

**Национальная ассоциация специалистов по контролю инфекций, связанных
с оказанием медицинской помощи (НП «НАСКИ»)**

**ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И ПРОФИЛАКТИКА
СИНЕГНОЙНОЙ ИНФЕКЦИИ**

Федеральные клинические рекомендации

Ноябрь, 2014

Эпидемиология и профилактика синегнойной инфекции. Федеральные клинические рекомендации. – М., 2014. – 82 с.

Авторы:

Егорова О.Н. - к. м.н., зав. лабораторией МБУЗ " Городская клиническая больница N3 им. М. А. Подгорбунского", г. Кемерово;

Брусина Е.Б. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой эпидемиологии ГБОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Григорьев Е.В. - д. м. н., профессор, заместитель директора по научной и лечебной работе ФГБНУ НИИ комплексных проблем сердечно - сосудистых заболеваний, заведующий курсом анестезиологии и реаниматологии ГБОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия " Министерства здравоохранения Российской Федерации

Экспертный совет: Брико Н.И. – академик РАН, д.м.н., проф., зав.кафедрой эпидемиологии и доказательной медицины ГБОУ ВПО ПМГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, главный внештатный специалист эпидемиолог Минздрава России, председатель НП «НАСКИ» (Москва); Зуева Л.П. – д.м.н., проф., зав.кафедрой ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России (Санкт-Петербург); Ковалишена О.В. - д.м.н., проф. кафедры эпидемиологии ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России, исполнительный директор НП «НАСКИ» (Нижний Новгород); Стасенко В.Л. - д.м.н., проф., зав.кафедрой эпидемиологии ГБОУ ВПО ОГМА Минздрава России, главный внештатный специалист эпидемиолог Минздрава Омской области (Омск); Фельдблюм И.В. – д.м.н., проф., зав.кафедрой эпидемиологии с курсом гигиены и эпидемиологии ФПК и ППС ГБОУ ВПО ПГМА им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России (Пермь); Шкарин В.В. – член-корр. РАН, д.м.н., проф., президент и зав.кафедрой эпидемиологии ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России (Нижний Новгород).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Согласованы Профильной комиссией Министерства здравоохранения Российской Федерации по эпидемиологии 20 ноября 2014 г., протокол №4.

Утверждены на общем собрании членов Национальной ассоциации специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (НП «НАСКИ»), 19 ноября 2014 г., протокол №6, в период проведения Всероссийской научно-практической конференции специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, с международным участием, г. Москва, 19-21 ноября 2014 года.

Клинические (методические) рекомендации посвящены современным методам профилактики синегнойной инфекции - одной из наиболее частых этиологических форм внутрибольничных инфекций. С современных позиций рассматриваются микробиологические, экологические аспекты, диагностика, патогенез, эпидемиология, клинические формы, превентивные меры. Предназначены для медицинских работников медицинских организаций.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ. МЕТОДОЛОГИЯ.....	4
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОНЯТИЙ.....	9
ТАКСОНОМИЯ.....	9
ИСТОРИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ.....	10
КЛАССИФИКАЦИЯ.....	11
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА	13
КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА	14
БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА	15
ПИОЦИНЫ.....	16
ПИГМЕНТООБРАЗОВАНИЕ	16
АНТИГЕННЫЕ СВОЙСТВА	18
ТОКСИНООБРАЗОВАНИЕ	19
СТРУКТУРА ГЕНОМА	22
КОЛОНИЗАЦИЯ.....	23
ИНВАЗИЯ.....	27
ЭКОЛОГИЯ	29
ПАТОГЕНЕЗ.....	36
ЭПИДЕМИОЛОГИЯ.....	40
ФАКТОРЫ РИСКА.....	44
КЛИНИЧЕСКИЕ ФОРМЫ	48
ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА.....	50
МЕТОДЫ ТИПИРОВАНИЯ	56

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ	58
ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ	66
ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ.....	79
ЛИТЕРАТУРА.....	79

ВВЕДЕНИЕ. МЕТОДОЛОГИЯ

Методы, использованные для сбора/селекции доказательств:

поиск в электронных базах данных

Описание методов, использованных для сбора/селекции доказательств:

доказательной базой для рекомендаций являются публикации, вошедшие в Кокрайновскую библиотеку, базы данных EMBASE и MEDLINE. Глубина поиска составляла 5 лет.

Методы, использованные для оценки качества и силы доказательств:

- Консенсус экспертов;
- Оценка значимости в соответствии с рейтинговой схемой (схема прилагается).

Рейтинговая схема для оценки силы рекомендаций (Таблица 1):

Уровни доказательств	Описание
1++	Мета-анализы высокого качества, систематически обзоры рандомизированных контролируемых исследования (РКИ), или РКИ с очень низким риском систематических ошибок
1+	Качественно проведенные мета-анализы, систематические, или РКИ с низким риском систематических ошибок
1-	Мета-анализы, систематические, или РКИ с высоким риском систематических ошибок
2++	Высококачественные систематические обзоры исследований случай-контроль или когортных исследований. Высококачественные обзоры исследований случай-контроль или когортных исследований с очень низким риском эффектов смешивания или систематических ошибок и средней вероятностью причинной взаимосвязи
2+	Хорошо проведенные исследования случай-контроль или когортные исследования со средним риском эффектов смешивания или систематических ошибок и средней вероятностью причинной взаимосвязи
2-	Исследования случай-контроль или когортные исследования с высоким риском эффектов смешивания или систематических ошибок и средней вероятностью причинной взаимосвязи
3	Не аналитические исследования (например: описание случаев, серий случаев)
4	Мнение экспертов

Методы, использованные для анализа доказательств:

- Обзоры опубликованных мета-анализов;
- Систематические обзоры с таблицами доказательств.

Описание методов, использованных для анализа доказательств:

При отборе публикаций, как потенциальных источников доказательств, использованная в каждом исследовании методология изучалась для того, чтобы убедиться в ее валидности. Результат изучения влиял на уровень доказательств, присваиваемый публикации, что в свою очередь влияло на силу вытекающих из нее рекомендаций.

Методологическое изучение базировалось на нескольких ключевых вопросах, которые сфокусированы на тех особенностях дизайна исследования, которые оказывают существенное

влияние на валидность результатов и выводов. Эти ключевые вопросы варьировали в зависимости от типов исследований и применяемых вопросников, используемых для стандартизации процесса оценки публикаций. Была использована методология NICE (National Institute for Health and Care Excellence).

Для исключения влияния на процесс оценки субъективного фактора каждое исследование оценивалось независимо по меньшей мере двумя независимыми членами рабочей группы. Какие-либо различия в оценках обсуждались группой в полной составе. Достижения консенсуса привлекался независимый эксперт.

Методы, использованные для формулирования рекомендаций:
консенсус экспертов.

Рейтинговая схема для оценки силы рекомендаций (таблица 2):

Сила	Описание
А	По меньшей мере один мета-анализ, систематический обзор, или РКИ, оцененные, как 1++, напрямую применимые к целевой популяции и демонстрирующие устойчивость результатов или группа доказательств, включающая результаты исследований, оцененные как 1+, напрямую применимые к целевой популяции и демонстрирующие общую устойчивость результатов
В	Группа доказательств, включающая результаты исследований, оцененные как 2++, напрямую применимые к целевой популяции и демонстрирующие общую устойчивость результатов или экстраполированные доказательства из исследований, оцененных как 1++ или 1+
С	Группа доказательств, включающая результаты исследований, оцененные, как 2+, напрямую применимые к целевой популяции и демонстрирующие общую устойчивость результатов; или экстраполированные доказательства из исследований. Оцененных как 2++
Д	Доказательства уровня 3 или 4; или экстраполированные доказательства из исследований, оцененных как 2+

Индикаторы доброкачественной практики (Good Practice Points – GPP):

Рекомендуемая доброкачественная практики базируется на практическом опыте членов рабочей группы по разработке рекомендаций.

Экономический анализ:

Анализ стоимости не проводился и публикация по фармакоэкономике не анализировались.

Метод валидации рекомендаций:

- Внешняя экспертная оценка;
- Внутренняя экспертная оценка.

Описание метода валидации рекомендаций:

Настоящие рекомендации в предварительной версии были рецензированы независимыми экспертами, которых попросили прокомментировать прежде всего то, насколько интерпретация доказательств доступна для понимания и порядок действий выполним в практике.

Получены комментарии со стороны врачей и среднего медицинского персонала

родильных домов в отношении доходчивости изложения рекомендаций и их оценки важности рекомендаций, как рабочего инструмента повседневной практики.

Комментарии, полученные от экспертов, тщательно систематизировались и обсуждались членами рабочей группы.

Консультации и экспертная оценка:

Настоящие рекомендации были представлены экспертам НАСКИ (Национальной ассоциации специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи), обсуждены и рекомендованы Профильной комиссией по эпидемиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации 20 ноября 2014г.

Рабочая группа:

Для окончательной редакции и контроля качества рекомендации были повторно проанализированы членами рабочей группы, которые пришли к заключению, что все замечания и комментарии экспертов приняты во внимание, риск систематических ошибок при разработке рекомендаций сведен к минимуму, рекомендации не противоречат действующему санитарному законодательству.

Основные рекомендации:

Сила рекомендаций (A-D) приводятся в таблице 3 и частично при изложении текста рекомендаций.

Сила рекомендаций (Таблица 3)

Тип рекомендаций	Сила доказательности
Хирургическая обработка рук	A
Гигиеническая обработка рук	B
Асептическая техника	A
Бесконтактная техника манипуляций	A
Защита персонала фартуками, очками	C
Использование спиртсодержащих антисептиков для обработки рук и кожи	GPP
Стандартные меры предосторожности при контакте	B
Стандартные меры предосторожности для исключения передачи возбудителя через воздух	B
Использование барьерных методов для исключения передачи возбудителя при контакте	GPP

GPP - Good Practice Points

Стратегической задачей здравоохранения во всем мире является обеспечение качества медицинской помощи и создание безопасной больничной среды. Внутрибольничные инфекции являются важнейшей составляющей этой

проблемы в силу глобального характера распространения, негативных последствий для здоровья пациентов и экономики государства. О международном масштабе проблемы свидетельствует создание Всемирного альянса за безопасность пациентов под эгидой Всемирной организации здравоохранения в 2004 году для координации усилий специалистов разных стран.

По различным оценкам внутрибольничные инфекции поражают 5-10% пациентов стационаров и занимают десятое место в ряду причин смертности населения. Внутрибольничные инфекции являются второй по частоте причиной всех неблагоприятных последствий госпитализации и четвертой (после болезней сердечно-сосудистой системы, злокачественных опухолей и инсультов) причиной летальности.

В России ежегодно от внутрибольничных инфекций страдают 2-2,5 млн. человек. Удельный вес хирургических больных в общей структуре внутрибольничных инфекций достигает 85%. На их долю приходится половина всех встречающихся осложнений хирургических вмешательств. Четвертая часть всех случаев внутрибольничного инфицирования происходит в отделениях реанимации и интенсивной терапии.

Пациенты с внутрибольничными инфекциями находятся в больнице в 2,5 раза дольше, чем аналогичные пациенты без признаков инфекции. В среднем на 10 дней задерживается их выписка из стационара. Риск летального исхода у этих пациентов в 7 раз выше по сравнению с подобными по возрасту, полу, основной и сопутствующей патологии и тяжести больными.

Несмотря на то, что стоимость лечения варьирует в разных лечебных учреждениях и существенно отличается в многолетней динамике, в среднем она в 3 раза выше, чем у неинфицированных пациентов. Несомненно, внутрибольничные инфекции существенно снижают качество жизни пациента и вызывают развитие стрессорных реакций. Помимо этого, эти инфекции приводят к

потере репутации лечебного учреждения, что трудно оценить в финансовом выражении.

Одним из наиболее частых возбудителей внутрибольничных инфекций является *Pseudomonas aeruginosa*. Этим микроорганизмом обусловлено 16% случаев внутрибольничных пневмоний, 12% внутрибольничных инфекций мочевыводящих путей, 8% инфекций хирургических ран, 10% случаев инфекций кровотока. Сложность терапии и высокая летальность определяют актуальность внедрения в практику стационаров различного профиля эффективных системных мер профилактики.

Определение понятий

Синегнойная инфекция – инфекция, этиологической причиной которой являются грамотрицательные неферментирующие бактерии *Pseudomonas aeruginosa*.

Синонимы: бассейновое ухо; Шанхайская лихорадка; синдром тропической стопы; синдром зеленого ногтя; зеленая стопа; *Pseudomonas* синдром горячей стопы.

Таксономия

Латинское название: *Pseudomonas aeruginosa* (Schröter, 1872; Migula, 1900).

Царство: Бактерии

Тип: Протеобактерии

Класс: Gamma Proteobacteria

Порядок: Pseudomonadales

Семейство: Pseudomonadaceae

Род: *Pseudomonas*

Вид: *Pseudomonas aeruginosa*

Синонимы (имеют только историческое значение): *Bacterium aeruginosum* (Schröter, 1872); *Bacterium aeruginosum* (Cohn, 1872); *Micrococcus pyocyaneus* (Zopf 1884); *Bacillus aeruginosus* (Schröter, 1872; Trevisan, 1885); *Bacillus pyocyaneus* (Zopf, 1884; Flügge 1886); *Pseudomonas pyocyanea* (Zopf, 1884; Migula, 1895); *Bacterium pyocyaneum* (Zopf, 1884; Lehmann and Neumann, 1896); *Pseudomonas polycolor* (Clara, 1930); *Pseudomonas vendrelli*; 1938.

Слово «*Pseudomonas*» означает «ложная единица» от греческого «*pseudo*» («*ψευδο*») – ложь и «*monas*» («*μονος*») – единица. Слово «*mon*» использовалось раньше в микробиологии как возбудители (Царство «*Monera*»).

Видовое название «*aeruginosa*» - латинское слово, означающее «медная коррозия», похожая на окислившуюся медную патину. Возможно, это слово произошло от греческого префикса «*ae-*», означающего «старый» и суффикса «*ruginosa*» (сморщенный). Префикс «*pyo*» означает «гной», а «*cyanin*» - «голубой», «*verdin*» - «зеленый».

Исторические аспекты

Еще в 1894 г. Williams и Cameron наблюдали заболевания детей псевдомонадной диареей. Taylor упоминает о вспышке диареи, связанной с питьевой водопроводной водой и вызванной *Pseudomonas aeruginosa* в Нью-Йорке в 1898 г., и о массовых заболеваниях диареей среди обитателей нескольких коттеджей, пользовавшихся водой из колодца, в котором, как и у заболевших, была обнаружена *Pseudomonas aeruginosa*. В 1903г. Thresh описал эпидемию диареи, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*, фактором передачи которой был резервуар с питьевой водой, куда с ливневыми водами попали скопления органических удобрений.

Феномен окрашивания отделяемого и гноя ран в зеленый или синезеленый цвет был известен еще в начале прошлого века. В 1862 г. Luke в выделениях таких ран наблюдал кокковидные и палочковидные формы, назвав их "Vibrio". В чистой

культуре впервые получена в 1862г. С. Gessard. В 1872 г. Schröter и Cohn назвали этот микроорганизм *Bacterium aeruginosa*. В 1894 г. Migula описал новый род *Pseudomonas* и в 1895 году предложил включить в этот род *Bacterium aeruginosa*, что было официально утверждено Номенклатурным комитетом Международного общества микробиологов в 1952г.

Десятью годами позже возникло другое номенклатурное направление: в 1884 г. Zopf предложил назвать микроорганизм, обнаруживаемый в ранах, *Bacillus pyocyaneus*, а Flugge в 1895 г.- *Bacterium pyocyaneum*, и, хотя Migula в 1895 г. установил его тождество с *Pseudomonas aeruginosa*, термины *Bacillus pyocyaneus*, *Bacterium pyocyaneum* привились во французской, немецкой, американской литературе конца 19-го начала 20-го столетия. В 1965 г. Veron даже предложил восстановить название *Pseudomonas pyocyanea*, однако в 1967 г. было подтверждено как единственно правильное название *Pseudomonas aeruginosa* и указано, что термин "*pyocyanea*" должен быть включен в список "исключенных специфических эпитетов".

Классификация

Классификация семейства *Pseudomonadaceae* в последние годы претерпела значительные изменения. Современная и предшествующая классификация представителей семейства *Pseudomonadaceae* в сокращенном варианте представлены в таблице 1.

В составе семейства *Pseudomonadaceae* по рРНК гомологии выделяют 5 групп. *Pseudomonas aeruginosa* относится к роду *Pseudomonas* (I группа рРНК гомологии) и входит в подгруппу *Fluorescent*, наряду с *Pseudomonas fluorescens* и *Pseudomonas putida*. Ранее к роду *Pseudomonas* относили и других представителей семейства *Pseudomonadaceae*, однако в настоящее время они выделены в самостоятельные роды.

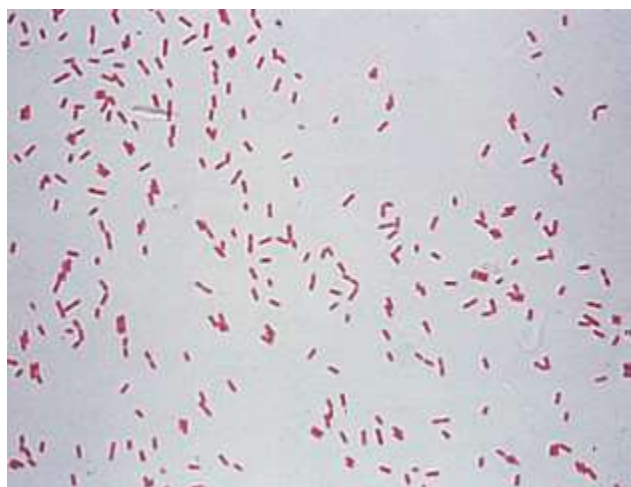
Таблица 1- Классификация семейства *Pseudomonadaceae*

Современная классификация (по гомологии рРНК [14, 18])	Предшествующая классификация
Род <i>Pseudomonas</i> (I группа)	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
<i>Pseudomonas mendocina</i>	<i>Pseudomonas mendocina</i>
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>
<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i> и др.	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i> и др.
Род <i>Burkholderia</i> (II группа)	
<i>Burkholderia mallei</i>	<i>Pseudomonas mallei</i>
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>
<i>Burkholderia cepacia</i> и др.	<i>Pseudomonas cepacia</i> и др.
Род <i>Comamonas</i> (III группа)	
<i>Comamonas acidovorans</i>	<i>Pseudomonas acidovorans</i>
<i>Comamonas terrigena</i> и др.	<i>Pseudomonas terrigena</i> и др.
Род <i>Brevundimonas</i> (IV группа)	
<i>Brevundimonas diminuta</i>	Нет
<i>Brevundimonas vesicularis</i>	
Род <i>Stenotrophomonas</i> (V группа)	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Pseudomonas maltophilia</i>
Роды с неясной рРНК гомологией	
<i>Chryseomonas luteola</i>	<i>Pseudomonas luteola</i>
<i>Flavimonas oryzohabitans</i>	<i>Pseudomonas oryzohabitans</i>
<i>Shewanella putrefaciens</i>	<i>Pseudomonas putrefaciens</i>
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	<i>Pseudomonas paucimobilis</i>

Необходимость для клинициста в корректной идентификации *Pseudomonas*

aeruginosa и родственных микроорганизмов обусловлена, в первую очередь, различиями в их природной чувствительности (устойчивости) к антибиотикам. Так, *Stenotrophomonas maltophilia* обладает природной устойчивостью к карбапенемам, а *Burkholderia cepacia* - к аминогликозидам, при этом антибиотики обеих групп высокоактивны в отношении *Pseudomonas aeruginosa*. Вполне очевидно, что идентификация возбудителя инфекции до уровня вида может принципиально изменить характер эмпирической терапии. Практическая необходимость видовой идентификации отдельных представителей семейства *Pseudomonadaceae* также обусловлена задачами эпидемиологической диагностики внутрибольничных инфекций.

Морфологические свойства



Микроорганизмы *Pseudomonas aeruginosa* – это грамотрицательные, прямые палочки размером 1-3 мкм, не образующие спор. В мазках чистых культур палочки расположены одиночно, попарно или в виде коротких цепочек. В мазках из патологического материала их чаще можно обнаружить

в цитоплазме фагоцитов, при этом палочки могут быть деформированы, в клиническом материале полиморфизм отсутствует, а каких либо включений не наблюдают.

В нативных препаратах бактерии подвижны за счет наличия одного, редко двух полярно расположенных жгутиков. Поверхность бактерий покрыта микроворсинками. При определенных условиях могут продуцировать капсулоподобную внеклеточную слизь полисахаридной природы, покрывающую тонким слоем микробную клетку, более вирулентные штаммы синтезируют повышенное его количество, это так называемые мукоидные штаммы, секретируют это вещество более интенсивно, что дает основание рассматривать слизь как фактор патогенности.



Культуральные свойства

Pseudomonas aeruginosa – облигатный аэроб, хорошо растет на простых питательных средах, в широком диапазоне температур (4-42°C), что позволяет длительно сохраняться в окружающей среде и противостоять защитным силам организма человека. На жидких питательных средах бактерии *Pseudomonas aeruginosa* растут в виде поверхностной пленки, со временем образуется помутнение, распространяющееся сверху вниз.



При росте на плотных питательных средах у штаммов *Pseudomonas aeruginosa* наблюдается феномен радужного лизиса, развивающийся спонтанно. Этот признак индивидуально выражен у отдельных штаммов, и его можно использовать для внутривидовой дифференциальной диагностики.

При образовании пигмента окрашивает агар Мюллера-Хинтона в зеленый цвет. Селективная среда — ЦПХ-агар (питательный агар с цетилперидиниум-хлоридом). Отличительная особенность – ограниченная потребность в питательных веществах, обеспечивающая сохранение жизнеспособности в условиях почти полного отсутствия источников питания. При полном отсутствии углерода количество микроорганизмов *Pseudomonas aeruginosa* и их ферментативная активность за неделю снижается в 10-100 раз, при внесении минимальных количеств углеродосодержащих питательных веществ их число восстанавливается в короткие сроки. На твердых питательных средах диссоциирует на три формы – R-, S- и M- форму.

Биохимические свойства

Pseudomonas aeruginosa – выраженный хемоорганотроф, аэроб, факультативный анаэроб (денитрификатор); метаболизм дыхательный. В качестве источника энергии использует H_2 или CO. Каталаза - положительна, синтезирует цитохромоксидазу (индофенолоксидаза), а оксидазный тест является одним из ведущих при идентификации синегнойной палочки.

Синтезирует триметиламин, придающий культурам запах жасмина, винограда или карамели. Не нуждается в факторах роста. Ассимилирует ацетаты, пируваты, укцинаты. Может утилизировать глюкозу, L-аланин, при их содержании в среде не менее 0,5%. Продуцирует аргинин дегидролазу.

Протеолитическая активность сильно выражена. Разжижает желатин, свертывает сыворотку крови, гидролизует казеин, утилизирует гемоглобин (колонии *Pseudomonas aeruginosa* на кровяном агаре образуют зоны β-гемолиза). Синтезирует гиалуронидазу, гидролизует не только белки, но и отдельные аминокислоты. Лизин и орнитин не декарбоксилирует, восстанавливает нитраты до нитритов и далее до молекулярного азота.



Сахаролитическая активность низкая. Окисляет только глюкозу с образованием глюконовой кислоты. Некоторые штаммы осуществляют биодеструкцию углеводов, в том числе формальдегида.

Пиоцины

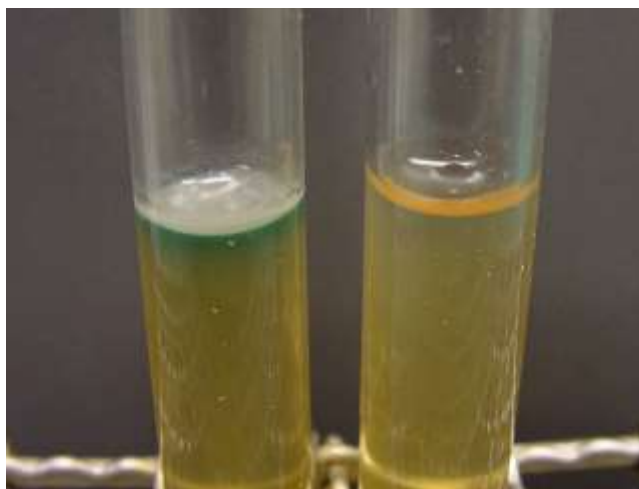
Pseudomonas aeruginosa продуцирует бактериоцины-пиоцины (аэругеноцины). Это белки, которые оказывают бактерицидный эффект на микроорганизмы аналогичного или генетически близкого вида.

Пигментообразование



Образование пигментов - характерный и имеющий важное диагностическое значение признак (встречается у 70-80% клинических изолятов). *Pseudomonas aeruginosa* продуцирует водорастворимый феназиновый пигмент пиоцианин, окрашивающий питательную среду, отделяемое ран и повязки пациентов в сине-зеленый цвет.

Кроме того, подавляющее большинство культур образует зеленый флюоресцирующий в UV-лучах пигмент флюоресцеин или пиовердин, а некоторые штаммы могут вырабатывать еще и другие пигменты – красный (пиорубин), черный (пиомеланин) и желтый (α-оксифеназин).



Производство пиоцианинов также может рассматриваться как фактор патогенности, поскольку многие пиоцианины угнетают рост микроорганизмов – представителей нормальной микрофлоры тела человека. В анаэробных условиях пигмент обычно бесцветный, но при встряхивании среды (частичная аэрация) приводит к появлению окраски. Высоковирулентные штаммы синтезируют пиоцианин, обладающий свойствами бактериоцина, в больших количествах. Оптимальная температура для синтеза пигментов *in vitro* 30-37° С. При выделении культур иногда наблюдают атипичные непигментированные или слабопигментированные формы. Обычно их идентификация требует дополнительного тестирования, что усложняет диагностические исследования. Непигментированные штаммы составляют 8,3-18 %, а 6-37% могут быть пигментированы слабо. Чаще беспигментные штаммы выделяются из внешней среды (до 75%).

Основные механизмы изменчивости культуральных признаков *Pseudomonas aeruginosa* – лизогенная конверсия и мутации.

Отсутствие или утрату способности к пигментированию также могут обуславливать сопутствующая микрофлора, действие антибиотиков, дефицит O₂ или смена среды обитания с нарушением физиологических свойств бактерий, вызванных искажением белкового метаболизма в патологических измененных тканях, особенно при злокачественных новообразованиях.

Пиомеланин предохраняет микроорганизм от неблагоприятного действия изменений концентрации O₂ и UV-лучей. Его наличие также помогает бактериям переносить гипоксию при инфекциях глубоких тканей. Подобные свойства пигмента дают основание считать меланинообразующие штаммы более вирулентными.

Антигенные свойства

Основные диагностически значимые антигены *Pseudomonas aeruginosa* — соматический O- и жгутиковый H- антигены. Серологическую идентификацию культур и выявление их принадлежности к определенному серотипу (серовару) проводят по наличию у выделенной культуры сочетания группоспецифического O-антигена и типоспецифического H- антигена.

O-антигенный комплекс – сложный макромолекулярный агрегат липополисахарида с белками и липидами клеточной стенки. Липополисахарид эндотоксина образует тип- или группоспецифический термостабильный O-антиген, на основе структуры которого проводят серологическое типирование, т.е он основной структурный компонент O- антигена, обуславливающий его специфичность. Структура липополисахарида *Pseudomonas aeruginosa* аналогична строению липополисахарида прочих грамотрицательных бактерий и включает липид А (базовая структура) и O-специфические боковые цепи. Белковый компонент эндотоксина представляет антигенный комплекс, общий для псевдомонад, то есть родовой O- антиген. По структуре O- антигена выделяют более 20 серогрупп, но высокая антигенная вариабельность *Pseudomonas aeruginosa* обуславливает постоянное увеличение их количества.

H, или жгутиковый антиген представлен термолабильными белками низкой специфичности, обусловленной различиями в строении флагеллинов. Выявлено 15 различных типов H- антигенов. H- антиген выявляют лишь у жизнеспособных, подвижных бактерий, не подвергшихся какому-либо химическому воздействию (в частности дезинфектантов) и в культурах,

выращенных на жидких средах (особенно дополненных глицерином).

У мукоидных штаммов можно обнаружить **капсульный К-антиген**. До настоящего времени его диагностическая значимость была невелика, так как подходы к его идентификации по структуре не разработаны. Однако, как более поверхностно расположенный антиген он способен маскировать О-детерминанты, искажая О-агглютинабельность.

В целом, вирулентность *Pseudomonas aeruginosa* определяется суммой факторов, которые неодинаково активны в разных фазах и при различных формах инфекционного процесса.

Токсинообразование

Патогенные свойства *Pseudomonas aeruginosa* обусловлены образованием веществ, проявляющих свойства экзотоксинов и высвобождением эндотоксинов при гибели и распаде бактериальных клеток. Экзотоксины бактерий представлены продуктами жизнедеятельности с широким спектром биологической активности, среди них основное значение имеют:

Экзотоксин А – важнейший из токсинов синегнойной палочки. Это белок с Мг. 66000-72000 Д. Молекула токсина состоит из одной полипептидной цепи с 4 дисульфидными связями, свободных сульфгидрильных групп не содержит. Характерные особенности: наличие аргинина в качестве N-концевой аминокислоты и высокое содержание кислых аминокислот. Токсин термолабилен, расщепляется трипсином, панкреатической эластазой, проназой, а так же под действием собственных протеолитических ферментов. Для синтеза *in vitro* необходимы хорошая аэрация и соответствующая температура (оптимум 32° С). Механизм его действия аналогичен дифтерийному токсину. Он состоит из трех доменов, один из которых фиксируется альфа-2 макроглобулиновыми рецепторами клеток, второй обеспечивает транслокацию через плазматическую мембрану, а третий ингибирует синтез белка, блокируя рост пептидной цепи на рибосомах за счет инактивации (АДФ-риболизирование) фактора элонгации (EF-2). В активации

токсина А и мембранных рецепторов участвует фурин – представитель семейства клеточных протеиназ, физиологическим назначением которых является ограниченный протеолиз белков-предшественников эукариотических клеток. Действие на подопытных животных превосходит токсичность всех остальных продуктов *Pseudomonas aeruginosa* и проявляется в общем токсическом действии, отеках, некрозах, гипертензии с последующим коллапсом, метаболическом ацидозе, дыхательной недостаточности, параличе внутриклеточного синтеза белков. Гистологически выявляют печеночно-клеточный некроз, геморрагические поражения легких, тубулярный некроз почек.

Экзоэнзим S – белок с АДФ трансферазной активностью, термостабилен, инактивируется под действием денатурирующих и восстанавливающих агентов, ионов Cu^+ и Fe^{2+} . Антитела к экзотоксину А его не нейтрализуют. Образуется в двух формах: первая – ферментативно активный белок с Mr. 49000 Д, вторая – неактивный белок – предшественник с Mr. 53000 Д. В виде очищенного детергентами препарата нетоксичен для животных. In vitro вызывает глубокие патологические процессы в легких. Токсин S продуцируется ограниченным числом штаммов и обладает меньшей болезнетворностью.

Цитотоксин оказывает выраженное цитотоксическое действие на полиморфноядерные нейтрофилы, способствует развитию нейтропении. Вызывает ультраструктурные изменения в клетках, нарушение физиологических градиентов K^+ , Na^+ , Ca^{2+} и глюкозы через повышение проницаемости клеточных мембран, последнее обуславливает набухание клеток и потерю крупных (например, белковых) молекул. Токсин синтезирует 96,7% культур патогенных штаммов.

Гемолизины. *Pseudomonas aeruginosa* образует две гемолитические субстанции – термолабильный гемолизин с лецитиназной активностью (фосфолипаза С) и термостабильный гемолизин (фосфолипаза). Вызывают солюбилизацию и гидролиз фосфолипидов с образованием фосфорилхолинов – источника неорганических фосфатов. Гемолизины приводят к развитию

некротических поражений (особенно в печени и легких). Гемолизины продуцируют все клинические изоляты.

Эндотоксин и фактор проницаемости. Патогенетическое значение оценить трудно, так как инфекции *Pseudomonas aeruginosa*, сопровождающиеся диареей, отмечают редко. Вирулентные штаммы продуцируют фактор проницаемости (лабильный к нагреванию и действию трипсина), участвующий в развитии патологических процессов в тканях.

Нейраминидаза нарушает процессы метаболизма веществ, содержащих нейраминовые кислоты (например, в соединительных элементах). Нейраминидаза способна в 2-3 раза усиливать действие других токсинов.

Так же следует обратить внимание на способность *Pseudomonas aeruginosa* синтезировать протеолитические ферменты: **нейтральная протеаза** образуется в очень незначительных количествах, данные о ее субстратной специфичности и участии в патологических процессах отсутствуют.

Протеаза II (эластаза) обуславливает 75% всей протеолитической активности. Расщепляет эластин, казеин, гемоглобин, фибрин, Ig, комплемент и другие белки, но слабо действует на коллаген. Мишень – пептидные связи между гидрофобными аминокислотами. Относится к металлопротеиназам и инактивируется хелатами, ионами тяжелых металлов и сывороточным В-макроглобулином. Синтезируется как связанный с клеткой профермент, аккумулирующийся в периплазматическом пространстве. Активируется путем ограничения протеолиза щелочной протеазой или готовой порцией эластазы. Обнаружена у 85 % штаммов.

Протеаза III (щелочная протеаза) гидролизует многие белки (в том числе γ -интерферон), но не расщепляет эластин. Внутривенное введение очищенного препарата вызывает кровоизлияние практически во всех внутренних органах, внутрикожное введение приводит к местным, позднее некротизирующимся кровоизлияниям.

Коллагеназа вызывает гидролиз коллагена в соединительных тканях. Основной фактор вирулентности при инфекционных поражениях роговицы.

Структура генома

Геном *Pseudomonas aeruginosa* содержит приблизительно 5,2 - 7 миллионов пар оснований, 65% из которых – комплементарные друг другу гуанин и цитозин. Он представляет собой комбинацию переменных дополнительных и константных сегментов. Переменный добавочный сегмент характеризуется набором геномных островов и островков первичного тРНК-интегрированного типа (Рис.1). Константный сегмент характеризуется низким уровнем нуклеотидной дивергенции (0,5%) и консервативным набором генов (два или более генов, независимо от того, связаны они между собой или нет, находятся на одной хромосоме).

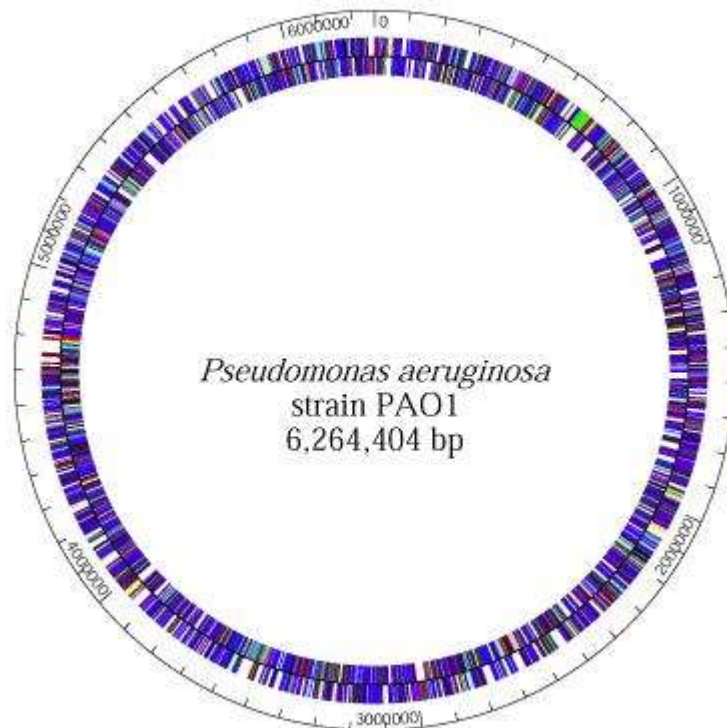


Рисунок 1 - *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 геном. (по Pseudomonas Genome Database)

Pseudomonas aeruginosa имеет единственную суперзакрученную циркулярную хромосому в цитоплазме. Она также несет много мобильных плазмид, что чрезвычайно важно для ее существования как патогена. Плазмиды TEM, OXA, и PSE например, кодируют продукцию бетталактамаз, которые необходимы для резистентности *Pseudomonas aeruginosa* к антибиотикам. Полностью секвенированы два типа: *Pseudomonas aeruginosa PA01* и *Pseudomonas aeruginosa PA14*. Предварительные результаты показали, что они очень похожи, однако имеют несколько областей различий, таких как вставка 107911bp в PA14, которая отсутствует в PA01. Приблизительно, 96,3 % последовательности ДНК PA01, находится в PA14, и 92,4 % последовательности ДНК PA14 находится в PA01.

Колонизация

Хотя колонизация обычно предшествует инфекции, *Pseudomonas aeruginosa*, в том числе встречается и как часть нормальной микрофлоры человека. У здоровых индивидуумов синегнойную палочку выявляют на коже паха, подмышечных областей и ушей (до 2% лиц), на слизистой оболочке носа (до 3%) и глотки (до 7%), в желудочно-кишечном тракте (3-24%). Однако распространенность колонизации здоровых людей вне больницы относительно низка.

Pseudomonas aeruginosa обладает выраженной специфической и неспецифической адгезией. Специфическую адгезию на слизистых оболочках обеспечивают пили и капсулоподобные экзополисахариды, имеющие сродство к муцинам, гликофосфолипидам.

Неспецифическая адгезия происходит на имплантируемых устройствах (катетеры, эндотрахеальные трубки и др.). В дальнейшем микроколонии бактерий объединяются в сплошную биопленку, которая представляет собой несколько слоев микробных клеток, покрытых общим гликокаликсом (полимер

полисахаридной природы).

Фимбрии *Pseudomonas aeruginosa* прикрепляются к эпителию верхних дыхательных путей и другим эпителиальным клеткам. Адгезины связываются со специфическими рецепторами галактозы, маннозы или сиаловой кислоты на поверхности эпителиальной клетки. Колонизация дыхательного тракта *Pseudomonas aeruginosa* происходит за счет фимбриальной адгезии и дополнительно за счет продукции протеазы, разрушающей фибронектин и повышающей доступ фимбриальным рецепторам к эпителиальной клетке. Повреждение тканей вирусами также способствует фимбриальной адгезии. Это явление получило название оппортунистической адгезии и является важнейшим этапом в развитии синегнойных кератитов, инфекций мочевыводящих путей и респираторного тракта.

Рецептором для пилей *Pseudomonas aeruginosa* на эпителиальных клетках трахеи служит сиаловая кислота. Секретируемый микроорганизмом фермент нейраминидаза, отщепляя остатки сиаловых кислот от рецептора, облегчает специфическую адгезию.

Штаммы, продуцирующие слизь, продуцируют и экзополисахарид (альгинат), который является дополнительным или альтернативным адгезином, прикрепляющимся к трахеобронхиальному муцину (N- ацетилглюкозамину). Кроме того, вероятно комплиментарная экзоферменту S поверхность также может служить в качестве адгезина для гликолипида.

Мукоидный экзополисахарид, продуцируемый *Pseudomonas aeruginosa*, является повторяющимся полимером маннуроновой и глюкуроновой кислот и известен как альгинат – вещество, против которого не синтезируются антитела. Альгинат является матриксом биопленки, образуемой *Pseudomonas aeruginosa*. Биопленка защищает микроорганизм от неблагоприятного влияния окружающей среды, факторов естественной защиты организма, таких как лимфоциты, фагоциты, естественное движение реснитчатого эпителия дыхательного тракта, антитела и

КОМПЛЕМЕНТ.

Биопленка – это микробное сообщество, состоящее из клеток, плотно прикрепленных к субстрату, поверхности или друг к другу, заключенное в матрицу внеклеточных полимерных субстанций, продуцирующих и проявляющих измененный фенотип в соответствии с уровнем роста и транскрипцией генов (Рис.2).

Гладкие поверхности колонизируются также легко, как и шероховатые, а физические особенности поверхности очень незначительно влияют на бактериальную адгезию.

Развитие зрелой биопленки проходит через программированную серию событий.

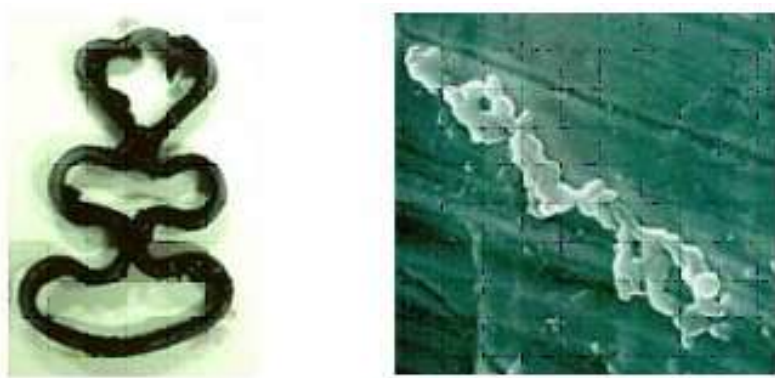


Рисунок 2 – Мочевой катетер колонизированный бактериальной биопленкой (фотография CDC).

После прикрепления клетки размножаются, образуя монослой на твердой поверхности. Отдельные клетки далее проявляют поверхностную подвижность, зависящую от наличия пилей IV-го типа. В результате формируются небольшие группы, названные микроколониями, которые затем дифференцируются для образования зрелой биопленки. Микроколонии в зрелой биопленке имеют башню и грибовидную архитектуру. Клетки в этих структурах упаковываются во внеклеточные полисахаридные матриксы (Рис.3).

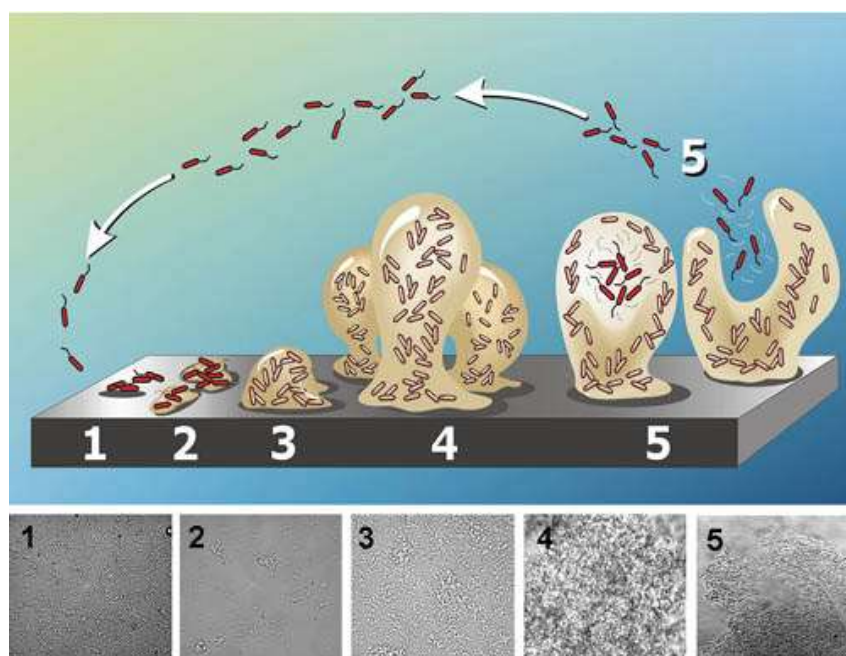


Рисунок 3 – Пять стадий развития биопленки (Courtesy of Peg Dirchx and David Davies)

Структуру биопленки пронизывают водные каналы, через которые внутрь поступают питательные вещества и удаляются продукты метаболизма. При этом внутри биопленки наблюдается значительная гетерогенность. Так, у биопленок *Pseudomonas aeruginosa* выявлен огромный градиент перепада кислорода. Если на периферии пленки кислород присутствует в измеряемых концентрациях, то в более глубоких слоях он только переносится по водным каналам. Сходные градиенты выявлены для pH и питательных веществ. Эти градиенты обуславливают физиологическую варибельность среди отдельных клеток биопленки. Так, клетки, находящиеся в глубоких слоях биопленки, растут медленно, а клетки, находящиеся на периферии - быстро. При этом если биопленка сформировалась в слабо подвижной среде, то она имеет низкую силу натяжения и легко разрывается, тогда как биопленка, сформированная в высокоподвижной среде, имеет высокую силу натяжения и устойчива к разрывам. Биопленка обеспечивает *Pseudomonas aeruginosa* устойчивость к антибиотикам и дезинфектантам и недоступность атакам иммунной системы макроорганизма.

На скорость образования биопленок на поверхностях больничной среды, в

том числе на инструментах, катетерах, приборах и др., влияют количество контаминирующих микробных клеток, скорость потока жидкости через прибор, физико-химические характеристики поверхности и температура окружающей среды. При этом компоненты жидкости могут менять свойства поверхности и скорость прикрепления к ней микробных клеток. Особенно быстро формирование биопленок происходит на поверхностях сосудистых, мочевых катетеров, интубационных трубок, искусственных клапанов сердца.

Инвазия

Способность *Pseudomonas aeruginosa* внедряться в ткани зависит от продукции внеклеточных ферментов и токсинов, которые преодолевают физические барьеры и повреждают клетки организма. Бактериальная слизистая капсула эффективно защищает этот микроорганизм от опсонизации антителами, комплементом, и фагоцитами.

Два экстрацеллюлярных белка ответственны за инвазию: эластаза и щелочная протеаза. Эластаза разрушает коллаген, IgG, IgA и комплемент, а также лизирует фибронектин и обеспечивает бактериальной клетке адгезию на слизистых оболочках бронхиол в легочной ткани. Эластаза разрушает дыхательный эпителий и нарушает функцию реснитчатого эпителия. Щелочная протеаза вмешивается в формирование фибрина и лизирует его. Вместе, эластаза и щелочная протеаза разрушают вещество основания роговой оболочки и других структур, состоящих из фибрина и эластина. Эластаза и щелочная протеаза, действуя вместе, вызывают инактивацию гамма интерферона (IFN) и туморнекротизирующего фактора (TNF).

Кроме того, *Pseudomonas aeruginosa* продуцирует три других растворимых белка, ответственных за инвазию: цитотоксин (Mr 25 kDa) и два гемолизина. Цитотоксин - пориновый белок, первоначально названный лейкоцидином из-за его эффекта на нейтрофилы, но позднее выяснилось, что его цитотоксичность существует для большинства эукариотических клеток. Два гемолизина -

фосфолипаза, и лецитиназа, действуют синергически, разрушая липиды и лецитин, и способствуют вторжению в клетку через их цитостатические эффекты.

Один пигмент *Pseudomonas* вероятно является фактором патогенности. Синий пигмент, пиоцианин, ослабляет нормальную функцию реннитчатого эпителия, разрушает дыхательный эпителий, и проявляет провоспалительный эффект на фагоциты. Девиват пиоцианина, пиоцелин, является сидерофором, который продуцируется в условиях низкого содержания железа и использует железо из окружающей среды для роста патогена. Роль флюоресцентных пигментов в инвазии не установлена. В таблице 2 представлены факторы патогенности *Pseudomonas aeruginosa*.

Таблица 2 – Факторы патогенности *Pseudomonas aeruginosa*

Группа	Наименование
Адгезины	Фимбрии (N-метил-фенилаланиновые пили)
	Полисахаридная капсула (гликокаликс)
	Альгинатная слизь (био пленка)
Инвазины	Эластаза
	Щелочная протеаза
	Гемолизины (фосфолипаза и лецитиназа)
	Цитотоксин (лейкоцидин)
	Сидерофоры и сидероподобные системы
	Пиоцианин
Подвижность (хемотаксис)	Жгутик
Токсины	Экзоэнзим S
	Экзотоксин А
	Липополисахарид
Антифагоцитарная активность	Слизистая капсула
	Липополисахарид
Вещества, разрушающие бактерицидную активность сыворотки	Слизь
	Липополисахарид
	Протеазы
Вещества, обеспечивающие защиту от действия иммунной системы	Слизь и слизистая капсула
	Протеазы

Группа	Наименование
Генетические факторы	Генетический обмен (трансдукция и конъюгация)
	Природная резистентность
	Плазмиды
Экологические характеристики	Высокие адаптивные свойства
	Метаболическая изменчивость
	Убиквитарность

Экология

Синегнойные бактерии широко распространены в природе и являются свободноживущими бактериями, использующими в качестве источника энергии почти все природные органические соединения. Их обнаруживают в почве, воде, отбросах, испражнениях теплокровных животных, на коже, в респираторном и кишечном трактах человека и животных, на растениях.

Синегнойная палочка принадлежит к бактериям, которые в естественных условиях патогенны как для человека, так и для животных, и для растений.

Так, *Pseudomonas aeruginosa* вызывает симптомы гнили у *Arabidopsis Thaliana* (кресс-салат) и *Lactuca Sativa* (салат Латук), поражает некоторые виды кофе, томатов, картофеля. Это мощный патоген для *Caenorhabditis Elegans* (свободно живущая нематода), дрозофил, и *Galleria mellonella* (восковая моль, пчелиная огневка).

При наличии достаточного количества питательных веществ этот микроорганизм может до 2 недель оставаться жизнеспособным в анаэробных условиях. На хлопчато-бумажных и синтетических тканях сохраняется до 13 суток, на полушерстяных – до 62 дней, на войлокообразном полотне – более 150 суток, на влажных поверхностях – более 100 суток, в аппаратах искусственной вентиляции легких – годами. Сохраняется в растворах дезинфицирующих средств, обладает высокой природной резистентностью к широкому кругу антибактериальных препаратов, использует в качестве источника питания нитрофурановые растворы.

Pseudomonas aeruginosa имеет многообразные связи с обитателями почв и водоемов, в том числе и беспозвоночными, многие из которых могут быть естественными хозяевами этого микроорганизма. Паразитизм *Pseudomonas aeruginosa* у наземных теплокровных животных имеет случайный характер, поэтому млекопитающие и птицы, как и человек, не определяют существование *Pseudomonas aeruginosa* в природе. Для функционирования в природе *Pseudomonas aeruginosa* не определяется непрерывной циркуляцией возбудителя, поскольку она не является единственно возможной формой его существования. Любая цепь циркуляции возбудителя раньше или позже прерывается и наступает период его резервации.

Pseudomonas aeruginosa способна к обитанию в широком температурном диапазоне (обычно при любых положительных температурах — от 2 до 40—60°C).

Для синегнойной палочки характерно разнообразие весьма тонких механизмов регуляции экспрессии факторов вирулентности. Активность механизмов регуляции направлена на быструю адаптацию микроорганизма к меняющимся условиям обитания и обеспечение максимальной экономичности с энергетической точки зрения. При пребывании микроорганизма во внешней среде факторы вирулентности не синтезируются, при попадании же во внутреннюю среду организма млекопитающих начинается интенсивный синтез этих белков, способствующих развитию инфекционного процесса. Сигналами для микроорганизма о попадании во внутреннюю среду могут быть изменения температуры, pH среды, контакт с мембраной эукариотических клеток. Распознавание таких сигналов осуществляют специфические рецепторы, локализованные в клеточной стенке микроорганизма. Передачу сигнала, обеспечивающего начало синтеза фактора вирулентности, от рецептора к гену, кодирующему белок, осуществляют двухкомпонентные системы передачи сигнала. Такие системы действуют по принципу последовательной активации ферментов в реакции фосфорилирования и являются универсальными в регуляции

вирулентности микроорганизмов. Обращает на себя внимание высокая приспособляемость *Pseudomonas aeruginosa* к условиям существования. Она может вести себя как хемолитотроф (размножение в ограниченных минеральных средах), как сапрофит (в пищевых продуктах и сточных жидкостях), как симбионт (при дисбактериозе), как комменсал (при носительстве) и, наконец, как завершённый патоген. Таким образом, практически неограниченные метаболические возможности *Pseudomonas aeruginosa*, наличие у этих бактерий разнообразных факторов патогенности в сочетании с высокой способностью воспринимать и экспрессировать генетическую информацию внехромосомных факторов наследственности приводит к вездесущности псевдомонад, в том числе и в больничной среде. Способность колонизировать места обитания, принципиально отличающиеся по физико-химическому составу, термодинамическому режиму и биологической организации вероятно является решающим фактором при колонизации возбудителем различных биотопов, приводящим к развитию вспышек госпитализма. Кроме того, способность *Pseudomonas aeruginosa* синтезировать ряд вторичных метаболитов (синильную кислоту, пиоцины) позволяет ей подавлять рост широкого круга микроорганизмов. Синтезируемый микробом экзополисахарид (гликокаликс) имеет экологическое значение и играет существенную роль в выживаемости во внешней среде, так как защищает его от бактериофагов, поверхностно-активных веществ. Свойство синегнойной палочки использовать для своего роста феноловые и четвертичные аммониевые соединения даёт ей возможность сохраняться в растворах дезинфицирующих средств.

Бактериальная популяция *Pseudomonas aeruginosa* исходно гетерогенна по устойчивости к перевариванию простейшими. Фагоцитируясь инфузориями, подавляющая доля псевдомонад переваривается в фагосомах; небольшая часть подвергается L-трансформации (сферопласты, протопласты); наконец, отдельные бактериальные клетки сохраняются неизменными. Подсчитано, что примерно 0,1% клеток популяции возбудителя устойчивы к процессу переваривания. Эти

клетки размножаются внутри инфузории, разрушают ее и вновь попадают во внешнюю среду. В окружающей среде они могут захватываться новыми особями простейших, и цикл взаимодействия повторяется. Происходящая таким образом селекция и последующее размножение устойчивых к перевариванию бактерий в организме инфузорий способна компенсировать гибель других микробных клеток.

Считают, что этот механизм обеспечивает поддержание численности и устойчивое существование бактерий в ассоциации с простейшими, селекцию вирулентных штаммов как результат пассажа через организм простейших. Темпы формирования таких эпидемически значимых вариантов и уровень их вирулентности определяются интенсивностью пассирования возбудителя в популяции хозяев, т.е. зависят от их численности. Следовательно, можно предполагать, что наиболее благоприятные условия для формирования эпидемических вариантов возбудителей в этом случае создаются при массовых размножениях простейших.

Вместе с тем нужно учитывать, что закономерности протекающих биохимических и энергетических процессов у микроорганизмов, способных к существованию как в сапрофитической, так и в паразитической фазе в условиях стационара могут существенно отличаться от таковых в естественной природной среде. Иначе говоря, адаптационные механизмы в природной и искусственной среде обитания могут быть не идентичны. Кроме того, для внутрибольничного инфицирования при инвазивных вмешательствах высокая вирулентность возбудителя совсем необязательна. Более важна доза возбудителя, т.е. в случае сапрофитов, паразитирующих на простейших, уже достаточно только наличия устойчивых к фагоцитозу штаммов и возможности их последующего размножения.

Известно, что при переходе от среды обитания с относительно высокой температурой к среде обитания с низкой температурой эктотермные организмы способны поддерживать свой метаболизм на необходимом для нормальной

жизнедеятельности уровне, для чего в процессе эволюции у них сформировались специальные генетико-биохимические механизмы. При понижении температуры ниже +20°C жизнеспособность псевдомонад при наличии достаточной влажности увеличивается многократно. Общей закономерностью является усиление каталазной активности. Это означает, что в окружающей среде может сложиться такая «нужная» для возбудителя инфекции сочетанность влажного субстрата и низкой температуры, которая повлечет за собой массивное накопление бактерий.

При переходе из внешней среды с ее низкой температурой в макроорганизм и наоборот, т.е. когда происходит резкая смена температуры и среды обитания (сапрофитическая и паразитическая), создается стрессовая ситуация, усиливающая гетерогенность популяции, вследствие чего увеличивается потенциальная возможность освоения новой экологической ниши.

Следует также учитывать, что за счет диссоциации бактерий (расщепление однородной популяции на варианты, различающиеся морфологическими, физиологическими, биохимическими и биологическими свойствами) в стационаре непрерывно создается необходимое фенотипическое разнообразие форм на единой генетической основе.

Экологическая система больничной среды не является стационарной. В ней непрерывно происходят фазовые преобразования, приводящие к формированию эпидемических вариантов и последовательной смене межэпидемического периода эпидемическим. Эпидемические варианты возбудителей имеют такие физиологические свойства, метаболический потенциал и факторы вирулентности, которые обеспечивают им существование в двух формах: в виде подвижной формы и фиксированной биопленки. Подвижная форма обеспечивает движение, необходимое для колонизации новой среды обитания, а биопленка осуществляет защиту от большого количества неблагоприятных факторов внешней среды. Рисунок 4 иллюстрирует наблюдаемые нами в хирургическом стационаре закономерности циркуляции *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*.

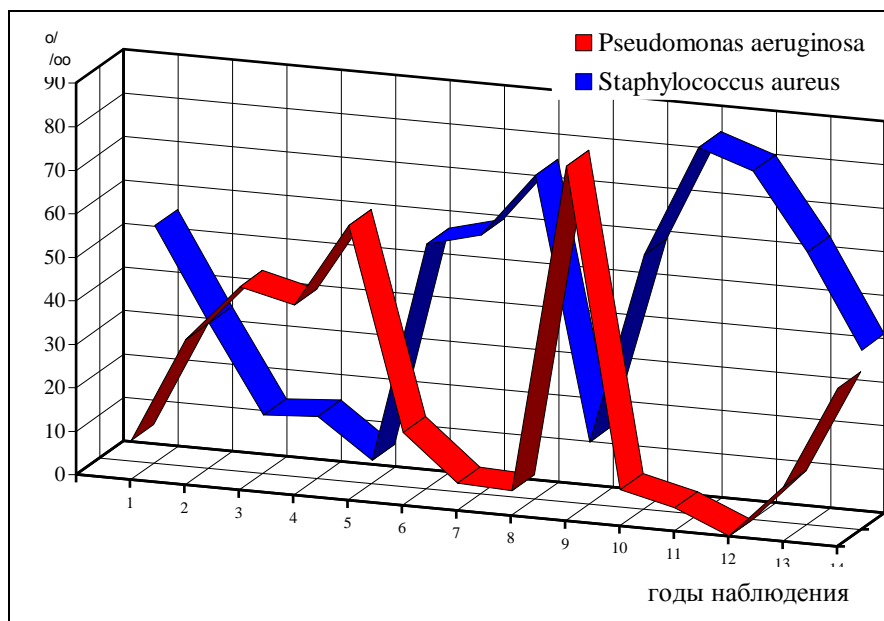


Рисунок 4 - Многолетняя динамика стафилококковых и синегнойных инфекций в хирургическом стационаре

Период эпидемического распространения синегнойной инфекции всегда совпадал с периодом снижения заболеваемости стафилококковыми инфекциями. Затем происходило снижение синегнойных инфекций при одновременном эпидемическом подъеме стафилококковых инфекций. Продолжительность цикла составляла 4-5 лет.

Степень обсемененности палаты интенсивной терапии зависит от количества находящихся в ней пациентов (рис.5). Установлено, что если в палате находился один больной — средний уровень обсемененности внешней среды составлял $3,21\% \pm 0,77$, при увеличении пациентов в палате до двух человек этот показатель утраивался ($10,26\% \pm 1,24$), до трех — возрастал в 10 раз ($32,16\% \pm 2,01$), до четырех — увеличивался в 16 раз ($50,62\% \pm 2,11$).

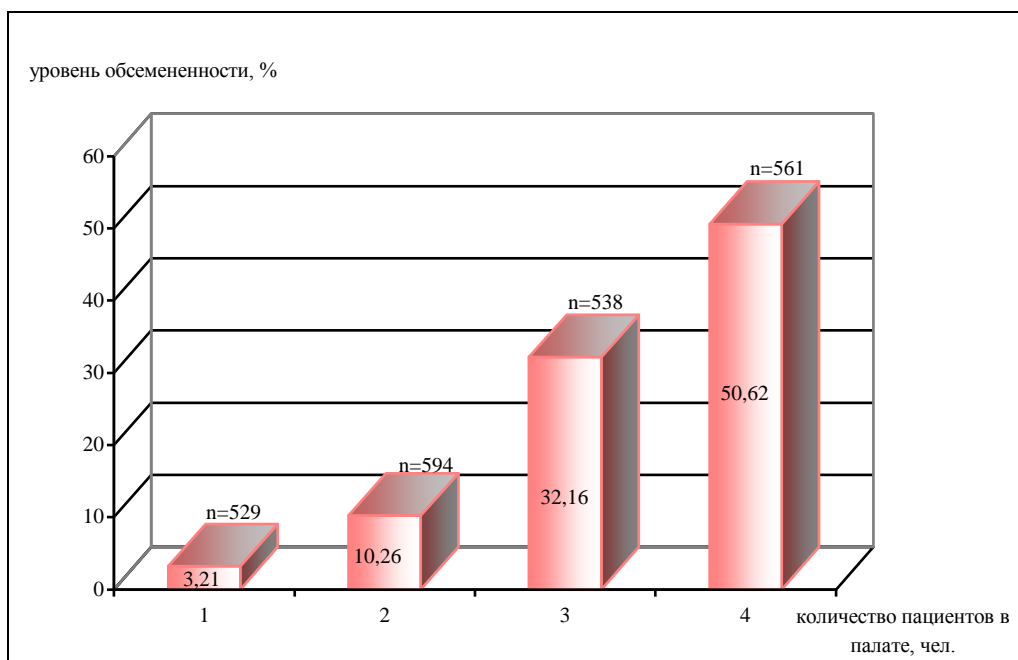


Рисунок 5 - Зависимость обсемененности палаты интенсивной терапии от количества находящихся в ней пациентов

Обсемененность при одномоментном поступлении нескольких экстренных пациентов возрастала в 11 раз (с 5,28 до 62,35%). Реанимация пациента сопровождалась семнадцатикратным ростом контаминации внешней среды микроорганизмами (с 4,39% до 74,1%). Сроки выживания во внешней среде реанимационного отделения при обычной дезинфекции *Pseudomonas aeruginosa* превышали 90 дней (срок наблюдения).

Степень эпидемической опасности возбудителей неодинакова. Одни из них чрезвычайно пластичны и способны к быстрому, безудержному распространению в стационаре, другие такими свойствами обладают в меньшей степени или не обладают совсем. *Pseudomonas aeruginosa* относится к числу патогенов с высоким эпидемическим потенциалом и способна в короткие сроки (по данным наших наблюдений срок составляет 7 суток) формировать госпитальные штаммы, вызывать вспышки.

Штаммы, выделенные от больных, в 4,2 раза более вирулентны, чем штаммы, выделенные из окружающей среды. Причем установлена зависимость

между вирулентностью, токсигенностью и инвазивностью. Штаммы, выделенные от больных, обладают протеолитической активностью в 3,2 раза большей, чем штаммы, выделенные из окружающей среды.

Pseudomonas aeruginosa рассматривается как микроорганизм, способный разлагать некоторые ароматические углеводороды, такие как метилбензены, которые являются побочными продуктами нефтяной промышленности и обычно используются как растворители эмали и красок, в производстве различных химикатов. *Pseudomonas aeruginosa* способна через окисление метильной группы до альдегида, спирта и карбоновой кислоты, разрушить толулол - самую простую форму метилбензена.

Патогенез

Выраженная патогенность *Pseudomonas aeruginosa* связана с наличием у этого микроорганизма ряда факторов вирулентности, способствующих колонизации и инфицированию тканей организма человека. К детерминантам вирулентности относятся факторы, способствующие адгезии, инвазии, цитотоксичности.

Локальное и системное действие на организм млекопитающих оказывают и секретируемые ферменты. Фосфолипаза С разрушает цитоплазматические мембраны эукариотических клеток, инактивирует опсонины, гидролизует сурфактант легких. Цитотоксическим действием (в том числе и в отношении макрофагов), а также способностью подавлять биосинтез белка обладает экзотоксин А. Биосинтез белка ингибируется экзоэнзимом S. Эластаза разрушает иммуноглобулины и компоненты комплемента, ингибирует активность нейтрофилов. Функцию нейтрофилов и лимфоцитов подавляет токсин - лейкоцидин. Цитотоксическим эффектом обладает и пигмент пиоцианин.

Мощным индуктором системной воспалительной реакции является липополисахарид *Pseudomonas aeruginosa*. Часть штаммов *Pseudomonas aeruginosa* продуцируют капсульный полисахарид альгинат. Штаммы,

продуцирующие альгинат, обычно выявляются у пациентов с хроническими инфекциями, например, на фоне муковисцидоза. Альгинат способствует формированию на поверхности эпителия пленки, которая обеспечивает защиту патогена от воздействия факторов резистентности макроорганизма и антибиотиков.

Для *Pseudomonas aeruginosa* характерно разнообразие весьма тонких механизмов регуляции экспрессии факторов вирулентности. Активность механизмов регуляции направлена на быструю адаптацию микроорганизма к меняющимся условиям обитания и обеспечение максимальной экономичности с энергетической точки зрения. При пребывании микроорганизма во внешней среде факторы вирулентности не синтезируются, при попадании же во внутреннюю среду организма млекопитающих начинается интенсивный синтез этих белков, способствующих развитию инфекционного процесса. Сигналами для микроорганизма о попадании во внутреннюю среду могут быть изменения температуры, рН среды, контакт с мембраной эукариотических клеток. Распознавание таких сигналов осуществляют специфические рецепторы, локализованные в клеточной стенке микроорганизма. Передачу сигнала, обеспечивающего начало синтеза фактора вирулентности, от рецептора к гену, кодирующему белок, осуществляют двухкомпонентные системы передачи сигнала. Такие системы действуют по принципу последовательной активации ферментов в реакции фосфорилирования и являются универсальными в регуляции вирулентности микроорганизмов. У *Pseudomonas aeruginosa* описаны двухкомпонентные системы, регулирующие образование ворсинок и синтез экзоэнзимов. Кроме регуляции синтеза факторов вирулентности на уровне отдельных микробных клеток, у *Pseudomonas aeruginosa* регуляция происходит и на уровне популяции. Речь идет о феномене "кооперативной чувствительности" или "чувства кворума" (quorum sensing), заключающемся в накоплении в микробной популяции низкомолекулярных соединений (гомосеринлактонов),

осуществляющих при достижении определенной концентрации дерепрессию синтеза большинства факторов вирулентности. Таким образом, экспрессия генов вирулентности оказывается зависящей от плотности микробной популяции. Биологический смысл феномена, вероятно, связан с координированным началом синтеза факторов вирулентности только после достижения микробной популяцией определенного уровня плотности. Регуляции на уровне кооперативной чувствительности у *Pseudomonas aeruginosa* подвержена экспрессия большинства факторов вирулентности и вторичных метаболитов. Под контролем данной системы находится синтез всех экзотоксинов, а также образование биопленки. Блокада механизмов реализации феномена кооперативной чувствительности у *Pseudomonas aeruginosa* приводит к выраженному снижению вирулентности.

Первая межклеточная система, описанная у *Pseudomonas aeruginosa*, контролирует экспрессию гена *las B*, кодирующего эластазу, и названа *las* – системой. Эта система состоит из *lasI* – гена синтазы аутоиндуктора, которая ответственна за синтез N-[3-оксодеканойл]-L-гомосерин-лактона, и гена *lasR*, кодирующего белок, который является активатором транскрипции. Установлено, что данная система регулирует экспрессию эластазы *lasB* и необходима для оптимальной продукции других факторов вирулентности *Pseudomonas aeruginosa*, таких как протеаза и экзотоксин А.

Помимо *las* системы, *Pseudomonas aeruginosa* имеет вторую межклеточную сигнальную систему, названную *rhl* системой в связи с тем, что она способна контролировать продукцию рамнолипида (*Rhl*). Эта система также состоит из аутоиндуктора - гомосерин-лактона, но имеющего другое строение, а именно: N-бутирил-гомосерин-лактон, из гена синтазы аутоиндуктора и гена *rhlR*, кодирующего белок, который является активатором транскрипции. Данная система регулирует экспрессию *rhl AB* оперона, кодирующего рамнозилтрансферазу, необходимую для продукции рамнолипида. Кроме того, эта система необходима для оптимальной продукции эластазы *lasB*, протеазы *lasA*, пиоцианина, цианида и

щелочной протеазы. Следовательно, подобно *las* системе, межклеточная сигнальная *rhl* система регулирует экспрессию различных факторов вирулентности *Pseudomonas aeruginosa*.

Установлено, что обе системы взаимодействуют друг с другом. Так, *las* система способна активировать *rhl* систему, контролируя ее как на уровне транскрипции, так и на посттрансляционном уровне, что свидетельствует о том, что *las* иерархически выше *rhl* системы.

Факторами, непосредственно влияющими на формирование локального и системного воспаления, являются липополисахарид, экзотоксин S, флагеллин, нитратредуктаза, пиоцианин, фосфолипаза C. Большинство из них инициирует секрецию ключевого провоспалительного медиатора – фактора некроза опухоли (TNF), а фосфолипаза наряду с этим способствует либерации IL-1, IL-6, гамма-интерферона из моноцитов, полиморфно-ядерных нейтрофилов и Т-лимфоцитов.

У *Pseudomonas aeruginosa*, как и у других грамотрицательных бактерий, описана система экскреции III типа (своеобразный "молекулярный шприц"), обеспечивающая выведение экзоэнзимов из внутренней среды бактериальной клетки и их транслокацию внутрь эукариотической клетки, непосредственно к мишеням. Кроме описанного пути секреции токсических субстанций, у *Pseudomonas aeruginosa* показано выделение мембранных пузырьков, которые окружены двухслойной мембраной, состоящей из липополисахарида и белков наружной мембраны микробной клетки. Внутри пузырьков содержатся многие из перечисленных выше токсинов и ферментов. Сливаясь с мембранами эукариотических клеток, пузырьки высвобождают свое содержимое в их цитоплазму, что обеспечивает выраженный токсический эффект. К веществам, выделяемым данной системой, у синегнойной палочки относятся экзотоксины *ExoS*, *ExoT*, *ExoY*, *ExoU* и протеины *PerV*, *PerB*, *PerD*. Различные штаммы этого микроорганизма обладают различной токсичностью. С позиций способности к синтезу и секреции факторов токсичности популяция *Pseudomonas aeruginosa*

гетерогенна. Локальное и системное действие на организм оказывают и другие секретируемые *Pseudomonas aeruginosa* ферменты. Фосфолипаза С разрушает цитоплазматические мембраны эукариотических клеток, инактивирует опсонины, гидролизует сурфактант легких. Цитотоксическим действием (в том числе и в отношении макрофагов), а также способностью подавлять биосинтез белка обладает экзотоксин А. Биосинтез белка ингибируется также экзоэнзимом S. Эластаза разрушает иммуноглобулины и компоненты комплемента, ингибирует активность нейтрофилов. Функцию нейтрофилов и лимфоцитов подавляет токсин - лейкоцидин. Цитотоксическим эффектом обладает и пигмент пиоцианин.

Эпидемиология

Источники инфекции. Инфекции, вызываемые *Pseudomonas aeruginosa*, могут иметь эндогенное и экзогенное происхождение. Удельный вес каждого из этих вариантов зависит от типа стационара, особенностей медицинских технологий и нозологической структуры пациентов.

При эндогенном инфицировании заражение связано с собственной, нормальной микрофлорой пациента. Инфекция развивается при возникновении нарушений со стороны иммунной системы или при нарушении естественных антимикробных барьеров, например инфицирование ран содержимым кишечника. Главным эндогенным резервуаром *Pseudomonas aeruginosa* и источником последующей колонизации легких служат верхние дыхательные пути. В этом заключается существенное отличие от колонизации легких энтеробактериями, где роль главного резервуара играет желудочно-кишечный тракт, а в качестве основного механизма выступает феномен повторных микроаспираций. Однако у иммунокомпрометированных пациентов роль кишечника как резервуара эндогенной синегнойной инфекции также достаточно велика. Высокая тропность *Pseudomonas aeruginosa* к эпителию мочевыводящих путей и легкость колонизации определяют важную роль этого резервуара в развитии синегнойной инфекции.

Экзогенными источниками инфекции являются пациенты и персонал. При этом важно учесть, что не только инфицированные, но и колонизованные *P. aeruginosa* пациенты, длительно пребывающие в отделении, служат важным экзогенным источником колонизации других больных и возможного последующего развития инфекции.

Поскольку *Pseudomonas aeruginosa* - типичный сапроноз, то различные объекты больничной среды, особенно влажные, служат важнейшими источниками этого возбудителя. Сюда относятся душевые установки, водопроводная вода, емкости с различными растворами, в том числе и дезинфектантами (при условии резистентности к ним возбудителя или их низких концентраций), увлажнители аппаратов искусственной вентиляции легких, газопроводящие магистрали, ультразвуковые ингаляторы, эндоскопическая аппаратура и т.д. Любые устройства, из которых сложно полностью удалить влагу, могут служить потенциальными источниками синегнойной инфекции. В этих аппаратах *Pseudomonas aeruginosa* может размножаться и накапливаться в огромных количествах, сохраняясь длительное время даже при отсутствии источников углеродного питания.

Источником инфекции могут быть и растения. *Pseudomonas aeruginosa* - универсальный патоген, в том числе и фитопатоген, поэтому накопление возбудителя может происходить на определенных видах растений в стационаре, букетах цветов.

Степень эпидемической опасности больного с синегнойной инфекцией зависит от:

- биотипа возбудителя;
- состояния резистентности возбудителя к антимикробным средствам;
- площади раневой поверхности и обильности раневого секрета.

При оценке риска инфицирования необходимо учитывать:

- возможность, число, характер и длительность контактов с источниками инфекции;
- время и место контакта с источником инфекции;
- длительность раневого процесса;
- меры, предпринимаемые персоналом для предотвращения инфицирования.

Однако в любом случае, *Pseudomonas aeruginosa* – возбудитель с широким спектром факторов патогенности, высоким эпидемическим потенциалом и исключительными адаптационными свойствами, что определяет необходимость обязательной изоляции больных в отдельную палату и соблюдения всех мер предосторожности, направленных на предупреждение распространения инфекции.

Факторы и пути передачи инфекции. Контактно-инструментальный путь - основной путь передачи синегнойной инфекции. При этом важнейшим фактором передачи служат руки медицинского персонала. Нарушение технологии деkontаминации рук, отсутствие современного оборудования для обработки рук приводит к высокому риску реализации синегнойной инфекции. Факторами передачи инфекции являются также инструменты, перевязочный, шовный материал. Перевязочный материал служит фактором передачи инфекции чаще, чем металлические инструменты. Причиной контаминации материалов может быть как неэффективная стерилизация, так и нарушения правил асептики при работе со стерильным материалом. Фактором передачи могут быть инфузионные растворы, трансфузионные среды, сосудистые, мочевые, перидуральные, пупочные и др. катетеры.

Фактором передачи может служить вода из кулера, если технология его обработки не соблюдается, а также молочные смеси, жидкие пероральные лекарственные формы, кружки Эсмарха. В этом случае возможно развитие острых кишечных инфекций синегнойной этиологии.

Особое внимание следует обратить на высокий риск передачи *Pseudomonas aeruginosa* при санационных процедурах у пациентов, находящихся на искусственной вентиляции легких, бронхоскопии.

Резиновые баллончики, трубки многократного применения, растворы нитрофурановых препаратов, поролоновые губки, хранящиеся в растворах инструменты после стерилизации также относятся к числу факторов передачи, при которых риск реализации инфекции приближается к 100%.

Высокий риск контаминации *Pseudomonas aeruginosa* несут оснастка раковин без локтевого крана, ручной душ.

Существенным фактором распространения синегнойной инфекции могут служить заражённые предметы обихода, растворы, кремы для рук, полотенца и т. п.

Помимо контактно-инструментального, передача синегнойной инфекции происходит имплантационным, трансплантационным, ангиогенным, аппаратным, водным, алиментарным путями передачи.

Реализация алиментарного пути передачи инфекции возможна при нарушении технологии приготовления пищи и нарушении сроков хранения и ее реализации. Особенно актуальным этот путь передачи может быть у пациентов с нейтропенией.

Передача синегнойной палочки воздушно-капельным путем возможна только при определенных условиях, например в случае контаминации *Pseudomonas aeruginosa* небулайзера или раствора при ингаляциях, либо контаминации раствора для увлажнения кислорода.

При сочетании воздушно-капельного и аппаратного путей передачи инфекции происходит инфицирование пациента с контаминированного аппарата искусственной вентиляции легких. Бактериальному обсеменению подвергаются элементы дыхательного контура, которые находятся в непосредственном или опосредованном через газо-воздушную смесь контакте с кожей и слизистой

оболочкой дыхательных путей. Микроорганизмы распространяются с потоком выдыхаемого газа по линии выдоха дыхательного контура, откуда при работе по реверсионному (закрытому, полуоткрытому) дыхательному контуру микрофлора свободно проникает в линию вдоха.

Восприимчивость

Поскольку развитие инфекции после хирургического вмешательства, родов, манипуляций происходит в необычных для микроорганизма местах обитания, нередко в тканях, в норме являющихся стерильными, все пациенты восприимчивы к развитию синегнойной инфекции. Генетическое внутривидовое разнообразие *Pseudomonas aeruginosa* не позволяет рассчитывать на высокую профилактическую эффективность иммунизации пациентов перед плановыми оперативными вмешательствами.

Факторы риска

Термин “фактор риска” предполагает прямые или опосредованные воздействия, влияющие на исход лечения, увеличивающие вероятность развития у больных инфекционного процесса. Многочисленные факторы риска присоединения синегнойной инфекции могут быть классифицированы на несколько групп:

- эндогенные факторы, связанные с состоянием пациента;
- факторы, обусловленные характером медицинской технологии;
- факторы, связанные с особенностями послеоперационного периода;
- экзогенные факторы, определяемые состоянием антиинфекционной защиты лечебно-диагностического процесса;
- экзогенные факторы, обусловленные состоянием больничной среды.

Эндогенные факторы, связанные с состоянием пациента:

- возраст больного;

- сопутствующая и основная патология;
- сахарный диабет;
- сопутствующие инфекции иной локализации;
- иммунодепрессия;
- эндогенное носительство фторхинолонрезистентных *Pseudomonas aeruginosa*
- нарушение питания;
- толерантность недостаточности кровообращения к консервативной терапии;
- состояние субкомпенсации кровообращения.

Факторы, обусловленные характером медицинской технологии:

- катетеризация магистральных и периферических кровеносных сосудов;
- искусственная вентиляция легких;
- послеоперационная назогастральная интубация;
- длительное использование мочевых катетеров;
- использование в послеоперационном периоде дренажей, трубок, канюлей;
- эндотрахеальная интубация;
- кардиоангиография;
- фиброгастроскопия;
- диагностическая лапароскопия;
- экстракорпоральная детоксикация и др.;
- предшествующая терапия цефалоспоридами III поколения;
- длительная госпитализация;
- обструктивные заболевания легких в анамнезе;

- оперативное вмешательство:
 - тип операции;
 - продолжительность оперативного вмешательства;
 - степень контаминации операционной раны в процессе операции;
 - длина разреза;
 - введение дренажа;
 - локализация проводимого вмешательства, метод операции;
 - продолжительность госпитализации до операции;
 - объем тканевой травмы;
 - объем кровопотери более 30 мл/кг;
 - метод анестезии, применяемые препараты;
 - переливание крови и ее компонентов;
 - наличие гематомы;
 - травма тканей – высушивание или девитализация;
 - наличие и вид имплантата.

Факторы, связанные с особенностями послеоперационного периода:

- длительность нахождения в реанимационном отделении;
- ограничение и изменения физиологических функций организма в послеоперационном период:
 - ограничение подвижности;
 - гиповентиляция;
 - горизонтальное положение;
- неадекватность искусственной вентиляции легких (по показателям кислотно-щелочного состояния крови);

- неудовлетворительный периферический кровоток в раннем послеоперационном периоде (коэффициент сатурации менее 98%);
- длительность искусственной вентиляции легких;
- наличие гиперволемии (гидробаланс более 30 мл/кг);
- наличие полиорганной недостаточности в послеоперационном периоде;
- длительность дренирования средостения, плевральной полости;
- наличие в раннем послеоперационном периоде респираторного дистресс-синдрома взрослых;
- дисфункция кишечника в послеоперационном периоде;

Экзогенные факторы, определяемые состоянием антиинфекционной защиты лечебно-диагностического процесса:

- неадекватная антибиотикопрофилактика;
- неадекватная подготовка кожи и уход за ней (дооперационное бритье кожи);
- недостаточный уровень подготовки медицинского персонала;
- отсутствие в операционной подачи стерильного воздуха, автоматического закрывания дверей и других технических средств антиинфекционной защиты;
- излишние передвижения в операционном блоке;
- неадекватная дезинфекция;
- применение многоразового инструментария;
- неэффективная стерилизация;
- нарушение правил асептики при выполнении процедур.

Экзогенные факторы, обусловленные состоянием больничной среды:

- неадекватное разграничение «чистой» и «грязной» территории в связи с ограниченностью помещений;
- теснота размещения коек;
- несоблюдение необходимых изоляционно-ограничительных мер.

Клинические формы

Pseudomonas aeruginosa характеризуется политропностью, что определяет разнообразие клинических проявлений инфекций в зависимости от путей проникновения возбудителя в организм и особенностей организма человека.

Большинство клинических проявлений синегнойной инфекции относится к категории внутрибольничной инфекции.

Инфекция кожи и подкожной клетчатки. Микроорганизмы рода *Pseudomonas* часто выделяют при культуральных исследованиях отделяемого хирургических и ожоговых ран, варикозных язв и пролежней особенно после применения антибактериальной терапии.

Инфекции глаз. Изъязвление роговицы - наиболее тяжелая форма инфекции глаз, вызванной псевдомонадами. Обычно инфекция развивается на фоне травматического поражения глаза и может завершиться панофтальмитом и деструкцией глазного яблока. Загрязнение контактных линз или жидких сред для линз может быть одним из путей заражения глаз псевдомонадами. Чаше синегнойная инфекция осложняет оперативные вмешательства по поводу катаракты.

Инфекции уха, сосцевидного и параназального синусов. Наиболее часто инфекция проявляется в виде воспаления наружного уха, распространенного в регионах с тропическим климатом. Заболевание характеризуется серозно-кровянистым и гнойным отделяемым из наружного слухового канала. Это быстро прогрессирующая тяжелая инфекция. Возможно развитие среднего отита и мастоидита. Особенно подвержены этому заболеванию больные сахарным

диабетом. В противоположность обычному наружному отиту эта инфекция требует хирургического вмешательства и антимикробной терапии. Развитие инфекций этой локализации часто встречается и как результат медицинских вмешательств. Факторами передачи служат руки, инструменты, капли.

Остеомиелит. Остеомиелит подобной этиологии встречается достаточно редко, за исключением тех случаев, когда он развивается как осложнение бактеримии.

Инфекции желудочно-кишечного тракта. Поражение желудочно-кишечного тракта обычно протекает как пищевая токсикоинфекция. Состояние больных нормализуется на 2-3 день заболевания. Прогноз благоприятный.

Менингит. Поражение нервной системы чаще возникает вторично, в связи с заносом инфекции из других очагов инфекции при сепсисе. Возможно и первичное развитие менингита: синегнойная палочка проникает в субарахноидальное пространство при люмбальной пункции, спинальной анестезии, интратекальных медицинских манипуляциях или травмах в области головы. Шунты, накладываемые в связи с гидроцефалией, так же могут быть инфицированы.

Эндокардит. В редких случаях *Pseudomonas aeruginosa* вызывает поражение сердечно-сосудистой системы при хирургических операциях на открытом сердце. Обычно возбудитель имплантируется на шелковых или синтетических нитях, используемых для швов или закрытия дефектов перегородки сердца. У здоровых людей синегнойная палочка обнаруживается на сердечных клапанах у больных с ожогами и наркоманов. Последствиями эндокардитов синегнойной этиологии часто являются метастатические абсцессы в костях, суставах, мозге, надпочечниках и легких.

Инфекции мочевыводящих путей. *Pseudomonas aeruginosa* является частым возбудителем при инфекционных поражениях мочевыводящих путей. Как правило, она обнаруживается у больных с обструктивной уропатией, которые

подвергались повторным манипуляциям на мочеиспускательном канале или урологическим хирургическим вмешательствам.

Пневмонии. Целый ряд проводимых в стационаре манипуляций могут играть роль предрасполагающих факторов в развитии инфекции органов дыхания. К ним относятся: применение седативных лекарственных средств, эндотрахеальная интубация, искусственная вентиляция легких.

Бактериemia. Бактериemia, обусловленная *Pseudomonas aeruginosa*, развивается как результат генерализации местного инфекционного процесса, либо является следствием контаминации имплантированного в кровеносное русло устройства.

При внутрибольничных инфекциях, вызванных *Pseudomonas aeruginosa*, возбудитель локализуется главным образом в ранах (преимущественно ожоговых), крови, на слизистых оболочках дыхательной и мочеполовой систем. Наиболее частые клинические формы этой инфекции – нагноение раны, сепсис, пневмония, перитонит, инфекция мочевыводящих путей. Синегнойный сепсис, как правило, происходит из первично существующих очагов локальной инфекции. Течение инфекций, особенно внутрибольничных, очень тяжелое, выраженный фатальный характер носят септицемии, сопровождающиеся в 35-75% случаев летальным исходом.

Лабораторная диагностика

Диагностика синегнойной инфекции основывается на клинической картине, результатах бактериологического, серологического методов и ПЦР-диагностики.

Бактериологический метод идентификации микроорганизмов является наиболее распространенным в клинических лабораториях. Результаты микробиологического исследования при инфекционных осложнениях в значительной степени зависят от вида патологического материала, времени и способа его взятия. Эти факторы нередко имеют определяющее значение для правильной трактовки результатов исследования.

Для успешного проведения анализа бактериологическим методом большое значение имеет способ взятия исследуемого материала. При взятии материала для исследования следует соблюдать и учитывать следующие важные моменты:

- при заборе и работе с клиническим материалом персонал лаборатории должен использовать соответствующую спецодежду.
- при направлении материала на исследование необходимо исключить вероятность микробной контаминации наружной поверхности транспортного контейнера и сопровождающих образец документов;
- контейнеры для транспортировки материала должны обеспечивать герметичность, стерильность, целостность образцов, а также - исключать при открытии образование аэрозоля. Исследуемый материал следует забирать по возможности до начала антибактериальной терапии;
- наиболее правильный способ взятия жидких материалов - объемный с помощью стерильного шприца. Отбор материала тампоном производят только при невозможности осуществления объемного метода.
- количество клинического материала определяется выбором методов исследования и разумной достаточностью, поскольку недостаточное количество материала может определять ложноотрицательный результат;
- в направлении на микробиологическое исследование необходимо указывать фамилию, имя, отчество, год рождения пациента, номер истории болезни, дату и время забора материала, клинический диагноз, температуру.
- сроки доставки клинического материала должны быть сокращены до минимума.

Нарушение правил взятия биологического материала чревато нежелательными последствиями экономического (излишняя трата расходных материалов) и медицинского характера (повторное взятие биологического материала у пациента, задержка результатов лабораторного исследования, возможность медицинских ошибок).

При поражении наружных покровов диагностика не представляет особого труда. На наличие синегнойной инфекции может указать голубовато-зеленое окрашивание краев и отделяемого ран, перевязочного материала, особенно после обработки H_2O_2 . Бактериологическое исследование в этом случае в основном лишь подтверждает наличие *Pseudomonas aeruginosa*, нередко в ассоциации с другими возбудителями внутрибольничных инфекций.

В общем, схема идентификации *Pseudomonas aeruginosa* включает посев исследуемого материала на специальные питательные среды с ингибитором или в среды накопления с последующим высевом из них на селективные плотные питательные среды.

При целенаправленном исследовании на псевдомонады, в случае госпитальной вспышки инфекции, посев проводят на селективную среду ЦПХ-агар бактериологической петлей или ватным тампоном. Если исследование не является целенаправленным в отношении выявления псевдомонад, то посев производят на любую из общепринятых питательных сред: 1,5% питательный агар, 5% кровяной агар, агар Эндо. Посевы инкубируют в термостате при температуре 37°. Засеянные чашки после инкубации просматривают и отмечают колонии, подлежащие дальнейшему исследованию. Идентификацию выделенной культуры проводят по ряду тестов:

- при микроскопии мазков обнаруживают грамотрицательные неспорообразующие палочки;
- наличие зеленого пигмента - пиоцианина, характерного только для *Pseudomonas aeruginosa*.
- от культуры исходит запах жасмина;

Таким образом, на 2-е сутки можно идентифицировать около 75% культур по морфологии колоний, запаху и образованию сине-зеленого пигмента, а остальную часть довести до вида с помощью дополнительных тестов, и получить окончательный результат на 3-4 сутки. Чистую культуру микроорганизмов

тестируют на чувствительность к антибиотикам. Проведение исследований по оценке антибиотикочувствительности необходимо для решения трех основных задач:

- обоснование назначения оптимальной индивидуальной антибиотикотерапии конкретному больному;
- обоснование эмпирической антибиотикотерапии на основании данных эпидемиологического мониторинга за уровнем резистентных микроорганизмов циркулирующих в лечебном учреждении;
- оценки риска распространения госпитальных штаммов.

Исследование антибиотикочувствительности предполагает последовательное осуществление следующих этапов:

- оценка целесообразности изучения чувствительности к антибактериальным препаратам выделенного микроорганизма;
- выбор антибактериальных препаратов подлежащих включению в исследование;
- выбор методов проведения исследования и контроля качества;
- интерпретация результатов исследования и выдача рекомендаций по лечению.

Микроорганизмы *Pseudomonas aeruginosa* в связи с высокой частотой распространения приобретенной устойчивости подлежат обязательному исследованию на антибиотикочувствительность (табл.3).

Дополнительные препараты по уровню природной активности, как правило, уступают антибиотикам первого ряда, однако во многих случаях, прежде всего по экономическим соображениям, могут быть использованы в терапии.

Существует несколько современных стандартизированных методов для оценки чувствительности: методы серийных разведений и диффузионные

Методы серийных разведений основаны на прямом определении основного количественного показателя, характеризующего микробиологическую активность

антибиотика – величины минимальной подавляющей концентрации (МПК). Для определения величины МПК заданные концентрации антибиотика вносят в питательную среду, которую затем засевают культурой исследуемого микроорганизма, после инкубации оценивают наличие или отсутствие видимого роста.

Таблица 3 – Антибиотики, рекомендуемые для оценки чувствительности *Pseudomonas aeruginosa*

Препараты первого ряда	Дополнительные препараты
Цефтазидим	Азтреонам
Цефепим	Цефоперазон
Гентамицин	Цефоперазон/сульбактам
Амикацин	Тикарциллин/клавуланат
Ципрофлоксацин	Пиперациллин/тазобактам
Меропенем	Карбенициллин
Имипенем	Тобрамицин
	Нетилмицин
	Полимиксин
	Ко-тримаксозол

Для *Pseudomonas aeruginosa* достаточно стандартизован дискодиффузионный метод, который является разновидностью диффузионного метода, тогда как для других неферментирующих бактерий предпочтение следует отдавать методам серийных разведений. Дискодиффузионный метод основан на регистрации диаметра зоны ингибиции роста исследуемого микроорганизма вокруг круглого носителя антибиотика - бумажного диска. Постановка дискодиффузионного метода оценки антибиотикочувствительности включает следующие этапы:

- приготовление питательных сред;
- приготовление суспензии микроорганизма и инокуляцию;

- наложение дисков и инкубацию;
- учет результатов.

Еще одна разновидность диффузионного метода - эпилотметрический метод (E- тест). В качестве носителя используется узкая полоска, пропитанная различными концентрациями антибиотика от минимальных до максимальных. Результатом диффузии антибиотика в среду является образование вокруг носителя каплевидной зоны ингибиции роста. Величину МПК учитывают в том месте, где граница зоны ингибиции роста вплотную подходит к носителю.

Метод удобный и простой в постановке, недостатком эпилотметрического метода является дорогая стоимость полосок с нанесенными концентрациями антибиотиков, поэтому чаще используется в научно-исследовательских и экспериментальных лабораториях.

Серологический метод. При поражении внутренних органов, пневмониях, при многих затяжных внутрибольничных инфекциях выделение и идентификация возбудителя бактериологическим методом затрудняется. В этих случаях проводят серологическую диагностику. Серологический метод основан на обнаружении специфических антител в сыворотке крови. Для этого у пациента забирают 5-10 мл периферической крови в пластиковые или стеклянные пробирки. Диагностическая ценность явления нарастания титра антител не вызывает сомнения. В последнее время широкое распространение получил иммуноферментный метод исследования сыворотки крови, позволяющий при определенной его постановке определять как антитела, так и специфические антигены. Существует метод латекс-агглютинации для обнаружения водорастворимых антигенов слизи синегнойной палочки наиболее распространенных серотипов. Общим недостатком этих методов является вариабельность результатов, зависящая от сероваров культур синегнойной палочки. Поэтому перспективными представляются исследования, направленные

на поиск общевидового антигена возбудителя, пригодного для создания специфических диагностикумов.

ПЦР - диагностика. В последние годы метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) занимает одно из ведущих мест в современной лабораторной диагностике. Чувствительность и специфичность метода достигают 90 – 100%, это позволяет гарантированно обнаруживать в биологическом материале единичные клетки возбудителя. Так же для ПЦР характерно короткое время исследования от 2 до 5 часов, что является большим преимуществом по сравнению с бактериологическим методом. Полимеразная цепная реакция является "золотым стандартом" для диагностики многих инфекций, проверена временем и тщательно апробирована клинически. Показания к применению этого метода начинаются там, где возникают противопоказания к применению классических микробиологических методов. Материалом для исследования может быть: культура бактерий, нуклеиновые кислоты, выделенные из клеток, биологические жидкости, а так же объекты внешней среды. Взятие материала для анализа производится только одноразовыми зондами в пластиковые пробирки типа "Эппендорф" одноразового использования со стерильным физиологическим раствором или антикоагулянтом. Метод ПЦР-диагностики все более широко внедряемый в лабораторную практику, позволяет проводить прямое обнаружение ДНК или РНК возбудителя, что поднимает лабораторную диагностику на принципиально другой уровень.

Методы типирования

Для эпидемиологического анализа и проведения адекватных профилактических и лечебных мероприятий клинические штаммы возбудителя синегнойной инфекции должны быть типированы. Обычно для этого применяют серо-, пиоцино- и фаготипирование. Серологическое типирование культур *Pseudomonas aeruginosa* используют главным образом для следующих целей:

- выявление наличия или отсутствия штаммов синегнойной палочки

преобладающих серологических типов;

- обнаружение идентичности штаммов, выделенных от больных и из окружающей среды;
- выявление доминирования штаммов специфических серотипов в определенный период времени.

Серологическое типирование культур синегнойной палочки производят методом агглютинации на стекле с использованием набора, состоящего из поливалентных сывороток к О- антигенам и моновалентных сывороток к факторам О-антигена.

Типирование клинических штаммов *Pseudomonas aeruginosa* проводят также по способности клеток продуцировать определенные пиоцины. В число нетипируемых входят, как правило, мукоидные штаммы, так как образуемый ими пиоцин оказывается связанным псевдокапсулой и не диффундирует в агар. С помощью пиоцинотипирования обычно выявляются наиболее распространенные типы, что ограничивает их ценность как эпидемиологических маркеров.

Пиоцино - и фаготипирование клинических штаммов синегнойной палочки являются вспомогательными методами, позволяющими более детально дифференцировать эти культуры при проведении эпидемиологического анализа вспышек инфекции и изучения эпидобстановки в стационаре. Однако, эти методы не нашли широкого распространения из-за отсутствия стандартных фагов и пиоцинов.

Из всех перечисленных методов, наиболее воспроизводимые и надежные результаты дают молекулярно-генетические методы, серотипирование, далее следуют пиоцинотипирование, резистенстипирование и наименее эффективным и довольно сложным для постановки является фаготипирование.

К молекулярно-генетическим методам типирования относится амплификация MLVA (анализ множественных tandemных повторов), мультилокусное секвенирование-типирование с последующей оценкой

родственности путем кластеризации или построения дендрограмм.

Широкое применение генодиагностики и генотипирования позволит повысить уровень диагностики инфекции, вызванных *Pseudomonas aeruginosa* и предоставит возможность более полного эпидемиологического слежения за распространенностью различных вариантов их возбудителей.

Резистентность

Природная резистентность. К основным группам антибиотиков, обладающих клинически значимой антипсевдомонадной активностью, относятся беталактамы, аминогликозиды и фторхинолоны.

Одним из важных факторов, определяющих спектр природной чувствительности (устойчивости) *Pseudomonas aeruginosa* к антибиотикам, является строение ее внешней мембраны. Основным компонентом внешней мембраны у *Pseudomonas aeruginosa*, как и у других грамотрицательных микроорганизмов, является липополисахаридный слой, практически непроницаемый для экзогенных гидрофильных веществ (моно- и дисахаридов, аминокислот, коротких пептидов), транспорт которых внутрь бактериальной клетки осуществляется через пориновые каналы. Пориновые каналы представляют собой воронкообразные белковые структуры (пориновые белки), встроенные в липополисахаридный слой.

Из клинически значимых антибиотиков гидрофильными свойствами обладают беталактамы, мишенью действия которых являются пенициллинсвязывающие белки (ПСБ), локализованные в цитоплазматической мембране. Следовательно, для проявления активности беталактамным антибиотикам необходимо, преодолев внешнюю мембрану, попасть в периплазматическое пространство.

Основным пориновым белком, ответственным за транспорт беталактамных антибиотиков через внешнюю мембрану, является OprF. Определенную роль играют также белки OprC, OprE, OprB. У *Pseudomonas aeruginosa* описан

своеобразный пориновый белок - OprD (ранее именовавшийся D2), который используется только для транспорта карбапенемных антибиотиков. Естественными субстратами для OprD являются дипептиды, с которыми карбапенемы обладают определенным структурным сходством .

Различия в уровне антипсевдомонадной активности отдельных беталактамов в значительной степени объясняются различиями в их способности диффундировать через внешнюю мембрану *Pseudomonas aeruginosa*. Наибольшую природную активность проявляют карбапенемные антибиотики (меропенем несколько активнее имипенема), поскольку они обладают сравнительно небольшой молекулярной массой, кроме этого, их транспорт через внешнюю мембрану облегчает наличие в молекуле двух противоположных электрических зарядов. Далее в порядке убывания антипсевдомонадной активности следуют: цефалоспорины IV поколения цефпиром и цефепим, азтреонам, цефалоспорины III поколения цефтазидим, цефоперазон и цефпирамид, уреидопенициллины (прежде всего пиперациллин), тикарциллин и карбенициллин.

На уровень природной активности беталактамных антибиотиков в отношении *Pseudomonas aeruginosa* оказывает влияние также способность этого микроорганизма к синтезу индуцибельных хромосомных бета-лактамаз. Указанные ферменты относятся к классу C, они разрушают все беталактамы, кроме карбапенемов и некоторых цефалоспоринов IV поколения, их активность не подавляется такими ингибиторами как сульбактам, клавуланат, тазобактам. Синтез ферментов начинается после контакта с аминопенициллинами, цефалоспорины I-II поколений, карбапенемами. Карбоксипенициллины, уреидопенициллины, цефалоспорины III поколения являются слабыми индукторами, но чувствительны к гидролизу этим ферментом.

Таким образом, уровень природной активности беталактама в отношении *Pseudomonas aeruginosa* зависит от баланса трех его свойств: способности проникать через внешнюю мембрану микроорганизма, способности индуцировать

синтез хромосомных бета-лактамаз и устойчивости к гидролизу этими ферментами.

Гидрофобные (липофильные) и амфифильные антибиотики, такие как фторхинолоны, тетрациклины и хлорамфеникол, способны проникать через внешнюю мембрану грамотрицательных микроорганизмов (в том числе псевдомонад), минуя пориновые каналы. Липофильные антибиотики достаточно хорошо проникают и через цитоплазматическую мембрану в цитоплазму, где локализуются мишени их действия (рибосомы и ферменты топоизомеразы). Однако, несмотря на хорошую способность проникать через внешнюю мембрану *Pseudomonas aeruginosa*, перечисленные антибиотики обладают лишь незначительной антипсевдомонадной активностью или вовсе лишены ее. Фактором, ограничивающим уровень их природной активности, является наличие у *Pseudomonas aeruginosa* (и других псевдомонад) механизма активного выведения липофильных антибиотиков из цитоплазмы - выброса. Система, осуществляющая выброс, состоит из трех белков. Белки MexA и MexB связаны с цитоплазматической мембраной и осуществляют транспорт из цитоплазмы в периплазму, белок OprM локализован во внешней мембране и осуществляет выведение из периплазмы во внешнюю среду. Гены белков MexA, MexB, OprM организованы в единый оперон, уровень их экспрессии регулируется геном mexR. Кроме описанной, у *Pseudomonas aeruginosa* существуют и другие системы выброса.

Из группы гидрофильных антибиотиков наибольшее клиническое значение имеют фторированные хинолоны, а среди них ципрофлоксацин, обладающий максимальной антипсевдомонадной активностью. Новые фторхинолоны, в частности клинафлоксацин, проявляют более высокую антипсевдомонадную активность.

На уровне природной активности аминогликозидных антибиотиков особенности строения внешней мембраны и системы выброса *Pseudomonas*

aeruginosa сказываются лишь в незначительной степени. Транспорт этих препаратов через внешнюю мембрану осуществляется в результате феномена самоактивации. Аминогликозиды вытесняют дивалентные катионы из участков их связывания в липополисахаридном слое, что приводит к дестабилизации и повышению проницаемости последнего. Транспорт аминогликозидов через цитоплазматическую мембрану микроорганизмов является энергозависимым. Наибольшую природную активность в отношении *Pseudomonas aeruginosa* проявляют тобрамицин, гентамицин, нетилмицин, сизомицин и амикацин. "Старые" аминогликозиды (стрептомицин, канамицин, неомицин) существенно уступают перечисленным антибиотикам.

Приобретенная антибиотикорезистентность *Pseudomonas aeruginosa* и ее механизмы. Беталактамы. Приобретенная резистентность к этой группе антибиотиков является весьма распространенным явлением среди *Pseudomonas aeruginosa*. Основным механизмом резистентности является дерепрессия продукции хромосомных бета-лактамаз класса С. Основой феномена являются мутации в генах, регулирующих продукцию указанных ферментов. Мутации, ведущие к дерепрессии синтеза хромосомных бета-лактамаз, возникают спонтанно, независимо от воздействия антибиотиков. Однако на фоне терапии, когда происходит элиминация чувствительных микроорганизмов, штаммы-гиперпродуценты приобретают преимущества. Селекция может происходить на фоне лечения антипсевдомонадными пенициллинами, в том числе и защищенными, а также цефалоспорины III поколения. На фоне лечения карбапенемными антибиотиками селекции не происходит, так как, обладая устойчивостью к гидролизу хромосомными бета-лактамазами, эти препараты подавляют и дерепрессированные мутанты. В меньшей степени подобным свойством обладают цефалоспорины IV поколения. Дерепрессированные штаммы *Pseudomonas aeruginosa* проявляют устойчивость ко всем беталактамным антибиотикам, кроме карбапенемов и, частично, цефалоспоринов IV поколения.

Однако некоторое повышение МПК отмечается и для этих антибиотиков. Кроме хромосомных бета-лактамаз, у *Pseudomonas aeruginosa* описаны многочисленные и разнообразные плазмидные бета-лактамазы, относящиеся к трем основным классам: А, D, и В. Ферменты различаются по своему субстратному профилю (способности разрушать те или иные беталактамы) и по чувствительности к ингибиторам. Для практики важны следующие моменты: бета-лактамазы класса А (TEM, PER, SHV, PSE группы) угнетаются ингибиторами, класса D (ОХА группа) - устойчивы к ингибиторам. И те, и другие не способны разрушать карбапенемные антибиотики. Устойчивость *Pseudomonas aeruginosa* к беталактамным антибиотикам, связанная с продукцией бета-лактамаз класса А (угнетаемых ингибиторами), встречается не часто, вследствие этого защищенные пенициллины (например, пиперациллин/тазобактам) имеют лишь незначительные преимущества в сравнении с незащищенными. Бета-лактамазы класса В (так называемые металлоэнзимы) у *Pseudomonas aeruginosa* встречаются редко, однако они обладают крайне неблагоприятным свойством - способностью гидролизовать карбапенемы.

Основным механизмом устойчивости *Pseudomonas aeruginosa* к карбапенемным антибиотикам является утрата в результате мутации поринового белка OprD (или снижение его экспрессии). Этот механизм в большей степени поражает имипенем, чем меропенем, так как транспорт последнего может осуществляться и через другие пориновые белки. Именно высокой специфичностью белка OprD объясняются наблюдаемые на практике случаи избирательной устойчивости к имипенему при сохранении чувствительности к меропенему, а иногда и к другим беталактамам.

На практике ситуация значительно осложняется тем, что штаммы *Pseudomonas aeruginosa* могут обладать одновременно несколькими механизмами резистентности к беталактамным антибиотикам. Например: дерепрессия хромосомных бета-лактамаз может сочетаться с продукцией плазмидных и со

снижением проницаемости внешней мембраны. Интерпретация результатов оценки чувствительности, а главное - прогнозирование эффективности лечения инфекций, вызванных такими штаммами, связаны со значительными трудностями.

Аминогликозиды. Устойчивость *Pseudomonas aeruginosa* к аминогликозидным антибиотикам опосредуется тремя механизмами, перечисленными в порядке возрастания частоты и клинической значимости: модификация участка связывания рибосом с антибиотиками, снижение транспорта внутрь бактериальной клетки (нарушение проницаемости внутренней или внешней мембраны), ферментативная инактивация антибиотиков. Инактивация аминогликозидных антибиотиков осуществляется путем модификации их молекулы тремя группами ферментов: ацетилтрансферазами (присоединяют остаток уксусной кислоты), фосфотрансферазами (присоединяют остаток фосфорной кислоты) и нуклеотидилтрансферазами (присоединяют остаток адениловой кислоты). Гены перечисленных ферментов локализованы на плазмидах. Каждый из аминогликозидмодифицирующих ферментов обладает характерным субстратным профилем. К сожалению, достаточно часто штаммы *Pseudomonas aeruginosa* могут продуцировать одновременно несколько ферментов. Вследствие этого, оценив чувствительность к некоторым из аминогликозидных антибиотиков, прогнозировать уровень чувствительности к другим не представляется возможным. Продукция аминогликозидмодифицирующих ферментов обычно приводит к высокому уровню устойчивости; незначительное снижение уровня чувствительности *Pseudomonas aeruginosa*, как правило, связано с нарушением транспорта аминогликозидов внутрь бактериальной клетки.

Фторированные хинолоны. Как уже было отмечено выше, фторированные хинолоны выводятся из цитоплазмы *Pseudomonas aeruginosa* в результате активности системы выброса MexA-MexB-OprM. Регуляция активности системы выброса осуществляется геном mexR, в результате мутаций в указанном гене уровень экспрессии белков системы выброса может значительно возрасти, что

сопровождается повышением устойчивости *Pseudomonas aeruginosa* к фторированным хинолонам.

Не менее важным механизмом устойчивости к фторхинолонам является модификация мишеней действия этих препаратов. Мишенями действия хинолонов в бактериальной клетке являются два фермента, контролирующих пространственную организацию ДНК (ДНК-гираза и топоизомераза IV). У грамотрицательных микроорганизмов основной мишенью является ДНК-гираза, а у грамположительных - топоизомераза IV. Хинолоны ингибируют активность этих ферментов, связываясь с небольшим участком их молекул, называемым "хинолоновым карманом". При возникновении мутаций (аминокислотных замен) в области "хинолонового кармана", на его участке, обозначаемом как "область, детерминирующая устойчивость к хинолонам", сродство препаратов к ферментам снижается, величина МПК препарата в отношении микроорганизма возрастает, то есть проявляется резистентность. Единичные мутации сопровождаются незначительным повышением МПК; чем больше мутаций накапливается у штамма, тем выше его устойчивость. Так, высокий уровень резистентности *Pseudomonas aeruginosa* к ципрофлоксацину может быть результатом двух мутаций в генах фермента ДНК-гиразы и одной - в генах топоизомеразы IV. Возможно также формирование резистентности в результате селекции мутаций, обеспечивающих повышение активности систем выброса. Вполне реальной является также комбинация нескольких механизмов резистентности, например: модификация чувствительной мишени и усиление активного выброса.

Другие антибиотики. Из антибиотиков других групп определенное клиническое значение в лечении инфекций, вызываемых *Pseudomonas aeruginosa*, может иметь полимиксин В. Механизм его действия связан с нарушением целостности внешней мембраны микроорганизма (действие по типу поверхностно-активных веществ). Достоверных случаев устойчивости *Pseudomonas aeruginosa* к полимиксину В не описано. Показатель

чувствительности к полимиксину В может быть использован для дифференцировки *Pseudomonas aeruginosa* от некоторых родственных микроорганизмов.

По данным наших исследований исключая цефтазидим, ко всем другим исследованным препаратам *Pseudomonas aeruginosa* выявила рост числа резистентных штаммов. Доля мультирезистентных форм составила $16,12 \pm 1,02\%$. В многолетней динамике (1983-2009 гг.) доля резистентных к гентамицину штаммов выросла в 8,63 раза (рис.6).

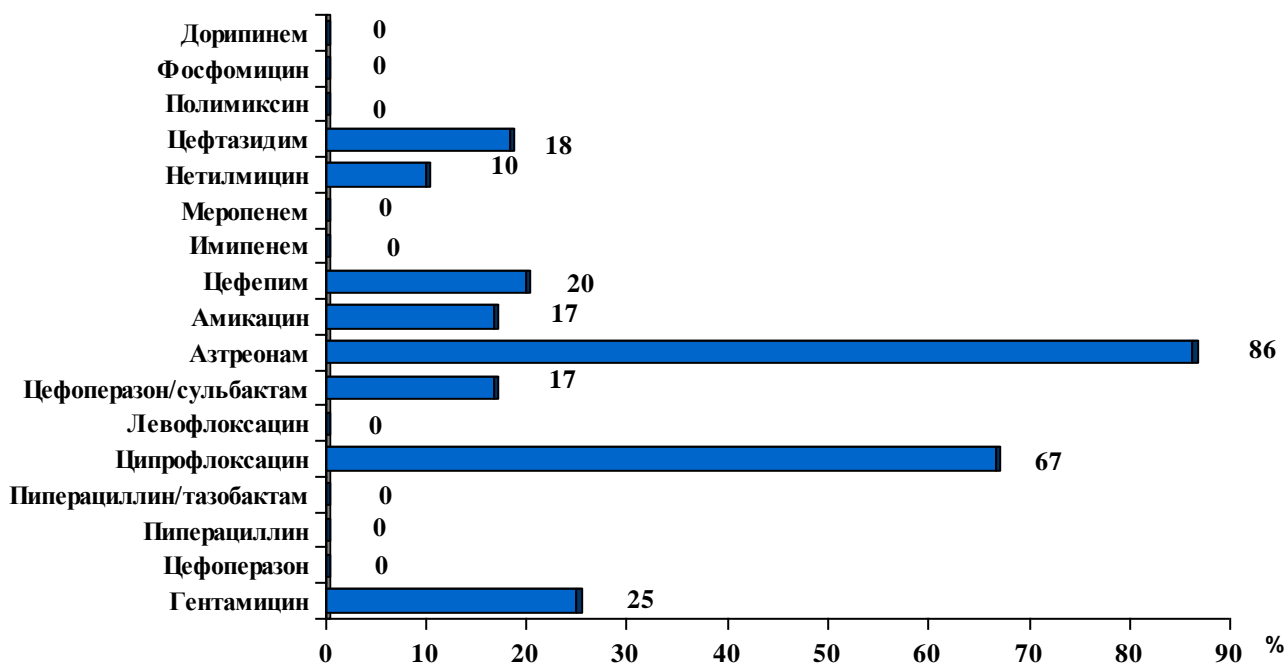


Рисунок 6 – Частота резистентных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* к антибактериальным препаратам в лечебно-профилактических учреждениях города Кемерово (%)

Профилактические мероприятия

На протяжении истекших столетий были выработаны основные принципы профилактики внутрибольничных инфекций и сформулировано большое количество правил и способов, обязательное выполнение которых предписывается медицинскому персоналу. Важнейшими направлениями в управлении ситуацией по внутрибольничным инфекциям, вызванным *Pseudomonas aeruginosa*, являются:

- организация и обеспечение информационных потоков;
- внедрение современных информационных технологий системы сбора, учета, хранения и передачи информации, ориентированных как на сплошной учет случаев синегнойных внутрибольничных инфекций, так и на проведение выборочной углубленной эпидемиологической оценки отдельных ее форм;
- эпидемиологический анализ заболеваемости;
- эпидемиологическая оценка медицинских технологий и минимизация риска инфицирования;
- организация системы мер, направленных на снижении агрессии лечебно-диагностического процесса;
- обеспечение высокого уровня антиинфекционной защиты медицинских технологий;
- мониторинг *Pseudomonas aeruginosa* и надзор за резистентностью;
- рациональная стратегия и тактика применения антимикробных средств;
- внедрение принципа «индивидуальной изоляции» при выполнении медицинских технологий с высоким риском инфицирования;
- разработка и внедрение стандартов выполнения лечебно-диагностических манипуляций;

- экономический анализ и оптимизация финансовых затрат на обеспечение инфекционной безопасности;
- разработка и внедрение долгосрочных программ профилактики внутрибольничных инфекций.

Реализация этих направлений позволяет эффективно контролировать эпидемическую ситуацию в стационарах, значительно снизить заболеваемость и экономические потери от внутрибольничных инфекций.

Снижение степени агрессии лечебно-диагностического процесса является важнейшим принципом профилактики. В стационаре совместными усилиями специалистов должен проводиться систематический анализ агрессивности применяемых технологий, оперативных доступов, методик и т.д., непрерывный поиск замены высокоагрессивных методик на низкоагрессивные.

Несмотря на то, что влияние степени инвазии на эпидемический процесс внутрибольничных гнойно-септических инфекций различно и может приводить как к снижению заболеваемости, так и к ее росту, целесообразно **ограничивать использование высоко инвазивных процедур** жизненно необходимым перечнем.

Отдельного обсуждения требует **антиинфекционная защита медицинских технологий**, основные принципы которой должны включаться в программы профилактики внутрибольничных инфекций в лечебных учреждениях. Такими принципами являются :

- достижение стандарта качества стерилизации материалов и инструментов, обеспечивающего не более одного нестерильного изделия на миллион простерилизованных;
- замена изделий многоразового использования одноразовыми;
- защита от реинфицирования стерильных материалов;
- разработка и внедрение технологических стандартов и протоколов выполнения медицинских процедур, включающих детальное описание мер антиинфекционной защиты;

- сокращение числа потенциальных источников контаминации материалов, растворов, инструментов за счет ликвидации промежуточных пунктов обработки материалов;
- обеспечение принципа дублирования барьеров защиты от потенциальных источников контаминации;
- разделение «чистых» и инфицированных потоков на всех этапах лечебно-диагностического процесса. Нарушение этого принципа может приводить как к цепной, так и к веерной передаче возбудителей от одного пациента другим. Кроме того, смешение этих потоков служит пусковым фактором в формировании госпитальных штаммов.
- внедрение современных технологий обработки рук медицинского персонала;
- систематическое обучение персонала технологиям профилактики внутрибольничного инфицирования.

Эффективным принципом профилактики является реализация **принципа индивидуальной изоляции**. Выполнение манипуляций пациенту с индивидуальной укладки надежно предупреждает суперинфицирование возбудителями внутрибольничных инфекций и как минимум трехкратно снижает уровень заболеваемости этими инфекциями.

Обеспечение короткого пребывания пациента в стационаре, прежде всего **минимизация сроков дооперационного пребывания** также относится к числу задач первостепенной важности.

В стационаре систематически должны проводиться меры, направленные на **ограничение селекции множественно-устойчивых штаммов микроорганизмов**, в том числе и *Pseudomonas aeruginosa*, что достигается рациональным использованием антимикробных препаратов в клинике. С этих позиций эффективной является обязательная ежеквартальная смена дезинфектантов.

Поддержание оптимальной степени микробиологической чистоты больничной среды предотвращает возможность накопления госпитальных штаммов, однако при этом следует учитывать, что необоснованное использование дезинфектантов или их избыточных концентраций способствует быстрой селекции множественно устойчивых микроорганизмов. Следует избегать избыточного увлажнения поверхностей внешней среды стационара, предпочитая влажной уборке полусухую, использование гелевых форм дезинфектантов жидким. В отделениях, где находятся пациенты с иммунодефицитными состояниями, необходимо предотвращать риск контаминации окружающей больного среды из водопроводных сетей, применяя бактериальные фильтры на этапе подачи воды в палату.

Подготовка воздуха. Для минимизации риска контаминации операционной раны из воздуха операционные должны быть оборудованы системами вентиляции и кондиционирования, предусматривающими положительное давление, исключающее попадание воздуха из менее чистых помещений операционного блока в операционную. Минимальная разница давления в смежных помещениях должна быть не менее 5 Па. Система вентиляции должна обеспечивать 15-кратную смену воздуха за 1 час в операционной и комнате обработки инструментария, 6 – кратную – в предоперационной и 2-х-кратную в других помещениях операционного блока. Кроме того, в операционной 20% обмена воздуха должно происходить не за счет рециркуляции, а за счет подачи новых порций воздуха. Система подготовки воздуха должна быть двухступенчатой. На первой ступени содержание частиц снижается на 30%, на втором этапе – не менее 90%.

Расположение устройств для подачи и отвода воздуха следует максимально оптимизировать, чтобы не допустить образование непроветриваемых мешков, переохладение помещений, слишком высокую подвижность воздуха в помещении или попадание приточного воздуха напрямую в вытяжные отверстия. Воздух должен подаваться под потолком и удаляться на уровне пола. Геометрия

вентиляционной и фильтрационной систем должна обеспечивать возможность проведения регламентных эксплуатационных и профилактических мероприятий.

Системы подачи воздуха должны выбираться с учетом специфики отдельных залов больничного отделения. Для залов пред- и послеоперационных мероприятий, мойки, подготовки хирургов и субстерилизации подходящими могут считаться фильтрующие терминалы, оборудованные высокопроизводительными с эффективностью 99,97% аэрозольными фильтрами (HEPA) в сочетании с различными диффузорами, в том числе обеспечивающими вихревое (турбулентное) распределение воздуха.

Для операционных залов общей хирургии или аналогичных помещений циркуляция воздуха может быть организована по принципу однонаправленного (прямоточного) вертикально/горизонтального потока, частично действующего в операционной зоне (система смешанного потока).

В операционных залах ортопедии, пересадки органов, кардиохирургии, протезирования, нейрохирургии, сосудистой хирургии и др. наиболее подходящими представляются системы однонаправленного вертикально/горизонтального потока по всему операционному залу (система однонаправленного потока).

В операционной допустимая концентрация загрязняющих частиц диаметром от 0,5 до 5 мкм не должна превышать 3 500 /м³, а число КОЕ бактерий < 1/ м³ как во время работы, так и в период, когда операций нет.

В комнатах хранения стерильного материала, предоперационной концентрация загрязняющих частиц диаметром от 0,5 до 5 мкм должна быть аналогична таковой в операционной в отсутствие операций, а во время работы должна составлять 350 000/ м³. Число КОЕ бактерий при этом не должно превышать 10/м³.

В комнатах подготовки мягких материалов к стерилизации вне работы допустимая концентрация загрязняющих частиц диаметром от 0,5 до 5 мкм - 350

000, в работе – 3 500 000/ м³. Число КОЕ бактерий – 100/ м³.

В помещениях дезинфекции и мойки инструментов - допустимая концентрация загрязняющих частиц диаметром от 0,5 до 5мкм до работы - 350 000 000/м³. Число КОЕ бактерий – 200/ м³.

Дополнительными мерами защиты от контаминации операционной раны являются ламинарные потоки воздуха и ультрафиолетовое облучение воздуха.

Систематическая деконтаминация рук медицинского персонала относится к числу едва ли не самых первых сформулированных принципов профилактики внутрибольничных гнойно-септических инфекций и сохраняет свое приоритетное значение. По данным наших исследований, руки медицинского персонала, как фактор передачи, были подтверждены в 89,36% случаев в отделении интенсивной терапии, в 72,46% - при выполнении манипуляций пациенту в хирургическом отделении, в 32,69% - в операционном отделении.

Более половины случаев внутрибольничных инфекций развиваются в результате активизации эндогенной инфекции. Поэтому система профилактики в стационаре обязательно должна предусматривать адекватные схемы **защиты пациента от эндогенного инфицирования**, включающие санацию хронических очагов инфекции до операции; профилактическое применение антибиотиков; применение иммуностимулирующей терапии; селективную деконтаминацию перед операцией органа, содержащего в норме микрофлору, профилактическое применение эубиотиков, обеспечение хорошей хирургической техники выполнения операций.

Обсуждая принципы профилактики, следует учитывать, что эффективность ее определяется **систематическим обучением персонала**. Изучение «выживаемости» получаемых знаний показало, что через 3 месяца после проведенного обучения потери информации составляют в среднем 20% , а через 6 месяцев достигают 60%.

Эпидемиологическая оценка лечебно-диагностического процесса, в том

числе риска инфекционных осложнений медицинских технологий также может быть определена как важнейшее направление профилактики внутрибольничных инфекций в стационаре.

Реализация этих принципов должна быть отнесена к числу обязательных при разработке стандартов качества оказания медицинской помощи.

Профилактика внутрибольничных инфекций мочевыводящих путей

Комплекс мероприятий по профилактике внутрибольничных инфекций мочевыводящих путей включает:

- прерывание миграции бактерий в мочевыводящие пути;
- применение катетеризации мочевого пузыря по абсолютным показаниям;
- применение катетеров минимально допустимых размеров из биоинертных материалов;
- разработку стандартов антиинфекционной защиты процедуры и выполнение в строгом соответствии с ними катетеризации мочевого пузыря, смены и опорожнения мочеприемников, уделяя особое внимание обработке рук;
- надежную фиксацию мочевого катетера и обеспечение свободного тока мочи;
- использование закрытых дренажных систем;
- проведение ежедневного ухода за периуретральной областью у катетеризированных пациентов;
- использование индивидуальных контейнеров для опорожнения мочеприемника у каждого пациента;
- минимизацию продолжительности катетеризации мочевого пузыря и дренирования мочевыводящих путей;
- исключение использования препаратов нитрофуранового ряда для санации мочевыводящих путей;

- обучение медицинского персонала стандартам проведения катетеризации и ухода за катетеризированными пациентами.

Для предупреждения перекрестного инфицирования и суперифицирования катетеризированных пациентов необходима изоляция инфицированных пациентов с уретральными катетерами от неинфицированных.

Планировка больничного отделения должна быть выполнена таким образом, чтобы исключалась возможность прохода из помещения с низким уровнем чистоты в помещения с более высоким уровнем чистоты, при этом двери коммуникативных тамбуров не должны открываться одновременно.

Профилактика пневмоний, связанных с искусственной вентиляцией легких

Суммируя данные многоцентровых рандомизированных исследований, посвященных проблеме инфекций дыхательных путей у пациентов, находящихся на искусственной вентиляции легких, можно сформулировать следующие принципы профилактики:

- эффективное лечение основного заболевания (сокращение сроков интубации, сроков пребывания в отделении интенсивной терапии, элиминация внутренних факторов риска);
- рациональный выбор аппаратуры для искусственной вентиляции легких;
- использование только стерильной ингаляционной аппаратуры и ампул, содержащих одну дозу лекарственного вещества;
- адекватный уход за эндотрахеальными трубками и трахеостомами (своевременное удаление накапливающихся секретов; промывание трахеостом и прилегающих областей);
- адекватное увлажнение кислородо-воздушной смеси для предупреждения пересыхания слизистой, нарушающего функцию реснитчатого эпителия;

- санация трахеобронхиального дерева с соблюдением требований асептики (гигиеническая дезинфекция рук, использование стерильных перчаток, использование отсасывающих катетеров однократного применения, использование стерильных жидкостей для орошения);
- регулярный уход за полостью рта;
- адекватная обработка дыхательной аппаратуры;
- своевременная экстубация;
- своевременное удаление назогастрального зонда;
- адаптация питания в соответствии с функцией кишечника;
- минимизация применения средств для профилактики стрессовых язв;
- рациональное применение антибиотиков.
- исключение из применения нитрофурановых препаратов.

Профилактика послеоперационной пневмонии.

Профилактика послеоперационной пневмонии достигается нормализацией дыхания и предупреждением скопления секретов в нижних дыхательных путях. С этой целью применяется стимуляция откашливания, глубокое дыхание, физиотерапия на область грудной клетки, приподнятое положение ($\geq 30^{\circ}$), ранняя активизация больного.

Важной мерой является рациональное использование антибиотиков. Поэтому как во всех хирургических отделениях, так и тем более в отделении интенсивной терапии должны быть разработаны протоколы применения антибиотиков при конкретных нозологических формах и жесткое соблюдение их.

Профилактика ангиогенных осложнений.

Основными мерами профилактики являются:

- обучение персонала;
- внедрение протоколов работы с внутрисосудистыми устройствами, а также выполнения инфузий и трансфузий;

- систематический осмотр места имплантации катетера;
- информирование пациента о необходимости немедленно сообщать персоналу о любом дискомфорте в области имплантации внутрисосудистого устройства или появлении лихорадки;
- обработка рук перед манипуляциями с катетером с обязательным применением антисептиков;
- использование стерильных перчаток обязательно при постановке центральных венозных или артериальных катетеров; при постановке периферического катетера требование стерильных перчаток не является обязательным. Перчатки могут быть и не стерильными, но после нанесения антисептика на кожу пациента в месте, где планируется введение периферического катетера, запрещается трогать руками в перчатках место вкола;
- в уходе за катетером обязательная обработка места имплантации как до имплантации, так и вовремя смены повязок либо спиртовым антисептиком, либо спиртовым, содержащим хлоргексидин, либо йод-содержащим антисептиком. Допускается ожидание высыхания на воздухе антисептика в месте имплантации катетера, даже если это время превышает 2 минуты;
- при уходе за катетером следует использовать только стерильную марлевую или прозрачную и полупрозрачную повязки. Смена повязки должна производиться не реже одного раза в неделю, если нет иной надобности, у детей – не реже одного раза в 3 дня. Прозрачные пленочные повязки могут меняться 1 раз в неделю;
- не рекомендуется использовать повязки, содержащие антибиотик (исключая пациентов, находящихся на гемодиализе). Следует защищать катетер от воды во время принятия пациентом душа.

- следует выбирать оптимальный для данного случая вид катетера и место имплантации. Не следует оставлять катетер дольше необходимого времени.
- удаление периферического катетера не позднее 72-96 часов от момента имплантации в целях профилактики тромбофлебитов и последующего развития инфекции;
- если катетер был имплантирован в экстренных условиях и нельзя гарантировать асептичность процедуры, удаление его при первой возможности, но во всех случаях не позднее 48 часов с момента имплантации;
- удаление катетера при первых признаках его инфицирования;
- тщательное документирование процедуры имплантации внутрисосудистого катетера;
- проведение замены инфузионной системы и других присоединенных к ней устройств не реже, чем через 24 часа в случае, если проводилась трансфузия компонентов крови, липидсодержащих эмульсий, независимо от того, были они назначены отдельно или в комбинации с аминокислотами или глюкозой; во всех других случаях, в том числе когда назначены изолированно аминокислоты или декстроза, инфузионная система может не меняться в течение 72 часов. В случае пропифол-инфузии смена системы производится один раз в 6 или 12 часов (время определяется рекомендациями производителя);
- выполнение работы с портами инфузионной системы с асептической техникой. В этом случае нет необходимости менять соединенные вставки системы или заглушки портов чаще, чем раз в 72 часа;
- завершение инфузии липидсодержащего раствора в течение 24 часов, а инфузии липидной эмульсии – в течение 12 часов, трансфузии

препаратов крови - в течение 4 часов. Рекомендаций по ограничению продолжительности инфузии других растворов нет;

- обработка всех портов и заглушек при использовании спиртосодержащим антисептиком;
- введение всех доз лекарственных препаратов в сплошном непрерывном потоке основного раствора;
- приготовление инфузионных растворов только в аптеке или в заводских условиях;
- использование упаковки с лекарственными средствами, содержащими одну дозу;
- запрет на использование упаковок, целостность которых нарушена, либо изменены физико-химические свойства (цвет, мутность и т.д.), либо имеются посторонние включения, либо истек срок годности;
- при использовании мультидозной упаковки лекарственного препарата, обеспечение хранения ее в холодильнике в течение срока, оговоренного производителем. Крышка флакона всякий раз должна быть обработана спиртосодержащим антисептиком и во всех случаях должен использоваться только одноразовый стерильный шприц для набора препарата из флакона. Во всех случаях, когда имеется сомнение в стерильности раствора, содержащегося в мультидозной флаконе, этот флакон должен быть немедленно утилизирован.
- использование катетера с минимальным числом портов;
- -использование катетера с импрегнированным антибиотиком (миноциклин/рифампин) или антисептиком, если катетер в центральной вене будет стоять более 5 дней у взрослых (для детей нет таких рекомендаций);
- использование полностью имплантированного (тунеллированного) катетера для продолжительной инфузионной терапии;

- преимущество использования для установки центрального катетера подключичной вены;
- использование отдельного порта для измерения давления и для парентерального питания;
- жесткое соблюдение правила не открывать инфузионную систему без крайней необходимости.

В отделениях, проблемных по синегнойной инфекции, рекомендуется отдавать предпочтение дезинфектантам с кислой рН и тщательно исключать избыточное увлажнение поверхностей, влажные коврики, хранение влажной ветоши, открытых емкостей с водой или растворами.

В проблемных отделениях с профилактической целью показано применение во внешней среде синегнойного бактериофага.

Обязательным условием является использование бактериофага только после определения к нему чувствительности *Pseudomonas aeruginosa*. Используются могут быть только те серии препарата, которые проявляют высокую литическую активность (105 по Аппельману) к местным штаммам *Pseudomonas aeruginosa*. Бактериофаг с помощью стерильного распылителя утром, после проведения полусухой уборки равномерно наносится на поверхности внешней среды из расчета 2 мл препарата на 1 м² поверхности (возможно разведение препарата 1:1 физиологическим раствором хлорида натрия). Может быть использован как непрерывный, так и интермиттирующий режимы фагирования.

При непрерывном режиме бактериофаг наносится на объекты больничной среды ежедневно, однако продолжительность такого фагирования не должна превышать 3 недель для предупреждения селекции резистентных к фагу *Pseudomonas aeruginosa*.

Интермиттирующий режим предполагает внесение фага во внешнюю среду 1 раз в неделю, однако общая продолжительность профилактического фагирования не должна превышать 2 месяцев. Следует отметить, что бактериофаг может

наноситься в присутствии пациентов, за более, чем столетнюю историю использования этих препаратов не зарегистрировано каких-либо побочных реакций.

Противоэпидемические мероприятия

Противоэпидемические мероприятия включают:

- изоляцию пациента в отдельную палату;
- текущую дезинфекцию в палате;
- заключительную дезинфекцию после выписки, перевода (смерти) пациента обязательной камерной дезинфекцией постельных принадлежностей;
- смену медицинского халата при входе в палату и выходе из нее;
- выполнение манипуляций в палате (перевязок, физиопроцедур, диагностических процедур);
- прием пищи в палате (исключение контакта с другими пациентами);
- тщательная дезинфекция использованного для пациента оборудования;
- дезинфекция игрушек;
- дезинфекция туалетной комнаты, душа;
- обработку рук с использованием спиртсодержащего антисептика перед входом и выходом из палаты медицинского персонала, посетителей; при выполнении любых манипуляций пациенту;
- однократное фагирование или итермиттирующее фагирование синегнойным бактериофагом.

Литература

1. Зубков, М. Н. Неферментирующие бактерии: классификация, общая характеристика, роль в патологии человека. Идентификация *Pseudomonas spp.* и сходных микроорганизмов / М. Н. Зубков // Инфекции и антимикроб. терапия. – 2003. - Т.5, № 1. – С. 24-30.

2. Сидоренко С.В., Резван С.П., Стерхова Г.А., Грудинина С.А. Госпитальные инфекции, вызванные *Pseudomonas aeruginosa*. Распространение и клиническое значение антибиотикорезистентности//Антибиотики и химиотерапия. - 1999. -№3. - с. 25-34.
3. Синегнойная инфекция / А. Ф. Мороз, Н. Г. Анциферова, Н. В. Баскакова; Под ред. А. Ф. Мороз. - М. : Медицина, 1988. - 256 с.
4. Страчунский, Л.С. , Решедько, Г.К. , Стецюк, О.У. , Андреева, А.С. , Щебников, А.Г. Сравнительная активность антисинегнойных антибиотиков в отношении нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных в отделениях реанимации и интенсивной терапии России// Антибиотики и химиотерапия, 2003. - №5. – с.35-46.
5. Руднов, В.А. Современное клиническое значение синегнойной инфекции и возможности ее терапии у пациентов отделений реанимации/В.А. Руднов// Инфекции и антимикроб. Терапия. – 2002. - №6. – С.170-178.
6. Шагинян, И.А., Чернуха, М.Ю. Неферментирующие грамотрицательные бактерии в этиологии внутрибольничных инфекций: клинические, микробиологические и эпидемиологические особенности //Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2005. – Т.7. - №3. – с. 271-285.
7. Botzenhardt, K., Doring, G. Ecology and epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa*. *Pseudomonas aeruginosa* as an Opportunistic Pathogen. 1993. p. 1-7.
8. Craig, W., Ebert, S. Antimicrobial Therapy in *Pseudomonas aeruginosa* Infections. *Pseudomonas aeruginosa* Infections and Treatment. 1994. p. 470-491.
9. Cornelis, P. *Pseudomonas: Genomics and Molecular Biology* (1st ed.). 2008. - Caister Academic Press. <http://www.horizonpress.com/pseudo>.
10. Costerton, W., Anwar, H. *Pseudomonas aeruginosa: The Microbe and Pathogen*. *Pseudomonas aeruginosa* Infections and Treatment. 1994. p.1-17.
11. Delden, C. Virulence Factors in *Pseudomonas aeruginosa*. *Pseudomonas*. 2004. p. 1-7

- 12.. Fick, R. *Pseudomonas aeruginosa*—the Microbial Hyena and Its Role in Disease: An Introduction. *Pseudomonas aeruginosa: The Opportunist*. 1993. p. 1-6.
13. Filho, L., Tateno, A., Martins, K., Chernishev, A., Garcia, D., Haug, M., Meisner, C., Rodrigues, C., and Do, G. “The Combination of PCR and Serology Increases the Diagnosis of *Pseudomonas aeruginosa* Colonization/Infection in Cystic Fibrosis.” *Pediatric Pulmonology*. 2007. Volume 42. p. 938–944.
14. Gillardi, G.L. *Pseudomonas* and related genera. In: *Manual of clinical microbiology*. 5th ed. Balows A., ed. Washington DC. 1991; 429-441.
15. Kenneth, T. *Pseudomonas aeruginosa*. *Nextbook of Bacteriology*. – Science Magazine – June, 4. – 2004. Vol. 304. - p. 1421.
16. Lederberg, J. et al. *Pseudomonas*. *Encyclopedia of Microbiology*. Second Edition. Volume 3. San Diego, 2000. p. 876-891.
17. Lee, D., Urbach, J., Wu, G., Liberati, N., Feinbaum, R., Miyata, S., Diggins, L., He, J., Saucier, M., Déziel, E., Friedman, L., Li, L., Grills, G., Montgomery, K., Kucherlapati, R., Rahme, L., and Ausubel, F. Genomic analysis reveals that *Pseudomonas aeruginosa* virulence is Combinatorial. *Genome Biology*. 2007. Volume 7.
18. Palleroni, N.J. Family I: *Pseudomonadaceae*. In: *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Kraig N.R., Holt J.G. (Eds.). Baltimore 1984; 1: 141-219.
19. *Pseudomonas* Genome Database
20. *Pseudomonas aeruginosa*/ www.en.academic.ru
21. Salimi, H., Owlia, P., Yakhchali, B., Lari, R. Drug Susceptibility and Molecular Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated in a Burn Unit// *American Journal of Infectious Diseases* . -2009.- 5 (4): 308-313.
22. Randall, I. Attachment and Colonization of *Pseudomonas aeruginosa*: Role of the Surface Structures. '*Pseudomonas aeruginosa* as an Opportunistic Pathogen. 1993.- p. 19-36.

23. Smiley, A., and Hassett, D. *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Infections in Cystic Fibrosis. *Biofilms, Infection, and Antimicrobial Therapy*. - 2006. - p. 155-158.
24. Trautmann, M., Lepper, PM, Yaller, M. Ecology of *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care units and the evolving role of water outlets as a reservoir of organism/ - *Infect Control*. – 2005. – Jun; 33(5 Suppl.): S. 41-9.
25. Valls, M., Cases, I., and Lorenzo, V. Transcription Mediated by rpoN-Dependent Promoters. *Pseudomonas*. 2004. - p. 398-302.
26. Wiehlmann, L., Wagner, G., Cramer, N., Siebert, B., Gudowius, P., Morales, G., Ko, T., Delden, C., Weinel, C., Slickers, P., and Tu, B. Population structure of *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007. Volume 104. p. 8101–8106.