

УДК 616-093/-098

DOI: 10.14427/jipai.2019.3.63

## Контаминирующая микрофлора при обследовании на туберкулез: сапрофиты или потенциальные патогены?

А.В. Лямин<sup>1</sup>, Д.Д. Исмагуллин<sup>1</sup>, А.В. Жестков<sup>1</sup>, А.В. Ковалёв<sup>1</sup>, Т.П. Персиянцева<sup>2</sup>,  
Д.Т. Давыдова<sup>2</sup>, В.А. Манасян<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Самарский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Самара

<sup>2</sup> Самарский областной клинический противотуберкулезный диспансер им. Н.В. Постникова, г. Самара

## Contaminating microflora at a tuberculosis test: saprophytes or potential pathogens?

A.V. Lyamin<sup>1</sup>, D.D. Ismatullin<sup>1</sup>, A.V. Zhestkov<sup>1</sup>, A.V. Kovalev<sup>2</sup>, T.P. Persiyantseva<sup>2</sup>, D.T. Davydova<sup>2</sup>,  
V.A. Manasyan<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Samara State Medical University, Samara, Russian Federation

<sup>2</sup> Samara Regional Clinical Tuberculosis Dispensary named N.V. Postnikov, Samara, Russian Federation

### Аннотация

В статье приведены данные по оценке распространенности кислотоустойчивых актиномицет в составе контаминирующей микрофлоры, выделенной из клинического материала при обследовании на туберкулез. В исследование были включены посевы клинического материала, в которых были выявлены признаки контаминации при отсутствии представителей комплекса *Mycobacterium tuberculosis*. Материал был представлен 865 пробами, собранными в период с января 2016 по январь 2019 года. Третьей по численности группой микроорганизмов оказались кислотоустойчивые представители порядка *Actinomycetales*. Наиболее широко она была представлена в контаминирующей микрофлоре, выделенной из мокроты. При этом, если рассчитать долю кислотоустойчивых представителей порядка *Actinomycetales*, имеющих клиническое значение, то она составит 4,6% (50 штаммов) от всех выделенных в исследовании микроорганизмов, а для всех кислотоустойчивых актиномицет вне зависимости от их потенциального клинического значения – 9,3% (102 штамма).

### Ключевые слова

Контаминирующая микрофлора, нетуберкулезные микробактерии, нокардии, городонии

### Summary

The article presents data on the prevalence of acid-resistant actinomycetes in the composition of contaminating microflora isolated from clinical material during examination for tuberculosis. The study included inoculation of clinical material in which signs of contamination were detected in the absence of representatives of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. The material was presented by 865 samples collected from January 2016 to January 2019. The third-largest group of microorganisms was acid-resistant representatives of the *Actinomycetales* order. It was most widely represented in the contaminating microflora isolated from sputum. Moreover, if we calculate the proportion of acid-resistant representatives of the order of *Actinomycetales* of clinical importance, then it will be 4.6% (50 strains) of all microorganisms identified in the study, and for all acid-resistant actinomycetes, regardless of their potential clinical value, 9.3% (102 strains).

### Keywords

Contaminating microflora, non-tuberculous mycobacteria, nocardia, gorodonia

### Введение

Современная микробиология имеет возможности по идентификации различных групп микроорганизмов, которые длительное время

оставались малоизученными. Однако, часть новых методов лабораторных исследований ограничена применением их в научных целях, как например, секвенирование, в тоже время,

другие методы стали активно применяться в рутинной микробиологической практике, самым значимым из которых стал метод MALDI-ToF масс-спектрометрии. Параллельно с новыми методами идентификации микроорганизмов в клинической практике актуальным стоит вопрос об этиологической расшифровке инфекционных осложнений, которые все чаще регистрируются у иммунокомпрометированных пациентов. Новые патогены, имеющие клиническое значение у пациентов отдельных групп риска сегодня – крайне разнообразная группа условно патогенных микроорганизмов, включающая все большее количество видов, ранее описанных в качестве сапрофитов и представителей нормальной микрофлоры тела человека и животных. И если классические бактерии и грибы не вызывают никаких вопросов по выделению и идентификации, то в отношении некоторых из представителей прокариот есть серьезные нерешенные задачи, которые на данный момент, в первую очередь, связаны не с вопросами идентификации, а с трудностями по выделению данных групп микроорганизмов из клинического материала. Одной из наиболее разнообразной и сложной в этом смысле является группа кислотоустойчивых представителей порядка *Actinomycetales*, которая насчитывает значительное количество видов микроорганизмов [1-3]. Часть из них пока не представляет серьезного интереса для клиницистов, но некоторые из кислотоустойчивых актиномицет все больше привлекают внимание специалистов в отечественной и зарубежной медицине в качестве потенциальных патогенов у пациентов с иммуносупрессиями различной этиологии, а также пациентов из других групп риска [4, 5].

Основная сложность при работе с данной группой бактерий заключается в первую очередь в продленном времени инкубации первичных посевов, необходимом для появления видимого роста, что практически не применяется в рутинной микробиологической практике. Однако в медицинской микробиологии имеется значительный раздел, который очень регламентировано проводит культивирование медленно растущих микроорганизмов и посвящен он диагностике туберкулеза и микобактериозов.

Работа лабораторий противотуберкулезной службы направлена в первую очередь на выделение и идентификацию представителей туберкулезного комплекса (МТВс). При этом даже на уровне пробоподготовки имеется ряд особенностей, направленных на выделение кисло-

тоустойчивых микроорганизмов. В частности, значительная часть материала, за исключением собранного в асептических условиях, подвергается процедуре деконтаминации, основной целью которой является подавление роста быстрорастущей сапрофитной, гнилостной и гноеродной микрофлоры. Важным является тот факт, что частота контаминации посевов в лабораториях противотуберкулезной службы является условным критерием качества организации работы лаборатории при показателях контаминированного материала в пределах 2-3%, при этом как снижение, так и увеличение данного показателя является недопустимым и требует пересмотра процедур обработки материала (Приказ Минздрава РФ от 21.03.2003 №109 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации»).

В отечественных и зарубежных источниках приводятся многочисленные методы деконтаминации клинического материала: обработка 10% раствором трехзамещенного фосфорнокислого натрия, обработка материала 3% серной кислотой, обработка материала 4% раствором едкого натра, комбинированный метод с использованием N-ацетил-L-цистеина и гидроокиси натрия (NALC-NaOH), метод с использованием 5% щавелевой кислоты. Каждый из них имеет определенные достоинства и недостатки, но наиболее приемлемый с точки зрения выделения МТВс является метод с NALC-NaOH (Приказ Минздрава РФ от 21.03.2003 №109 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации»).

Контаминирующая микрофлора при выделении МТВс чаще рассматривается как балласт, мешающий основному процессу – диагностике туберкулеза, но с увеличением числа иммунокомпрометированных пациентов, пациентов из групп риска по развитию инфекций, вызванных другими кислотоустойчивыми микроорганизмами, контаминанты могут стать дополнительным источником информации об этой группе прокариот в качестве потенциальных патогенов. Представители родов *Gordonia*, *Nocardia*, *Tsukamurella*, *Rhodococcus*, а также клинически значимые нетуберкулезные микобактерии (НТМ) все чаще описываются в качестве этиологических агентов при развитии патологических состояний различной локализации [6-9]. При этом клиническая картина заболеваний, вызванных данными микроорганизмами особенно при поражении легких имеет определенные сходства с туберкулезным процессом, а во многих бактериологи-

ческих лабораториях не противотуберкулезной службы появились методы, позволяющие точно идентифицировать кислотоустойчивые актиномицеты [10-12].

*Цель исследования* – оценка распространенности кислотоустойчивых актиномицет в составе контаминирующей микрофлоры, выделенной из клинического материала при обследовании на туберкулез.

### Материалы и методы

В исследование были включены посеvy клинического материала, в которых были выявлены признаки контаминации и отсутствовали представители МТВс при проведении лабораторных исследований в соответствии с Приказом Минздрава РФ от 21.03.2003 №109 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации».

Материал был представлен 865 пробами, собранными в период с января 2016 по январь 2019 года. Пробоподготовку, первичный посев на плотные среды (Левенштейна-Йенсена и Финн II), в жидкую питательную среду Миддлбрук 7Н9 и процедуры по подтверждению отсутствия в посевах представителей МТВс проводили на базе бактериологической лаборатории Самарского областного клинического противотуберкулезного диспансера им. Н.В. Постникова.

Доля контаминированного материала при исследовании составляла 2-3%, что соответствует рекомендациям при проведении исследований на МТВс. Вторая часть исследования проводилось на базе Самарского государственного медицинского университета. Из пробирок с контаминирующим ростом все культуры пересевались на плотные питательные среды: 5% кровяной агар (Bio-Rad), универсальную хромогенную среду (Bio-Rad), агар Сабуро (HiMedia). Посевы инкубировались при температуре 37°C в течение 7 суток с последующим культивированием в течение 14 суток при температуре 28°C. Во время инкубации проводился ежедневный просмотр посевов. Все выросшие культуры идентифицировались с помощью MALDI-ToF масс-спектрометра (Microflex LT, Bruker) методом прямого нанесения, методом расширенного прямого нанесения и методом экстракции муравьиной кислотой в соответствии с рекомендациями производителя оборудования. Всего было выделено и идентифицировано 1093 штамма микроорганизмов.

Оценка структуры контаминирующей микрофлоры включала в себя расчет частоты встречаемости рода/вида в отдельных видах клинического

материала и относительного среднего для каждого идентифицированного рода микроорганизмов (доля микроорганизма в исследуемой совокупности представителей родов, в зависимости от клинического материала).

Для оценки силы связи между видом клинического материала и микрофлорой, выделенной из него критерий  $\chi^2$  и степень закономерности события ( $p$ ), используемые при анализе сопряженности таблиц. Связь между признаками статистически расценивали как значимую при уровне значимости  $p < 0,05$ . Статистическую обработку проводили с использованием Microsoft Excel 2013.

### Результаты и их обсуждение

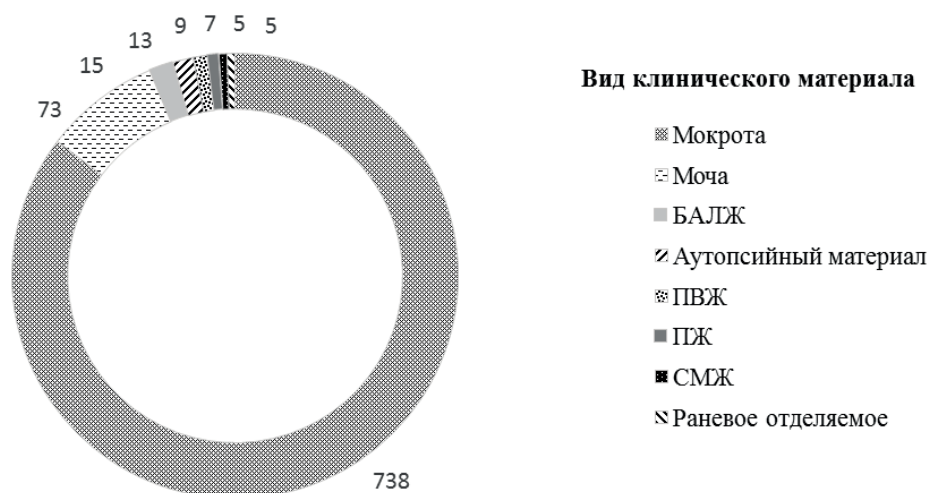
#### Структура контаминирующей микрофлоры в зависимости от клинического материала

Посевы, включенные в исследование, были представлены различным клиническим материалом, который был подвергнут процессу денконтаминации и материалом, собранным в асептических условиях, в посевах которого были выявлены признаки роста не характерного для МТВс (плевральная жидкость, спинномозговая жидкость, раневое отделяемое) (рис. 1).

Контаминирующая микрофлора, выделенная из аутопсийного материала, была представлена преимущественно классическими контаминантами: *Acinetobacter baumannii*, *Candida tropicalis*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter braakii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas lundensis*, *Serratia liquefaciens*, *Staphylococcus aureus* – представленные по одному штамму, *Staphylococcus epidermidis* – 2 штамма, *Enterococcus faecalis* – 3 штамма. Общее число штаммов, выделенных из аутопсийного материала – 17, в 4 случаях была выделена микробная ассоциация, представленная двумя видами микроорганизмов.

Контаминирующая микрофлора, выделенная из промывных вод желудка, была менее разнообразной. В 3 пробах были выделены представители рода *Aspergillus*, в 2 грибы рода *Candida*, в 2 – *Staphylococcus epidermidis*, в одном случае была выделен штамм *Nocardia nova*, и в одном случае не удалось получить рост микроорганизмов в условиях, применяемых в исследовании.

Из плевральной жидкости были выделены 3 штамма энтеробактерий (*E.coli* и *K.pneumoniae*, 2 штамма грибов из рода *Penicillium*, 1 штамм *Pseudomonas monteilii* и один штамм *Mycobacterium*



**Рис. 1. Структура клинического материала**

Примечание: структура клинического материала посева которого содержали признаки роста контаминирующей микрофлоры (БАЛЖ – жидкость, полученная при бронхоальвеолярном лаваже, ПВЖ – промывные воды желудка, ПЖ – плевральная жидкость, СМЖ – спинномозговая жидкость). Количество посевов.

*avium* с атипичными ростовыми свойствами. Рост *M. avium* был выявлен на обеих средах Левенштейна-Йенсена и Финн-П, и характеризовался слизистыми колониями с ярко-желтым пигментом, больше соответствующий классической контаминирующей микрофлоре, в частности схожий рост был выявлен для некоторых штаммов *S. aureus*, в случае их роста на плотных яичных средах.

На средах с посевами ликвора, не смотря на признаки контаминации первичных посевов в 3 случаях не удалось получить рост в условиях исследования. В одном случае был выделен гриб рода *Sporothrix*, в одном – *Pseudomonas aeruginosa*.

В структуре контаминирующей микрофлоры, выделенной из раневого отделяемого, был получен рост монокультур *E. faecalis*, *Enterococcus raffinosus*, *Staphylococcus haemolyticus*, а также одна ассоциация из *Mycobacterium chelonae* и *Micrococcus luteus*. Из одной пробы рост микрофлоры в условиях исследования получить не удалось.

Структура контаминирующей микрофлоры, выделенной из БАЛЖ была представлена в основном в монокультурах, только в одном случае была выделена ассоциация двух микроорганизмов: *S. aureus* и *Ralstonia pickettii*. Среди монокультур были идентифицированы по 1 штамму *A. baumannii*, *Aspergillus versicolor*, *E. coli*, *E. cloacae*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae*, *Moraxella osloensis*, *Mucor spp.*, *Sporotrix spp.* По 2 штамма были выделены

*M. avium* и *P. aeruginosa*. Для обоих штаммов *M. avium* также, как и в предыдущих случаях была с атипичными ростовыми свойствами: ускоренный рост на плотных яичных средах, выраженная пигментация, мукоидный тип колоний. В отличие от других видов описанного выше материала, оба штамма микобактерий были изолированы со среды Левенштейна-Йенсена. Из одного образца с признаками контаминирующего роста не было выделено микроорганизмов при пересеве на среды, применяемые в исследовании.

Безусловно делать какие-либо значимые выводы по результатам, приведенным выше не совсем корректно, в связи с небольшой выборкой. Тем не менее, в плевральной жидкости, жидкости бронхоальвеолярного лаважа, промывных водах желудка и раневом отделяемом были выделены кислотоустойчивые актиномицеты, представленные преимущественно НТМ, рост которых на плотных питательных средах был идентичен признакам, характерным для классической контаминирующей микрофлоры: слизистые колонии, изменение цвета среды, быстрый рост, атипичная пигментация. Выделение единственного штамма *N. nova* из промывных вод желудка можно расценивать как случайную находку.

В связи с тем, что описанный выше клинический материал, при посеве которого были выявлены признаки роста контаминирующей микрофлоры, представлен единичными образцами вышеописанные результаты не были под-

вергнуты сравненно с данными, полученными при анализе посевов мокроты и мочи.

Контаминирующая микрофлора, выделенная при исследовании мочи и мокроты. Особенности сбора мокроты, как клинического материала подразумевают контаминацию сапрофитной микрофлорой со слизистых оболочек верхних дыхательных путей. И если в отношении мочи, можно условно стандартизировать данную процедуру и минимизировать риск контаминации материала, то при сборе мокроты, даже в случае тщательного соблюдения всех правил есть высокая вероятность попадания микроорганизмов-комменсалов в образец. В тоже время следует учитывать, что заболевания бронхолегочной системы микробной этиологии являются одними из наиболее разнообразных по структуре возбудителей и выделение кислотоустойчивых представителей порядка *Actinomycetales* в ряде случаев должно рассматриваться как элемент диагностического поиска. В рутинной микробиологической практике выделение данных микроорганизмов при этом практически невозможно, а в лабораториях противотуберкулезной службы отсутствуют возможности для их идентификации. Особенно с учетом того, что среди кислотоустойчивых актиномицет есть как клинически значимые, так и сапрофитные представители.

Естественным является наличие контаминирующей микрофлоры и в моче. Данный вид клинического материала считается условно стерильным, однако в случае сбора мочи естественным путем неизбежна контаминация ее микрофлорой кожи и слизистых оболочек даже в случае тщательной подготовки пациента. С точки зрения клинической значимости контаминирующей микрофлоры на плотные яичные и в жидкие среды становится мало осуществимой в связи с отсутствием критериев интерпретации.

Структура контаминирующей микрофлоры, выделенной из мокроты представлена значительно большим количеством видов и родов микроорганизмов – 793 штамма. Ассоциации из трех микроорганизмов были выделены в 10 случаях (1,4%), из двух – в 103 (14,0%). Из 59 образцов (8,0%) с признаками контаминации микрофлору выделить не удалось. При анализе структуры контаминирующей микрофлоры в моче было выявлено без роста 7 образцов (9,6%), ассоциации, состоящие из 2 культур, были выявлены в 10 случаях (13,7%), трехкомпонентных ассоциаций выявлено не было. Общее количество культур, выделенных в составе контаминирующей микрофлоры из мочи составило 76 штаммов.

Микроорганизмы, выделенные из мокроты в единичных случаях, были представлены следующими видами: *Achromobacter xylosoxidans*, *Acremonium striptum*, *Actinocorallia libanotica*, *Agromyces mediolanus*, *Bordetella petrii*, *Clostridium interstinale*, *Cohnella fontinalis*, *Erwinia persicina*, *Ewingella americana*, *Filifactor vilosus*, *Fusarium proliferatum*, *Lactococcus lactis*, *Morganella morganii*, *Ohrobactrum anthropi*, *Pediococcus pentosaceus*, *Rhisopus spp.*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Sphingobacterium mizutaii*. Из мочи в качестве единичного представителя был выделен *Pseudochrobactrum asaccharolyticum*.

Преобладающими группами микроорганизмов-контаминантов в мокроте оказались различные виды стафилококков и грибы, количество которых оказалось 232 (29,3%) и 223 (28,1%) штаммов соответственно. При этом грибы статистически достоверно встречались чаще в контаминирующей микрофлоре, выделенной из мокроты, в сравнении с мочой ( $p < 0,001$ ). В моче было выделено всего 20 штаммов стафилококков и 5 штаммов грибов, что составило соответственно 26,3% и 6,6%.

Третьей по численности группой микроорганизмов оказались кислотоустойчивые представители порядка *Actinomycetales*, всего было выделено и идентифицировано 94 штамма (11,9%). Для данной группы микроорганизмов в целом также были получены статистически достоверные различия в сравнении с частотой выделения их из мочи ( $p = 0,037$ ). По отдельным родам статистически достоверных результатов не было получено по причине незначительной выборки микроорганизмов, выделенных из мочи. В целом из мочи было выделено всего 3 штамма кислотоустойчивых актиномицет – 3,9%. Подробная структура кислотоустойчивых актиномицет, выделенных из мокроты и мочи представлена в (табл. 1).

Среди представителей порядка *Enterobacteriales*, выделенных в структуре контаминирующей микрофлоры мокроты преобладали *Klebsiella spp.*, *Escherichia spp.*, *Serratia spp.*, *Enterobacter spp.*, *Proteus spp.* Общее количество штаммов энтеробактерий составило 52 (6,6%). В моче было выделено 14 штаммов энтеробактерий (18,4%), что статистически достоверно больше, чем в мокроте ( $p < 0,001$ ).

Некислотоустойчивые представители порядка *Actinomycetales* были представлены в основном коринебактериями – 19 штаммов (2,4%), а также единичными представителями родов *Arthrobacter* и *Microbacterium* (по 2 штамма). В моче было выделено 11 штаммов (14,5%) коринебактерий

**Таблица 1. Частота выделения и структура кислотоустойчивых представителей порядка Actinomycetales выделенной из мокроты и мочи**

Микроорганизм	Мокрота		Моча		P*
	Абс	%**	Абс	%**	
<i>Gordonia spp.</i>	5	5,3	0	0,0	p>0,05
<i>Mycobacterium spp.</i>	32	34,0	0	0,0	0,071
<i>Brevibacterium spp.</i>	5	5,3	2	66,7	p>0,05
<i>Nocardia spp.</i>	9	9,6	0	0,0	p>0,05
<i>Cellulosimicrobium spp.</i>	2	2,1	1	33,3	p>0,05
<i>Rhodococcus spp.</i>	2	2,1	0	0,0	p>0,05
<i>Streptomyces spp.</i>	36	38,3	0	0,0	p>0,05
<i>Tsukamurella spp.</i>	3	3,3	0	0,0	p>0,05
Итого:	94	100,0	3	100,0	0,037

Примечание:

\* Связь между признаками статистически значима при уровне  $p < 0,05$  при расчете связи между видом клинического материала и микрофлорой, выделенной из него по отношению к общему количеству штаммов, выделенных из мокроты и мочи.

\*\* Доля от общего числа выделенных кислотоустойчивых актиномицет из соответствующего вида материала.

и 2 штамма (2,6%) микробактерий. Данные различия в составе контаминирующей микрофлоры по распространенности представителей рода *Corynebacterium* были также достоверны ( $p < 0,001$ ).

Схожий результат был получен в отношении распространенности энтерококков в контаминирующей микрофлоре мочи и мокроты. В мокроте было выделено 36 штаммов (4,5%), в моче – 9 штаммов (11,8%). Степень закономерности такого распределения статистически достоверна и составила  $p = 0,007$ .

Различия в других группах микроорганизмов, выделенных из мокроты и мочи оказались статистически незначимыми. Из мокроты и мочи были выделены бациллы – 28 штаммов (3,5%) и 4 штамма (5,2%), а также лактобациллы – 28 штаммов (3,5%) и 1 штамм (1,3%) соответственно. Представители остальных родов были выделены только из мокроты: *Paenibacillus spp.* – 9 штаммов (1,1%), *Streptococcus spp.* – 7 штаммов (0,9%), *Lysinibacillus spp.* и *Micrococcus spp.* – по 3 штамма (0,4%), *Methylobacterium spp.* – 2 штамма (0,3%).

#### Кислотоустойчивые актиномицеты в структуре контаминирующей микрофлоры

Анализируя полученные данные по всем видам клинического материала в целом, на наш взгляд, наибольший интерес из выделенных групп микроорганизмов представляют кислотоустойчивые актиномицеты, т.к. среди них есть виды с доказанным клиническим значением для человека, а клиническая картина процессов, которые они вызывают характеризуется хроническим течением и определенным сходством с

туберкулезным процессом. В частности, к ним можно отнести представителей рода *Gordonia*, среди которого в исследовании были выделены представители одного вида *G. sputi*; *Nocardia* – *N. brevicatena*, *N. carnea*, *N. cyriacigeorgica*, *N. farcinica*, *N. nova*; род *Rhodococcus* был представлен одним видом *R. equi*; также, как и род *Tsukamurella* – *T. paurometabola*.

Отдельно следует выделить нетуберкулезные микобактерии, среди которых есть отдельное разделение на группы видов по клинической значимости. В нашем исследовании было выделено 36 штаммов НТМ. У всех были отмечены культуральные свойства, характерные для классической контаминирующей микрофлоры. Структура НТМ представлена на (рис. 2).

Из выделенных НТМ доказанное клиническое значение имеют *M. avium*, *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. senegalense*, *M. porcinum*, *M. abscessus*, *M. selatum*, *M. malmoensae*, *M. marseillense*; в качестве этиологического агента описана в единичных случаях *M. septicum*; не имеющими клинического значения являются *M. chitae* и *M. gordonae* [5, 13].

Часть выделенных представителей группы кислотоустойчивых актиномицет являются комменсалами кожи и слизистых оболочек человека, а также сапрофитами окружающей среды. К ним можно отнести в частности *Brevibacterium spp.* (*Brevibacterium borstelensis*, *Brevibacterium casei*), *Cellulosimicrobium spp.* (*Cellulosimicrobium cellulans*) [14, 15].

В отношении представителей рода *Streptomyces* в литературе нет данных о их клиническом значении для человека. В нашем исследовании были выделены *S. phaeochromogenes*, *S. albus*, *S. avidinii*,



**Рис. 2. Структура нетуберкулезных микобактерий, выделенных при анализе контаминирующей микрофлоры (абсолютные значения)**

*S. badius*, *S. chartreusis*, *S. violaceoruber*. Для 5 штаммов не удалось провести видовую идентификацию. Наряду с НТМ данная группа микроорганизмов была доминирующей среди кислотоустойчивых актиномицет и безусловно требует более тщательного изучения.

### Заключение

Контаминирующая микрофлора при исследовании клинического материала представляет собой разнородную группу микроорганизмов. Среди выделенных в исследовании бактерий и грибов значительную группу составляют сапрофитные представители слизистых и кожных покровов, а также микроорганизмы естественные обитатели окружающей среды.

Целью нашей работы не было доказать клиническое значение определенного микроорганизма у конкретного пациента. Для этого необходимы результаты нескольких посевов, информация об анамнезе заболевания, результаты инструментальных и лабораторных исследований. Тем не менее, на наш взгляд, анализ выделенной контаминирующей микрофлоры и ее структуры дает четкую картину возможности выделения клинически значимых (с высоким уровнем доказательности) микроорганизмов из группы кислотоустойчивых актиномицет из клинического материала при обследовании на туберкулез при отрицательных результатах по выделению МТВс. Наиболее широко она была представлена

в контаминирующей микрофлоре, выделенной из мокроты. При этом, если рассчитать долю кислотоустойчивых представителей порядка *Actinomycetales* имеющих клиническое значение, то она составит 4,6% (50 штаммов) от всех выделенных в исследовании микроорганизмов, а для всех кислотоустойчивых актиномицет вне зависимости от их потенциального клинического значения – 9,3% (102 штамма).

С учетом того, что в научной литературе на данный период наблюдения за пациентами, у которых патологический процесс вызван бактериями из родов *Gordonia*, *Nocardia*, *Tsukamurella*, *Rhodococcus* представлен, как правило, единичными случаями, полученные в нашем исследовании данные являются важными с точки зрения организации работы по выделению кислотоустойчивых актиномицет из клинического материала, что безусловно позволит значительно повысить качество диагностики инфекционных осложнений, связанных с ними [6-9, 16].

Рост числа иммунокомпрометированных пациентов неизбежно вносит свои правила не только в работу врачей клинических специальностей. Врачи лабораторной службы, безусловно, должны принимать во внимание изменения в структуре превалирующих возбудителей инфекционных процессов у данной когорты пациентов. Точная диагностика инфекций, вызванных редкими и атипичными условно патогенными микроорганизмами невозможна

при использовании классических подходов по выделению и идентификации патогенов. В складывающихся условиях необходимо разрабатывать и внедрять в рутинную практику новые или оптимизировать уже известные методы посева и культивирования клинического материала с целью выделения потенциальных патогенов не только среди иммунокомпрометированных

пациентов, но и среди здорового населения. Благодаря накоплению данных о их распространенности в популяции можно разрабатывать критерии по оценки их клинического значения, алгоритмы диагностики и терапии, а также профилактики перекрестного инфицирования, случаи которого все чаще стали описываться в научной литературе.

## Литература

1. Barka EA, Vatsa P, Sanchez L., et al. Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2015; 80(1): 1-43. doi: 10.1128/MMBR.00019-15.
2. Gao B., Gupta R. Phylogenetic framework and molecular signatures for the main clades of the phylum Actinobacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2012; 76(11): 66-112. doi: 10.1128/MMBR.05011-11
3. Conville P.S., Brown-Elliott B.A., Smith T. The complexities of nocardia taxonomy and identification. *J. Clin. Microbiol.* 2017; 56(1): 1417-1419. doi: 10.1128/JCM.01419-17
4. Griffith D.E., Aksamit T., Brown-Eliot B.A. An official ATS IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2007; 175(4): 367-416
5. Daley C.L., Griffith D.E. Pulmonary non-tuberculous mycobacterial infections. *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.* 2010; 14(6): 665-671. doi: 10.4046/trd.2014.77.1.1
6. Shaer A., Gadegbeku C. Tsukamurella peritonitis associated with continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Clin Nephrol.* 2001;56:241-246
7. Vazquez-Boland J.A. Rhodococcus equi: the many facets of a pathogenic actinomycete. *Vet Microbiol.* 2013; 167(1-2): 9-33. doi: 10.1016/j.vetmic.2013.06.016
8. Fleteau C., Jurado V., Lemaître N. First Case of Cerebral Abscess Due to a Novel Nocardia Species in an Immunocompromised Patient. *J Clin Microbiol.* 2013; 51(2): 696-700. doi: 10.1128/JCM.00762-12
9. Kandi V. Human Nocardia Infections: A Review of Pulmonary Nocardiosis. *Cureus.* 2015; 7(8): e304. doi: 10.7759/cureus.304.
10. Hall L., Doerr K.A., Wohlfiel S.L., et al. Evaluation of the MicroSeq system for identification of mycobacteria by 16S ribosomal DNA sequencing and its integration into a routine clinical mycobacteriology laboratory. *J Clin Microbiol.* 2003; 41(4): 1447-1453. doi: 10.1128/jcm.41.4.1447-1453.2003.
11. Lee A.S., Jelfs P., Sintchenko V., et al. Identification of non-tuberculous mycobacteria: utility of the GenoType Mycobacterium CM/AS assay compared with HPLC and 16S rRNA gene sequencing. *J. Med Microbiol.* 2009; 58(7): 900-904. doi: 10.1099/jmm.0.007484-0
12. Huitt G.A., Daley C.L. Nontuberculous mycobacteria. *Clin Chest Med* 2015;36(1):11-2
13. Tortoli E., Rindi L., Garcia M.J., et al. Proposal to elevate the genetic variant MAC-A, included in the Mycobacterium avium complex, to species rank as Mycobacterium chimaera sp. nov. *Int J Syst Evol Micr.* 2004; 54(4): 1277-1285.
14. Petkar H., Li A., Bunce N., et al. Cellulosimicrobium funkei: first report of infection in a nonimmunocompromised patient and useful phenotypic tests for differentiation from Cellulosimicrobium cellulans and Cellulosimicrobium terreum. *J Clin Microbiol.* 2011; 49(3): 1175-1178. doi: 10.1128/JCM.01103-10.
15. Pitcher D.G., Malnick H. Identification of Brevibacterium from clinical sources. *J Clin Pathol.* 1984; 37(12): 1395-8. doi: 10.1136/jcp.37.12.1395.
16. Arenskötter M., Bröker D., Steinbüchel A. Biology of the metabolically diverse genus Gordonia. *Appl Environ Microbiol.* 2004; 70(6):3195-204. doi: 10.1128/AEM.70.6.3195-3204.2004.

## Сведения об авторах:

Лямин А.В., к.м.н., доцент кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Адрес: 443079, г. Самара, ул. Гагарина, 18. Тел.: 8 (846) 260-33-61. E-mail: avlyamin@rambler.ru  
Исмагуллин Д.Д., ассистент кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Адрес: 443079, г. Самара, ул. Гагарина, 18. Тел.: 8 (846) 260-33-61. E-mail: danirhalitov@mail.ru  
Жестков А.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Адрес: 443079, г. Самара, ул. Гагарина, 18. Тел.: 8(846) 260-33-61. E-mail: avzhestkov2015@yandex.ru  
Ковалев А.М., к.б.н., биолог бактериологической лаборатории ГБУЗ СОКПТД им. Н.В. Постникова. Адрес: 443068, г. Самара, ул. Ново-Садовая 154. Тел.: 8 (902) 153-44-54. E-mail: alexferreiro@yandex.ru  
Персиянцев Т.П., врач-бактериолог высшей категории, заведующая бактериологической лаборатории ГБУЗ СОКПТД им. Н.В. Постникова. Адрес: 443068, г. Самара, ул. Ново-Садовая 154. Тел.: 8 (917) 819-21-46. E-mail: trp777@yandex.ru  
Давыдова Д.Т., биолог бактериологической лаборатории ГБУЗ СОКПТД им. Н.В. Постникова. Адрес: 443068, г. Самара, ул. Ново-Садовая 154. Тел.: 8 (927) 704-43-28. E-mail: dinarinakaaaa@gmail.com  
Манасян В.А., студентка 6 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Адрес: 443099, г. Самара, ул. Чапаевская, 89. Тел.: 8(927) 694-12-86 E-mail: leramanasian96@mail.ru

Статья участвует в конкурсе публикаций 2019 г. в категории "Инфектология". Страница голосования: <https://vk.com/immunopathology>