствительности изолятов синегнойной инфекции к тобрамицину.

Значительный процент штаммов *P. aeruginosa* 90,8% оказались чувствительны к тобрамицину. Группа мукоидного штамма *P. aeruginosa* показала несколько меньшую чувствительность, чем группа немуконидного штамма, но оказалась в значительном проценте случаев – 86,7% чувствительна к тобрамицину, что можно отнести к особенностям изучаемого региона.

Высокая частота бактериальной конкуренции, исторически агрессивная антибактериальная терапия легочного воспалительного процесса у больных муковисцидозом привела в последние годы к смене микробиологического профиля с преимущественно хронического инфицирования *P. aeruginosa* на такие условно патогенные микроорганизмы как *Achromobacter xyl.* и *Burcholderia ceposerasia complex*. Легочные инфекции у пациентов с МВ уже более десяти лет рассматриваются как полимикробные dphjc stnm

[125]. В нашем исследовании мы выделили следующие наиболее частые хронические ассоциации микроорганизмов: *S.aureus* + *P. aeruginosa* 34,3%, *S. aureus* + *Achromobacter xyl.* 14,1%, *P. aeruginosa* + *Achromobacter xyl.* 13,7%, *S. aureus* + *P. aeruginosa* + *Achromobacter xyl.* 6,1%, 2 и более штамма *P. aeruginosa* 31,8%.

Можно предположить на основании собственных и литературных данных, что при МВ патогены вырабатывают специфические конкурентные стратегии, поскольку они развиваются в узкой, враждебной среде, подверженной многочисленным изменениям, появляются новые микробы, которые интенсивно

изучаются, в последние годы внимание было уделено конкурентной способности *Achromobacter spp.*, и его внушительному вирулентному арсеналу [100, 101].

Эти ассоциации микробиоты с заболеванием также следует интерпретировать с экологической точки зрения, поскольку они имеют место в легочной среде, то есть в ограниченном пространстве, подвергающемся разнообразному избирательному давлению (иммунная система, кислая среда, лечение антибиотиками и т.д. [121].

Бактерии, принадлежащие к роду *Achromobacter*, широко распространены в естественной среде и были признаны новыми патогенами за их вклад в развитие широкого спектра инфекций человека. В частности, пациенты с муковисцидозом (МВ) являются субъектами, наиболее часто колонизируемыми *Achromobacter spp.*, которые могут вызывать персистирующие инфекции в их дыхательных путях. Хотя многие клинические аспекты и патогенетические механизмы все еще остаются невыясненными, интерес к *Achromobacter spp.* в последние годы растет.

Особенностью *Achromobacter spp.* является природная устойчивость к аминогликозидам, азтреонаму, тетрациклинам, части пенициллинов и цефалоспоринов, а также способность формировать биопленки, что обуславливает сложности при проведении эффективной эрадикационной терапии [115].

Ряд авторов отмечают, что вопрос резистентности *Achromobacter spp.* изучен недостаточно [80, 86]. Устойчивость к противомикробным препаратам широкого спектра действия серьезно ограничивает возможности лечения.

В рамках нашего исследования был проведен анализ сроков формирования панрезистентности чувствительных штаммов *Achromobacter spp.* при антибактериальной терапии двумя схемами согласно текущим клиническим рекомендациям на момент исследования: схема Цефтазидим 6 гр/сутки+ амикацин и сутки и схема Меропенем 3 гр/сутки. По данным сравнительной характеристики не было выявлено различий в 2 группах лечения и составили $5,8 \pm 1,82$ года в группе Цефтазидим 6 гр/сутки+ амикацин и сутки $4,48 \pm 1,41$ года в группе Меропенем 3 гр/сутки соответственно.

Таким образом, по данным нашего исследования данный патоген приобретает адаптивную резистентность при обеих схемах лечения в одинаковые сроки.

В мировой литературе отмечается, что лечение панрезистентных штаммов *Achromobacter spp.* является сложным и часто произвольным, применяются схемы в зависимости от клинического ответа, а также традиционным возможно назначение препаратов off label [78, 79]. Таким образом за прошедшие года схема лечения данного патогена претерпевали изменения, что нашло изменения в схемах клинических рекомендаций и остается сферой научного интереса.

При установленной хронической инфекции предпочтительным является назначение ингаляционного колистина длительно, а также препаратом выбора является меропенем как ингаляционно, так и внутривенно. Задачей нашего исследования было оценка эффективности двух схем лечения панрезистентного штамма *Achromobacter spp.* в зависимости от дозы меропенема.

Для оценки эффективности лечения двух групп проведена сравнительная характеристика групп по количеству, полу, среднему возрасту и срокам инфицирования. При оценке основных характеристик двух сравниваемых групп не отмечено разницы по возрасту, доли тяжелых мутаций и срокам инфицирования *Achromobacter spp.* В группе меропенем 3 гр/сутки преобладали мужчины 71,5%, а в группе меропенем 6 гр/сутки их было меньшинство. В отношении среднего возраста и сроков инфицирования группы сравнения были однородны. Таким образом предложенные группы сравнения были пригодны для достоверного сравнения эффективности лечения разных схем дозирования антибактериального препарата.

Для оценки эффективности терапии нами выбран показатель продолжительности жизни в сроки исследования 2016-2021 гг., ввиду того что все 11 пациентов с хроническим инфицированием *Achromobacter spp.* проходили курсы антибактериальной терапии в рамках стационарного лечения, задокументирована положительная клинико-лабораторная динамика на фоне лечения и отсутствие осложнений у всех включенных пациентов обеих групп.

При оценке выживаемости пациентов из групп сравнения не было получено различий в сроках выживаемости при терапии меропенем 3 г./сутки и меропенем 6 г./сутки, таким образом по данным нашего исследования эскалация антибактериальной терапии не является доминирующей стратегией, а составляет часть комплексного лечения пациентов с МВ. «Тяжелый» генотип мутации пациентов с МВ значительно влияет на выживаемость взрослых пациентов, по результатам исследования все умершие пациенты были из группы «тяжелого» генотипа.

Анализ характеристик пациентов с инфицированием нижних дыхательных путей грамотрицательной флорой даст возможность оптимизировать схемы противомикробной терапии [108, 117].

Одной из задач нашего исследования было изучение особенностей течения COVID-19 у взрослых больных МВ в период пандемии. К моменту начала исследования было известно, согласно проведенному метаанализу 506 случаев бессимптомного течения COVID-19, зафиксированных в мире, большинство пациентов с бессимптомным течением составили дети (33,8%) и люди молодого возраста (30,9%) [92]. Что касается пациентов с МВ, то по данным Европейского общества Муковисцидоза на 20.01.2020 г., у 80 пациентов (19,4%) тоже была выявлена коронавирусная инфекция без каких-либо симптомов [90]. Возможно, это связано с преимущественно молодым возрастом пациентов. Таким образом, мы можем предположить, что у части не «болевших» пациентов из нашей группы исследования (43 больных) могли быть не выявленные бессимптомные случаи COVID-19, однако не можем утверждать. По фактическим собственным данным распространенность новой коронавирусной инфекции среди взрослых пациентов МВ СПб и ЛО составляет минимум 17,85% (10 случаев на 56 пациентов).

Среди 56 пациентов у 10 выявлена коронавирусная инфекция, у 2 пациентов она протекала в тяжелой форме, осложнилась внебольничной двусторонней пневмонией, проведено стационарное лечение с положительным эффектом. 8 пациентов перенесли инфекцию в легкой форме, находились на амбулаторном лечении также с положительным эффектом. При оценке нутритивного статуса

у заболевших, у единственной пациентки с дефицитом массы тела (ИМТ =15,62 кг/м²) было отмечено тяжелое течение COVID-19, потребовавшее стационарного лечения. Второй госпитализированный пациент имел ИМТ на нижней границе нормы (ИМТ =18,56 кг/м²). Связи тяжелого течения COVID-19 у пациентом МВ с нутритивным статусом не отмечалось [77].

Несмотря на течение мировой пандемии, в указанное время сохранялась потребность в проведении стационарных курсов лечения больных МВ при тяжелом обострении [81]. Из числа обследованных нами, 3 пациентов с тяжелым течением смешанной формы МВ умерли за время наблюдения в связи с тяжелым обострением основного заболевания и прогрессирующей дыхательной недостаточностью. Клинико-рентгенологическая картина, лабораторные данные пациентов не соответствовали коронавирусной инфекции, минимум двукратные ПЦР на SARS CoV2 были отрицательные, данных за COVID-19 не получено.

Не было отмечено тяжелого течения или летальных исходов COVID-19 у взрослых пациентов МВ в регионе. Заболевание протекало преимущественно в легкой форме, только в 37,5% случаев потребовалось стационарное лечение по поводу обострения основного заболевания, и в 62,5% – амбулаторное, из них половина – 5 пациентов (31,5%) получали только симптоматическое лечение амбулаторно без дополнительного назначения антибактериальной терапии с положительным клиническим эффектом.

При оценке клинических особенностей инфекции у пациентов не отмечено различий по генотипу или виду инфицирования нижних дыхательных путей на развитие коронавирусной инфекции COVID-19. Среди пациентов перенесших коронавирусную инфекцию COVID-19 в обеих группах амбулаторного и стационарного лечения встречались пациенты и с тяжелым и с мягким генотипом в равной степени, также, как и с хроническим инфицированием как золотистым стафилококком, так и инфицированием грамотрицательной флорой (*P. aeruginosa*, *Achromobacter xyl.* и *Burcholderia cepacia*).

В целом, как зарубежные, так и собственные данные показывают, что на фоне МВ COVID-19 протекает чаще в легкой форме [73]. Заболеваемость COVID-

19 не выше, чем в общей популяции, что связывают, как с молодым возрастом пациентов, их ранней и строгой изоляцией, с навыками по профилактике инфекции, так и, возможно, с проводимой базисной терапией. Среди терапевтических кандидатов, защищающих больных МВ от тяжелого течения COVID-19, различными авторами указываются следующие препараты: дорназа-альфа, азитромицин, применяемый с противовоспалительной целью на фоне синегнойной инфекции, частые курсы антибактериальной терапии [51, 118].

Долгосрочные последствия COVID-19 для населения с муковисцидозом остаются неизвестными и требуют дальнейшего изучения.

Полученные данные об особенностях генотипов взрослых больных МВ и выявленная зависимость клинико-функциональных показателей больных МВ от спектра патогенной флоры в различных по генотипам группах пациентов позволят усовершенствовать медицинские и санитарно-эпидемиологические мероприятия для снижения инфицированности больных и повышения продолжительности их жизни. Мониторинг антибактериальной устойчивости клинически значимой неферментирующих грамотрицательных бактерий даст возможность оптимизировать схемы противомикробной терапии.

Таким образом, МВ имеет свои эпидемиологические и генетические особенности, что необходимо учитывать при создании диагностических и лечебных программ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, подводя итог представленным в 3 главе результатам проведенных исследований, следует отметить, что современная окружающая среда для пациентов является источником штаммов микроорганизмов, наиболее значимые из которых это *P. aeruginosa* и *Achromobacter spp.*

Анализ данных, полученных при комплексном обследовании пациентов показал преимущество комплексного лечения по сравнению с увеличением дозировки антибактериальных препаратов широкого спектра действия.

По нашим данным, терапия меропенемом панрезистентных штаммов *Achromobacter spp.* в увеличенной дозировке 6 гр/сутки не имеет преимуществ в выживаемости, а значит применение базовой дозы, предложенной текущими рекомендациями и соблюдением полного комплексного лечения способствует равнозначно эффективной терапии с возможностью профилактики побочных и токсических эффектов.

Результаты настоящего исследования показали, что группа больных МВ, где проведена терапия меропенемом чувствительных штаммов *Achromobacter spp.* не имеет преимуществ в развитии скорости резистентности штаммов.

Предложенная в исследовании методика сохранения базовой терапии тобрамицином хронической синегнойной инфекции актуальна ввиду выявленной региональной особенности – высокой чувствительности к данному антибактериальному препарату. Настоящая работа может служить отправным этапом для последующих исследований создания оптимальных схем противомикробной терапии при прогрессирующей патогенной микробной нагрузке взрослых пациентов муковисцидозом по мере увеличения у них продолжительности жизни.

Учитывая все вышеизложенное, становится очевидным, что микробиологический и генетический статус взрослых пациентов с МВ определяет их прогноз и является предметом изучения региональных особенностей для эффективного лечения данной группы пациентов.

ВЫВОДЫ

1. В СПб и ЛО выявлена высокая частота взрослых пациентов МВ (45%) с «мягким» генотипом и значительное разнообразие мягких мутаций в сравнении с другими регионами, что способствует достоверному увеличению среднего возраста $29,8 \pm 9,24$ (2021 г.) и количества взрослых больных МВ в регионе за 6 лет (2016-2021 гг.) Отмечено нарастание хронического инфицирования НФГ ОБ инфекции: *Achromobacter spp.* (17,5%) и *Burkholderia spp.* (8,7%).

2. Частота «тяжелого» генотипа у взрослых пациентов МВ с хроническим инфицированием НФГ ОБ выше, чем в группе «мягких» генотипов и составляет 64,2% для *Achromobacter spp.*, 71,4% для *P. aeruginosa mucoid*. Немуконидная форма *P. aeruginosa* чаще встречается у пациентов с «мягким» генотипом в 62,5%. Установлено, что тип генотипа влияет на выживаемость пациентов, 100% умерших пациентов имели тяжелый генотип.

3. Двукратный рост инфицирования *Achromobacter spp.* за период исследования сопровождался прогрессивным снижением чувствительности возбудителя к карбапенемам с 53,8% до 30,7%, что привело к увеличению смертности, число пациентов уменьшилось к концу периода наблюдения. Все погибшие пациенты с хронической инфекцией *Achromobacter spp.* имели панрезистентный штамм и «тяжелый» генотип. Изменчивость чувствительности к карбапенемам является клинически и эпидемиологически значимой и указывает на необходимость мониторинга антибиотикорезистентности в динамике для эффективного лечения пациентов МВ.

4. Заболевание COVID-19 в 2020-2021 гг. у взрослых пациентов МВ в СПб и ЛО протекало преимущественно в легкой форме, без признаков обострения основного заболевания, не было зарегистрировано тяжелого течения инфекции и летальных исходов в регионе. Установлено, что взрослым пациентам МВ с COVID-19 исключительно симптоматическая терапия нестероидными противовоспалительными средствами является достаточным объемом терапии и

не требует назначения антибактериальной терапии в 50% случаев амбулаторного лечения.

5. Повышение дозы меропенема в группе резистентных штаммов *Achromobacter spp.* не влияет на выживаемость пациентов. Схемы лечения меропенем и цефтазидим + амикацин не имеют различий в развитии сроков резистентности у чувствительных штаммов *Achromobacter spp.*

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При формировании группы риска по инфицированию *Achromobacter xyl.* у взрослых пациентов с муковисцидозом целесообразно выделять пациентов с «тяжелыми» мутациями, что дает возможность своевременно более тщательно выполнять меры по снижению риска заражения.

2. Предложено применение схемы лечения цефтазидим/амикацин для пациентов с хроническим инфицированием чувствительного штамма *Achromobacter xyl.* как равнозначно действующей на развитие резистентности в будущем в сравнении с группой меропенема.

3. Рекомендовано продолжение длительной курсовой терапии тобрамицином для пациентов с хроническим инфицированием *P. aeruginosa* в Санкт-Петербурге и Ленинградской области вследствие выявленной региональной особенности – высокой чувствительности штаммов к препарату.

4. Для эффективного лечения взрослых пациентов МВ не рекомендовано увеличение дозы антибактериальной терапии меропенемом, целесообразно использование дозировки, согласно текущим рекомендациям.

5. При отсутствии признаков обострения основного заболевания у амбулаторных взрослых больных с муковисцидозом с COVID-19 следует считать эффективной схему лечения без назначения дополнительной антибактериальной терапии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВОЗ – Всемирная Организация здравоохранения

ЛО – Ленинградская область

МВ – муковисцидоз

МВТР – трансмембранный ген муковисцидоза

НФГОБ – неферментирующие грамотрицательные бактерии

РФ – Российская Федерация

СПб – Санкт-Петербург

ФВД – функция внешнего дыхания

ECFS – European Cystic Fibrosis Society

– Европейское общество муковисцидоза)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдеев, С.Н. Интенсивная терапия при муковисцидозе взрослых / С.Н. Авдеев, В.А. Самойленко, Е.Л. Амелина [и др.] // Пульмонология. – 2001. – № 3. – С. 87-99.
2. Аветисян, Л.Р. Применение современных методов в микробиологической диагностике хронической инфекции легких у больных муковисцидозом / Л.Р. Аветисян, М.Ю. Чернуха, И.А. Шагинян [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. – 2019. – Т. 116, № 2. – С. 70-79.
3. Аветисян, Л.Р. Эпидемиологические и микробиологические особенности хронической инфекции легких у больных муковисцидозом, вызванной *Staphylococcus aureus* / Л.Р. Аветисян, О.С. Медведева, М.Ю. Чернуха [и др.] // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2020. – Т. 99, № 2. – С. 102-111.
4. Аветисян, Л.Р. Эпидемиологический надзор за хроническими инфекциями легких, вызванными бактериями *Burkholderia cepacia complex*, бактериями рода *Achromobacter*, *Pseudomonas aeruginosa* и метициллинрезистентным *Staphylococcus aureus* у больных муковисцидозом / Л.Р. Аветисян, И.А. Шагинян, М.Ю. Чернуха [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2020. – Т. 19, № 1. – С. 14-23.
5. Афанасьева, М.В. Выживаемость взрослых больных муковисцидозом с хронической инфекцией респираторного тракта, обусловленной микроорганизмами *Burkholderia cepacia complex* / М.В. Афанасьева, Е.Л. Амелина, А.В. Черняк [и др.] // Практическая пульмонология. – 2018. – № 1. – С. 60-64.
6. АшEROва, И.К. Муковисцидоз-медико-социальная проблема / И.К. АшEROва, Н.И. Капранов. – Москва: Типография Ярославский печатный двор», 2013. – 236 с.

7. Ашерова, И.К. Регистр как средство улучшения качества медицинской помощи больным муковисцидозом / И.К. Ашерова, Н.И. Капранов // Педиатрическая фармакология. – 2012. – Т. 9, № 3. – С. 96-100.
8. Баранов, А.А. Современные подходы к ведению детей с муковисцидозом / А.А. Баранов, Л.С. Намазова-Баранова, С.И. Куцев [и др.] // Педиатрическая фармакология ПФ. – 2022. – № 2. – С. 153-195.
9. Бойцова, Е.В. Генотипические особенности и фенотипические проявления муковисцидоза у больных Ленинградской области / Е.В. Бойцова, Т.Е. Гембицкая, Т.Э. Иващенко [и др.] // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2015. – № 4. – С. 58-62.
10. Воронкова, А.Ю. Регистр больных муковисцидозом в Российской Федерации. 2017 год / под ред. А.Ю. Воронковой, Е.Л. Амелиной, Н.Ю. Каширской [и др.]. – Москва: Медпрактика-М, 2019. – 68 с.
11. Желенина, Л.А. Механизмы бронхиальной обструкции у больных муковисцидозом / Л.А. Желенина, М.Е. Фаустова, Е.К. Доценко [и др.] // Пульмонология. – 1998. – № 4. – С. 27-30.
12. Желенина, Л.А. Современные подходы к лечению инфекционного процесса при муковисцидозе (Обзор литературы) / Л.А. Желенина, Т.Е. Гембицкая // Пульмонология. – 1994. – № 3. – С. 23-26.
13. Капранов, Н.И. Муковисцидоз / Н.И. Капранов, Н.Ю. Каширская. – Москва: МЕДПРАКТИКА-М, 2021. – 672 с.
14. Капустина, Т.Ю. Изменения печени и их коррекция при муковисцидозе у детей. Автореферат на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Капустина Т.Ю. – Москва, 2001 – с.24.
15. Каширская, Н.Ю. Муковисцидоз / под ред. Н.Ю. Каширской, Н.И. Капранова, Е.И. Кондратьевой. – 2-е. издание, переработанное и дополненное. – Москва: ИД «МЕДПРАКТИКА-М», 2021. – 680 с.
16. Кистозный фиброз (муковисцидоз). Клинические рекомендации. – 2021. – URL: <https://mukoviscidoz.org/doc/КР372.pdf> (Дата обращения: 10.12.22).

17. Кондратенко, О.В. Гетерогенность популяции штаммов рода *Burkholderia*, выделенных от пациентов с муковисцидозом в Российской Федерации / О.В. Кондратенко // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2019. – № 3. – С. 71-74.
18. Кондратьева, Е.И. Актуальные вопросы диагностики муковисцидоза / Е.И. Кондратьева, Н.И. Капранов, В.Д. Шерман [и др.] // Практика педиатра. – 2015. – № 2. – С. 20-27.
19. Кондратьева, Е.И. Возможности клинической фармакогенетики в персонализированном применении антибактериальных лекарственных средств в клинической практике при муковисцидозе / Е.И. Кондратьева, О.Г. Новоселова, Н.В. Петрова [и др.] // Вестник Росздравнадзора. – 2018. – № 3. – С. 68-76.
20. Кондратьева, Е.И. Клинико-генетическая характеристика и исходы мекониевого илеуса при муковисцидозе / Кондратьева Елена Ивановна, В.Д. Шерман, Е.Л. Амелина, С.А.Красовский [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2016.- Т. 61, №6. - С. 77-81.
21. Кондратьева, Е.И. Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия Национальный консенсус 2018 / под ред. Е.И. Кондратьевой, Н.Ю. Каширской, Н.И. Капранова. – 2-е издание. – Москва: ООО «Компания БОРГЕС», 2018. – 356 с.
22. Кондратьева, Е.И. Опыт применения методов оценки функциональности анионного канала CFTR у пациентов с установленным и предполагаемым диагнозом муковисцидоза / Ю.Л. Мельяновская, А.С. Ефремова, Н.В. Бухарова [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. – 2019. – № 2. – С.60–69.
23. Кондратьева, Е.И. Регистр пациентов с муковисцидозом в Российской Федерации. 2020 год / Е.И. Кондратьева, С.А. Красовский, М.А. Старинова [и др.]. – Москва: Медпрактика-М, 2022. – 72 с

24. Кондратьева, Е.И. Российский регистр пациентов с муковисцидозом: уроки и перспективы Е.И. Кондратьева, А.Ю. Воронкова, Н.Ю. Каширская [и др.] // Пульмонология. – 2023. – Т. 33, № 2. – С. 171-181.
25. Кондратьева, Е.И. Синегнойная инфекция в детском возрасте: современное состояние проблемы / Е.И. Кондратьева, Е.В. Лошкова, М.Ю. Чернуха [и др.] // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2016. – Т. 95, № 4. – С. 187-197.
26. Кондратьева, Е.И. Функция легких детей и подростков больных муковисцидозом в российской федерации / Е.И. Кондратьева, С.А. Красовский, А.Ю. Воронкова [и др.] // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2016. – Т. 95, № 4. – С. 136-142.
27. Кондратьева, Е.И. Характеристика муковисцидоза в разных регионах России / Е.И. Кондратьева, Н.А. Ильенкова, М.М. Хачиян [и др.] // Практическая пульмонология. – 2018. – № 3. – С. 20-27.
28. Красовский, С.А. Влияние возраста постановки диагноза и начала специфической терапии на основные клинико-лабораторные проявления заболевания у больных муковисцидозом / С.А. Красовский, Н.Ю. Каширская, М.В. Усачёва [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2014. – № 2. – С. 36-43.
29. Красовский, С.А. Генетическая характеристика больных муковисцидозом в Российской Федерации по данным Национального регистра (2014) / С.А. Красовский, Н.Ю. Каширская, А.В. Черняк [и др.] // Пульмонология. – 2016. – Т. 26, № 2. – С. 133-151.
30. Красовский, С.А. Динамика показателей национального регистра больных муковисцидозом за 2011-2017 года / С.А. Красовский, Е.Л. Амелина, Н.Ю. Каширская [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. – 2019. – Т. 116, № 2. – С. 14-18.
31. Красовский, С.А. Инфицирование респираторного тракта микроорганизмами *V. serasia complex* как неблагоприятный прогностический фактор у больных

- муковисцидозом / С.А. Красовский, М.В. Афанасьева, Е.Л. Амелина [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. – 2019. – Т. 116, № 2. – С. 89-94.
32. Красовский, С.А. Муковисцидоз: некоторые вопросы эпидемиологии и генетики / С.А. Красовский, Т.А. Адян, Е.Л. Амелина [и др.] // Практическая пульмонология. – 2019. – № 4. – С. 45-50.
33. Красовский, С.А. Регистр больных муковисцидозом в Российской Федерации. 2016 год / под ред. С.А. Красовского, А.В. Черняк, А.Ю. Воронковой [и др.]. – Москва: Медпрактика-М, 2018. – 64 с. – URL: https://mukoviscidoz.org/doc/registr/Registre_2016стр.pdf (Дата обращения: 05.12.22).
34. Красовский, С.А. Регистр больных муковисцидозом в Российской Федерации. 2021 год / под ред. С.А. Красовского, М.А. Стариновой, А.Ю. Воронковой [и др.]. – Санкт-Петербург: Благотворительный фонд «Острова», 2023. – 81 с.
35. Красовский, С.А. Респираторная инфекция нижних дыхательных путей у больных муковисцидозом в российской федерации по данным национального регистра (2014) / С.А. Красовский, Е.Л. Амелина, Е.И. Кондратьева [и др.] // Пульмонология. – 2016. – Т. 26, № 4. – С. 421-435.
36. Красовский, С.А. Роль регистра московского региона в ведении больных муковисцидозом / С.А. Красовский, Е.Л. Амелина, А.В. Черняк [и др.] // Пульмонология. – 2013. – № 2. – С. 27-32.
37. Леднева, В.С. Анализ микробного спектра мокроты у детей, больных муковисцидозом / В.С. Леднева, Л.В. Ульянова, М.И. Талыкова [и др.] // Вопросы практической педиатрии. – 2016. – Т. 11, № 5. – С. 18-21.
38. Леднева, В.С. Прогнозирование динамики клинического течения муковисцидоза в различных возрастных группах / В.С. Леднева, Л.В. Ульянова, М.И. Талыкова [и др.] // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2017. – Т. 16, № 3. – С. 678-685.
39. Методические указания МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические указания.

- Москва: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 91 с.
40. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам Версия-2015-02. Клинические рекомендации / Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии. – Москва, 2015.
 41. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам Версия-2018-03. Клинические рекомендации / Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии.
 42. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам : рекомендации. – 2021.
 43. Павлинова, Е.Б. Клиническое значение микробиоты легких и эффективность ингаляционной антибактериальной терапии у детей с муковисцидозом / Е.Б. Павлинова, А.Г. Мингаирова, Т.И. Сафонова [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2019. – Т. 64, № 1. – С. 68-75.
 44. Петрова, Н.В. Особенности спектра патогенных генетических вариантов гена CFTR у больных муковисцидозом из Российской Федерации / Н.В. Петрова, Е.И. Кондратьева, А.В. Поляков [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. – 2019. – № 2. – С. 47-59.
 45. Поликарпова, С.В. Микрофлора дыхательных путей у больных муковисцидозом и чувствительность к антибиотикам в 15–летнем наблюдении (2000-2015 гг.) / С.В. Поликарпова, Е.И. Кондратьева, Л.А. Шабалова [и др.] // Медицинский совет. – 2016. – № 15. – С. 84-89.
 46. Поликарпова, С.В. Руководство по микробиологической диагностике инфекций дыхательных путей у пациентов с муковисцидозом / С.В. Поликарпова, С.В. Жилина, О.В. Кондратенко [и др.]. – Тверь, 2019. – 128 с.
 47. Регистр больных муковисцидозом в Российской Федерации. 2012 год. – URL: https://mukoviscidoz.org/doc/registr/Registr_2012_27.02.pdf.

48. Регистр больных муковисцидозом в Российской Федерации. 2013 год. – Москва: МЕДПРАКТИКА-М, 2015. – 64 с.
49. Регистр больных муковисцидозом в Российской Федерации. 2014 год. – Москва: МЕДПРАКТИКА-М, 2015. – 64 с.
50. Свистушкин, В.М. Особенности поражения лор-органов у взрослых пациентов с муковисцидозом / В.М. Свистушкин, Э.В. Синьков, Г.Л. Шумкова [и др.] // Медицинский совет. – 2019. – № 8. – С. 48-53.
51. Симонова, О.И. Эффективность дорназы альфа в составе базисной терапии у детей с муковисцидозом в период пандемии COVID-19 / О.И. Симонова, Ю.В. Горинова, А.С. Чернявская // Медицинский совет. – 2022. – № 19. – С. 88-95.
52. Сиянова, Е. Мониторинг хронической инфекции легких у больных муковисцидозом, вызванной бактериями *Pseudomonas aeruginosa* / Е. Сиянова, М.Ю. Чернуха, Л.Р. Аветисян [и др.] // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2018. – Т. 97, № 2. – С. 77-86.
53. Чеботарь, И.В. Использование времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (maldi-tof ms) для идентификации бактериальных и грибковых возбудителей III-IV групп патогенности / И.В. Чеботарь, С.В. Поликарпова, Ю.А. Бочарова [и др.] // Лабораторная служба. – 2018. – Т. 7, № 2. – С. 78-86.
54. Чеботарь, И.В. Механизмы резистентности *Pseudomonas aeruginosa* к антибиотикам и их регуляция / И.В. Чеботарь, Ю.А. Бочарова, Н.А. Маянский // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2017. – Т. 19, № 4. – С. 308-319.
55. Чернуха, М.Ю. Алгоритм микробиологической диагностики хронической инфекции лёгких у больных муковисцидозом / М.Ю. Чернуха, Л.Р. Аветисян, И.А. Шагинян [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2014. – Т. 16, № 4. – С. 276-290.
56. Чернуха, М.Ю. Персистенция *Burkholderia cenocepacia* у больных муковисцидозом / М.Ю. Чернуха, И.А. Шагинян, Н.И. Капранов [и др.] //

- Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2012. – № 4. – С. 93-98.
57. Фурман, Е.Г. Стоимость терапии пациентов с муковисцидозом в разных возрастных группах с учетом инфекции дыхательного тракта и осложнений / Е.Г. Фурман, В.В. Шадрина, Т.Ю. Максимычева [и др.] // Пульмонология. – 2021. – Т. 31, № 2. – С. 238-249.
58. Шагинян, И.А. Консенсус «Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия» раздел «микробиология и эпидемиология хронической респираторной инфекции при муковисцидозе» / И.А. Шагинян, М.Ю. Чернуха, Н.И. Капранов [и др.] // Педиатр. – 2016. – Т. 7, № 1. – С. 80-96.
59. Шагинян, И.А. Микробный пейзаж нижних дыхательных путей у различных возрастных групп детей, больных муковисцидозом / И.А. Шагинян, Н.И. Капранов, М.Ю. Чернуха [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и инфекционных болезней. – 2009. – № 5. – С. 15-20.
60. Шагинян, И.А. Молекулярные основы фенотипической гетерогенности бактерий *P. aeruginosa*, вызывающих хроническую инфекцию легких у больных муковисцидозом / И.А. Шагинян, Л.Р. Аветисян, М.Ю. Чернуха [и др.] // Молекулярная диагностика 2017 : сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием / колл. авт., под ред. В.И. Покровского. – Москва: Юлист, 2017. – Т. 1. – С. 250-251.
61. Шагинян, И.А. Неферментирующие грамотрицательные бактерии в этиологии внутрибольничных инфекций: клинические, микробиологические и эпидемиологические особенности / И.А. Шагинян, М.Ю. Чернуха // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2005. – Т. 3, № 7. – С. 271-285.
62. Шагинян, И.А. Особенности микрофлоры нижних дыхательных путей у различных возрастных групп детей больных муковисцидозом / И.А. Шагинян, Н.И. Капранов, М.Ю. Чернуха, Г.В. Алексеева // Муковисцидоз в России (20 лет Российскому центру муковисцидоза) /

- Муковисцидоз у детей и взрослых : сборник по материалам X национального конгресса (1-2 июня 2011). – Ярославль, 2011. – С. 64-71.
63. Шерман, В. Д. Влияние неонатального скрининга на течение муковисцидоза на примере группы пациентов Московского региона / В.Д. Шерман, Е.И. Кондратьева, А.Ю. Воронкова [и др.] // Медицинский совет. – 2017. – Т. 18, № 4. – С. 16-18.
64. Шерман, В.Д. Роль неонатального скрининга в оптимизации медицинской помощи больным муковисцидозом в РФ / В.Д. Шерман, Н.И. Капранов, Н.Ю. Каширская [и др.] // Медицинская генетика. – 2013. – Т. 12, № 11(137). – С. 24-28.
65. Щекотова, А.В. Современные методы лабораторной диагностики фиброза печени / М.С. Невзорова, О.А. Ермакова // Вестник науки и образования. – 2018. – Т. 17, № 2. – С. 53.
66. Aanaes, K. Decreased mucosal oxygen tension in the maxillary sinuses in patients with cystic fibrosis / K. Aanaes, L.F. Rickelt, H.K. Johansen [et al.] // J. Cyst. Fibrosis. – 2011. – Vol. 10, № 2. – P. 114-120.
67. Akkerman-Nijland, A.M. Eradication of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis patients with inhalation of dry powder tobramycin / A.M. Akkerman-Nijland, M. Yousofi, B.L. Rottier [et al.] // Ther. Adv. Respir. Dis. – 2020. – Vol. 14. – P. 175.
68. Al Ahmar, R. Culture of Small Colony Variant of *Pseudomonas aeruginosa* and Quantitation of its Alginate / R. Al Ahmar, B.D. Kirby, H.D. Yu // J. Vis. Exp. – 2020. – Vol. 22. – P. 156.
69. Amin, R. Antibiotic treatment for *Stenotrophomonas maltophilia* in people with cystic fibrosis / R. Amin, N. Jahnke, V. Waters // Cochrane Database Syst. Rev. – 2020. – Vol. 3. – P. 146.
70. Bell, S.C. New pharmacological approaches for cystic fibrosis: promises, progress, pitfalls / S.C. Bell, K. De Boeck, M.D. Amaral // Pharmacol. Ther. – 2015. – Vol. 145. – P. 19-34.

71. Bell, S.C. The future of cystic fibrosis care: a global perspective / S.C. Bell, M.A. Mall, H. Gutierrez [et al.] // *Lancet Respir. Med.* – 2020. – Vol. 8, № 1. – P. 65-124.
72. Bosorok, M.R. Acceleration of lung disease in children with cystic fibrosis after *Pseudomonas aeruginosa* acquisition / M.R. Bosorok, L. Zeng, S.E. West [et al.] // *Pediatr. Pulmonol.* – 2001. – Vol. 32, № 4. – P. 277-287.
73. Burgel, P.R. COVID-19 outcomes in people with cystic fibrosis / P.R. Burgel, C. Goss // *Curr. Opin. Pulm. Med.* – 2021. – Vol. 27, № 6. – P. 538-543.
74. Cabrera, R. Resistance mechanisms and molecular epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* strains from patients with bronchiectasis / R. Cabrera, L. Fernández-Barat, N. Vázquez [et al.] // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2022. – Vol. 77, № 6. – P. 1600-1610.
75. Carter, S.C. Pharmacogenetics of cystic fibrosis treatment / S.C. Carter, E.F. McKone // *Pharmacogenomics.* – 2016. – Vol. 17, № 13. – P. 1453-1463.
76. Castellani, C. ECFS best practice guidelines: the 2018 revision / C. Castellani, A.J.A. Duff, S.C. Bell [et al.] // *J. Cyst. Fibres.* – 2018. – Vol. 17, № 2. – P. 153-178.
77. Colombo, C. Impact of COVID-19 on people with cystic fibrosis / C. Colombo, P.R. Burgel, S. Gartner [et al.] // *Lancet Respir Med.* – 2020. – Vol. 8, № 5. – P. e35-e36.
78. Conway, S.P. Antibiotic treatment of multidrug-resistant organisms in cystic fibrosis / S.P. Conway, K.G. Brownlee, M. Denton [et al.] // *Res. Bacterial Isolates. Microb Drug Resist.* – 2017. – Vol. 23, № 1. – P. 51-55.
79. Cullen, L. Bacterial adaptation during chronic respiratory infections / L. Cullen, S. McClean // *Pathogens.* – 2015. – Vol. 4. – P. 66-89.
80. Cuthbert, A. New horizons in the treatment of cystic fibrosis / A. Cuthbert // *Br. J. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 163. – P. 173-183.
81. Cystic fibrosis. Liver and biliary disease in cystic fibrosis. Third edition by M.Hodson, G.Duncan, A.Bush. London: Edward Arnold Publishers, 2007. – P.477.

82. De Boeck, K. Cystic fibrosis in the year 2020: A disease with a new face / K. De Boeck // *Acta Paediatr.* – 2020. – Vol. 109, № 5. – P. 893-899.
83. De Boeck, K. The diagnosis of cystic fibrosis / K. De Boeck, F. Vermeulen, L. Dupont // *Presse Medicale.* – 2017. – Vol. 46, № 6, Pt. 2. – P. e97-e108.
84. Dedekova, K. A novel diagnostic PCR for identification of highly transmissible *Burkholderia cenocepacia* ST32 infection / K. Dedekova, L. Kalferstova, I. Vavrova [et al.] // *J. Cyst. Fibros.* – 2012. – Vol. 11. – P. 85.
85. Devanga Ragupathi, N.K. Accurate identification and epidemiological characterization of *Burkholderia cepacia* complex: an update / N.K. Devanga Ragupathi, B. Veeraraghavan // *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* – 2019. – Vol. 18, № 1. – P. 7.
86. Döring, G. Differential adaptation of microbial pathogens to airways of patients with cystic fibrosis and chronic obstructive pulmonary disease / G. Döring, I.G. Parameswaran, T.F. Murphy // *FEMS Microbiol. Rev.* – 2011. – Vol. 35. – P. 124-146.
87. Döring, G. Distribution and transmission of *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia* in hospital ward / G. Döring, S. Jansen, J. Noll [et al.] // *Pediatr. Pulmon.* – 1996. – Vol. 21. – P. 90-100.
88. Döring, G. Early intervention and prevention of lung disease in cystic fibrosis: a European consensus / G. Döring, N. Hoiby // *J. Cyst. Fibrosis.* – 2004. – Vol. 3. – P. 67-91.
89. Edwards, B.D. Prevalence and Outcomes of *Achromobacter* Species Infections in Adults with Cystic Fibrosis: a North American Cohort Study / B.D. Edwards, J. Greysson-Wong, R. Somayaji [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2017. – Vol. 55, № 7. – P. 2074-2085.
90. European Cystic Fibrosis Society. ECFS patient registry annual data report. – 2020. – URL: [https://www.ecfs.eu/sites/default/files/ECFSPR_Report_2020_v1.0\(07Jun2022\)_website.pdf](https://www.ecfs.eu/sites/default/files/ECFSPR_Report_2020_v1.0(07Jun2022)_website.pdf) (Accessed: December 10, 2022).

91. European Cystic Fibrosis Society. ECFS patient registry. – 2019. – URL: <https://www.ecfs.eu/projects/ecfs-patient-registry/project> (Accessed: December 12, 2022).
92. European Cystic Fibrosis Society. Patient Registry. – 2021. – URL: <https://www.cff.org/medical-professionals/patient-registry> (Accessed: December 10, 2022).
93. Fainardi, V. Sars-CoV-2 infection in patients with cystic fibrosis. An overview / V. Fainardi, F. Longo, A. Chetta [et al.] // *Acta Biomed.* – 2020. – Vol. 91, № 3. – P. 49-75.
94. Fernández-Olmos, A. MALDI-TOF MS improves routine identification of non-fermenting Gram -negative isolates from cystic fibrosis patients / A. Fernández-Olmos, M. García-Castillo, M.I. Morosini [et al.] // *J. Cyst. Fibros.* – 2012. – Vol. 11, № 1. – P. 59-62.
95. Filkins, L.M. Coculture of *Staphylococcus aureus* with *Pseudomonas aeruginosa* drives *S. aureus* towards fermentative metabolism and reduced viability in a cystic fibrosis model / L.M. Filkins, J.A. Graber, D.G. Olson [et al.] // *J. Bacteriol.* – 2015. – Vol. 197. – P. 2252-2264.
96. Fothergill, J.L. Fluctuations in phenotypes and genotypes within populations of *Pseudomonas aeruginosa* in the cystic fibrosis lung during pulmonary exacerbations / J.L. Fothergill, E. Mowat, M.J. Ledson [et al.] // *J. Med. Microbiol.* – 2010. – Vol. 59, Pt. 4. – P. 472-481.
97. Gallati, S. Disease-modifying genes and monogenic disorders: experience in cystic fibrosis / S. Gallati // *Appl. Clin. Genet.* – 2014. – Vol. 7. – P. 133-146.
98. Geller, D.E. Pharmacokinetics and bioavailability of aerosolized tobramycin in cystic fibrosis / D.E. Geller, W.H. Pitlick, P.A. Nardella [et al.] // *Chest.* – 2002. – Vol. 122, № 1. – P. 219-226.
99. Ghazy, R.M. A systematic review and meta-analysis on chloroquine and hydroxychloroquine as monotherapy or combined with azithromycin in COVID-19 treatment / R.M. Ghazy, A. Almaghraby, R. Shaaban [et al.] // *Sci. Rep.* – 2020. – Vol. 10, № 1. – P. 22139.

100. Heijerman, H. Inhaled medication and inhalation devices for lung disease in patients with cystic fibrosis: A European consensus / H. Heijerman, E. Westerman, S. Conway [et al.] // *J. Cyst. Fibros.* – 2009. – Vol. 8, № 5. – P. 295-315.
101. Heirali, A. Assessment of the microbial constituents of the home environment of individuals with Cystic Fibrosis (CF) and their association with lower airways infections / A. Heirali, S. McKeon, S. Purighalla [et al.] // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11. – P. e0148534.
102. Jakobsen, T.H. Complete genome sequence of the cystic fibrosis pathogen *Achromobacter xylosoxidans* NH44784-1996 complies with important pathogenic phenotypes / T.H. Jakobsen, M.A. Hansen, P.Ø. Jensen [et al.] // *PLoS ONE.* – 2013. – Vol. 8. – P. e68484.
103. Kerem, E. Cystic fibrosis: Priorities and progress for future therapies / E. Kerem // *Paediatr. Respir. Rev.* – 2017. – Vol. 24. – P. 14-16.
104. Le Conte, P. Lung distribution and pharmacokinetics of aerosolized tobramycin / P. Le Conte, G. Potel, P. Peltier [et al.] // *Am. Rev. Respir. Dis.* – 1993. – Vol. 147, № 5. – P. 1279-1282.
105. LiPuma, J.J. Burkholderia and emerging pathogens in cystic fibrosis / J.J. LiPuma // *Semin. Respir. Crit. Care Med.* – 2003. – Vol. 24, № 6. – P. 681-692.
106. LiPuma, J.J. The Changing Microbial Epidemiology in Cystic Fibrosis / J.J. LiPuma // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2010. – Vol. 23, № 2. – P. 299-323.
107. Llorca Otero, L. *Achromobacter xylosoxidans* infection in an adult cystic fibrosis unit in Madrid / L. Llorca Otero, R. Girón Moreno, B. Buendía Moreno [et al.] // *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* – 2016. – Vol. 34, № 3. – P. 184-187.
108. Maldonado, R.F. Lipopolysaccharide modification in Gram-negative bacteria during chronic infection / R.F. Maldonado, I. Sá-Correia, M.A. Valvano // *FEMS Microbiol. Rev.* – 2016. – Vol. 40. – P. 480-493.
109. McKone, E.F. Survival estimates in European cystic fibrosis patients and the impact of socioeconomic factors: a retrospective registry cohort study / E.F. McKone, C. Ariti, A. Jackson [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2021. – Vol. 58, № 3. – P. 2002288.

110. McManus, T.E. Cystic fibrosis genotype and bacterial infection: a possible connection / T.E. McManus, D. Beattie, C. Graham [et al] // *Br. J. Biomed Sci.* – 2005. – Vol. 62, № 2. – P. 85-88.
111. Mitcherlich, E. Microbial survival in the environment / E. Mitcherlich, E.H. Marth. – Berlin: Springer, 1984. – P. 802.
112. Mogayzel Jr, P.J. Cystic fibrosis pulmonary guidelines. Chronic medications for maintenance of lung health / P.J. Mogayzel Jr, E.T. Naureckas, K.A. Robinson [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2013. – Vol. 187. – P. 680.
113. Nakano, S.J. Genomic breakthroughs in the diagnosis and treatment of cystic fibrosis / S.J. Nakano, A. Tluczek // *Am. J. Nurs.* – 2014. – Vol. 114, № 6. – P. 36-43.
114. Pang, Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies / Z. Pang, R. Raudonis, B R. Glick [et al.] // *Biotechnol. Adv.* – 2019. – Vol. 37, № 1. – P. 177-192.
115. Papalia, M. Diversity of *Achromobacter* species recovered from patients with cystic fibrosis, in Argentina / M. Papalia, C. Steffanowski, G. Traglia [et al.] // *Rev. Argent. Microbiol.* – 2020. – Vol. 52, № 1. – P. 13-18.
116. Pegues, D.A. Acquisition of *Pseudomonas cepacia* at summer camps for patients with cystic fibrosis. Summer Camp Study Group / D.A. Pegues, L.A. Carson, O.C. Tablan [et al.] // *J. Pediatr.* – 1994. – Vol. 124. – P. 694-702.
117. Rafeeq, M.M. Cystic fibrosis: current therapeutic targets and future approaches / M.M. Rafeeq, H.A.S. Murad // *J. Transl. Med.* – 2017. – Vol. 15, № 1. – P. 84.
118. Ramachandram, D.S. The use of dornase alfa in patients with COVID-19 / D.S. Ramachandram, C.S. Kow, S.S. Hasan // *J. Cyst. Fibros.* – 2023. – Vol. 22, № 3. – P. 580.
119. Recio, R. Effect of respiratory *Achromobacter* spp. infection on pulmonary function in patients with cystic fibrosis / R. Recio, P. Brañas, M.T. Martínez [et al.] // *J. Med. Microbiol.* – 2018. – Vol. 67, № 7. – P. 952-956.
120. Richards, S. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and

- Genomics and the Association for Molecular Pathology / S. Richards, N. Aziz, S. Bale [et al.] // *Genet Med.* – 2015. – Vol. 17, № 5. – P. 405-424.
121. Rogers, G.B. Interpreting infective microbiota: the importance of an ecological perspective / G.B. Rogers, L.R. Hoffman, M.P. Carroll, K.D. Bruce // *Trends Microbiol.* – 2013. – Vol. 21. – P. 271-276.
122. Romling, U. A major *Pseudomonas aeruginosa* clone common to patients and aquatic habitats / U. Romling, J. Wingender, H. Muller [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1994. – Vol. 60. – P. 1734-1738.
123. Roussey, M. Adult care centers for patients with cystic fibrosis: prerequisites and practical organization / M. Roussey, B. Desrues, D. Turck [et al.] // *Rev. Mal. Respir.* – 2000. – Vol. 3. Pt. 2. – P. 733-738.
124. Salvatore, D. An overview of international literature from cystic fibrosis registries. Part 5: Update 2012-2015 on lung disease / D. Salvatore, R. Buzzetti, G. Mastella // *Pediatr. Pulmonol.* – 2016. – Vol. 51, № 11. – P. 1251-1263.
125. Silva, I.N. Mucoid morphotype variation of *Burkholderia multivorans* during chronic cystic fibrosis lung infection is correlated with changes in metabolism, motility, biofilm formation and virulence / I.N. Silva, A.S. Ferreira, J.D. Becker [et al.] // *Microbiology.* – 2011. – Vol. 157, Pt. 11. – P. 3124-3137.
126. Sliker, M.G. Children with cystic fibrosis: who should visit the otolaryngologist? / M.G. Sliker, A.G. Shhilder, C.S. Uiterwaal [et al.] // *Arch. Otolaryngol. Head. Neck. Surg.* – 2002. – Vol. 128, № 11. – P. 1245-1248.
127. Smith, A.L. Safety of aerosol tobramycin administration for 3 months to patients with cystic fibrosis / A.L. Smith, B.W. Ramsey, D.L. Hedges [et al.] // *Pediatr. Pulmonol.* – 1989. – Vol. 7, № 4. – P. 265-271.
128. Smyth, A.R. European Cystic Fibrosis Society Standards of Care: Best Practice guidelines / A.R. Smyth, S.C. Bell, S. Bojcin [et al.] // *J. Cystic Fibrosis.* – 2014. – Vol. 13. – P. S23-S42.
129. Swenson, C.E. *Achromobacter* respiratory infections / C.E. Swenson, R.T. Sadikot // *Ann. Am. Thorac. Soc.* – 2015. – Vol. 12, № 2. – P. 252-258.

130. Tuchman, L.K. Cystic fibrosis and transition to adult medical care / L.K. Tuchman, L.A. Schwartz, G.S. Sawicki, M.T. Britto // *Pediatrics*. – 2010. – Vol. 125, № 3. – P. 566-573. – doi: 10.1542/peds.2009-2791.
131. Tunney, M.M. Detection of anaerobic bacteria in high numbers in sputum from patients with cystic fibrosis / M.M. Tunney, T.R. Field, T.F. Moriarty [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2008. – Vol. 177, № 9. – P. 995-1001.
132. Vongthilath, R. Clinical and microbiological characteristics of cystic fibrosis adults never colonized by pseudomonas aeruginosa: analysis of the french CF registry / R. Vongthilath, B. Richaud Thiriez, C. Dehillotte [et al.] // *PLoS One*. – 2019. – Vol. 14, № 1. – P. e0210201.
133. Waters, V. Cystic fibrosis microbiology: Advances in antimicrobial therapy / V. Waters, A. Smyth // *J. Cyst. Fibros.* – 2015. – Vol. 14, № 5. – P. 551-560.
134. Wendekier, C. Cystic fibrosis: A changing landscape / C. Wendekier, K. Wendekier-Raybuck // *Nursing*. – 2021. – Vol. 51, № 6. – P. 32-38.
135. Zack, J. Perspectives of patients with cystic fibrosis on preventive counseling and transition to adult care / J. Zack, C.P. Jacobs, P.M. Keenan [et al.] // *Pediatr. Pulmonol.* – 2003. – Vol. 36, № 5. – P. 376-383.