

Новые патогены у пациентов с муковисцидозом: *Inquilingus limosus*

О.В. Кондратенко, А.В. Лямин, Н.Л. Акимова

Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия

В настоящем обзоре приводятся данные о потенциально новом патогене у пациентов с муковисцидозом. Хроническая микробная колонизация респираторного тракта у пациентов с муковисцидозом приводит к частым обострениям патологического процесса в легких и является основной причиной осложнений и смерти. *Inquilingus limosus* — природно полирезистентный микроорганизм, впервые описанный в 1999 году,

как неидентифицированная грамотрицательная бактерия, выделенная от пациента с муковисцидозом. Важным является сбор данных об инфицированности пациентов бактериями рода *Inquilingus* для оценки их клинического значения и факторов персистенции.

Ключевые слова: *Inquilingus limosus*, новый патоген, муковисцидоз.

New Pathogens in Patients with Cystic Fibrosis: *Inquilingus limosus*

O.V. Kondratenko, A.V. Lyamin, N.L. Akimova

Samara State Medical University, Samara, Russia

This paper represents a review of currently available data on potential new pathogen in patients with cystic fibrosis. Chronic microbial colonization of the respiratory tract, leading to exacerbations of pulmonary infection, is the major cause of disease and death in patients with cystic fibrosis. *Inquilingus limosus*, a multidrug-resistant species, was first reported in 1999 as an unidentified gram-

negative bacteria isolated from a patient with cystic fibrosis. Longitudinal studies of infected patients are valuable in evaluating the clinical relevance and the factors influencing persistency of *Inquilingus* spp.

Key words: *Inquilingus limosus*, new pathogen, cystic fibrosis.

Муковисцидоз — генетическое заболевание, обусловленное системной дисфункцией экзокринных желез, является самой частой моногенной патологией с аутосомно-рецессивным типом наследования. По данным ряда авторов, в среднем каждый 25-й представитель европейской расы является носителем гена муковисцидоза (МВ) [1]. Мутации гена при муковисцидозе приводят к нарушению работы белка — *трансмембранного регулятора муковисцидоза* (ТРМВ). Указанный белок содержится в максимальном количестве в эпителиальных клетках дыхательной систе-

мы, слюнных и потовых железах, клетках поджелудочной железы и эпителиоцитах кишечника. ТРМВ является мембранным каналом для активного транспорта ионов хлора и регулятором абсорбции ионов натрия. Нарушение в работе ТРМВ приводит к обезвоживанию секрета бронхов, который становится густым и вязким, что в свою очередь резко снижает мукоцилиарный клиренс. Изменения, обусловленные дефектом работы ТРМВ, являются ведущими факторами повышенной колонизации бронхолегочного дерева различными микроорганизмами у пациентов с МВ. В связи с тем, что инфекционный процесс при МВ патогенетически не связан с первичным нарушением клеточного или гуморального иммунитета, микрофлора, наиболее часто участвующая в воспали-

Контактный адрес:
Артём Викторович Лямин
Эл. почта: avlyamin@mail.ru

нии, значительно отличается по видовому составу от этиологических агентов при других бронхолегочных заболеваниях [1–3].

Длительное время считалось, что основными микроорганизмами, имеющими клиническое значение для пациентов с МВ, являются *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*. Однако за последние годы накопился достаточно большой объем информации о значении для пациентов с МВ новых возбудителей, которые могут существенно влиять на качество жизни и исход заболевания. Среди них наибольшее значение имеют представители *неферментирующих грамотрицательных бактерий* (НФГОБ).

Особенностью данной группы микроорганизмов является высокий уровень природной резистентности ко многим антимикробным препаратам и высокая скорость формирования приобретенной антибиотикорезистентности. Из наиболее значимых представителей НФГОБ можно выделить *Burkholderia cepacia* complex. По мнению ряда авторов, микроорганизмы данной группы значительно влияют на тяжесть течения МВ, что повышает стоимость терапии, имеют склонность к эпидемическому распространению в стационарах, имеют особенности, влияющие на качество микробиологической диагностики. Среди относительно новых этиологических агентов в ряду НФГОБ можно назвать *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans*, представителей родов *Acinetobacter*, *Alcaligenes* и *Pseudomonas* [4, 5].

Однако в научной литературе стали появляться публикации, посвященные клиническому значению для пациентов с МВ бактерии *Inquilingus limosus*, относящейся к совершенно другой группе микроорганизмов, в отличие от НФГОБ. Появление потенциально нового этиологического агента при МВ требует максимальной микробиологической настороженности от врачей-бактериологов и клиницистов, так как недостаточный уровень осведомленности о новом микроорганизме может привести к его широкому распространению среди пациентов с МВ.

Общая характеристика *Inquilingus limosus*

Первая информация о неидентифицированных грамотрицательных бактериях, колонизирующих легкие у пациентов с МВ, которые в последующем были отнесены

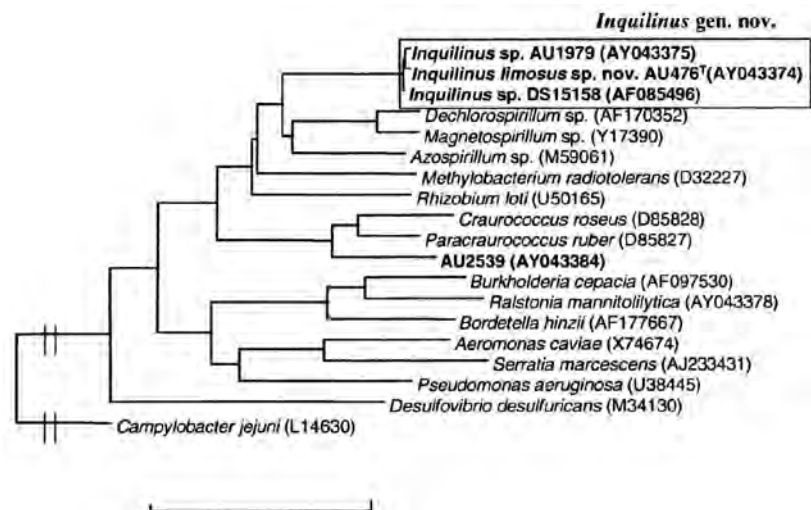
к роду *Inquilingus*, была опубликована в 1999 году [6]. Определение таксономического положения и окончательная идентификация *I. limosus* были осуществлены в 2002 году. Идентификация была проведена с помощью 16S РНК секвенирования (типовой штамм *I. limosus* AU476, AB245352) [7]. В 2011 году был идентифицирован второй представитель рода — *I. ginsengisoli* (типовой штамм Gsoil 080, AB245352), клиническое значение которого не изучено [8]. Свое название микроорганизм получил от латинского слова «limo» — слизь из-за фенотипических особенностей микроорганизма образовывать большое количество внеклеточной слизи.

Бактерии рода *Inquilingus* относятся к семейству *Rhodospirillaceae*, порядок *Rhodospirillales*, класс *Alphaproteobacteria*, тип *Proteobacteria*, домен *Bacteria*. Филогенетически самым близким родом для бактерий *Inquilingus* spp. является род *Azospirillum* (рисунок) [7].

Бактерии рода *Inquilingus* представлены грамотрицательными палочками с аэробным типом дыхания, не образующими спор, способными образовывать внеклеточную слизь, оксидазо- и каталазоположительные. На искусственных питательных средах растут медленно, температурный оптимум — 36°C. Плохо растут на агаре МакКонки. Среда для культивирования: 5% кровяной агар с бараньей кровью, селективные среды для культивирования *Burkholderia cepacia* complex, содержащие полимиксин В или колистин и тикарциллин [9].

Эпидемиология *Inquilingus limosus*

Известно, что бактерии рода *Inquilingus* обитают в морских донных отложениях, а также в почве [8, 10]. Тем не менее, с 1999 года отмечаются высе-



Дендрограмма, характеризующая положение бактерий рода *Inquilingus* [7].

вы *I. limosus* из отделяемого нижних дыхательных путей у пациентов с МВ [4].

В 2002 году в первой публикации, в которой описывается *I. limosus* как новый вид, приведены данные о 7 изолятах, выделенных от пациентов из США [8]. В 2005 и в 2006 годы были описаны случаи выделения *I. limosus* от пациентов с муковисцидозом в Германии у 2 и 6 пациентов соответственно [9, 11]. В 2005 году опубликованы данные о выделении *I. limosus* у 5 пациентов во Франции [12]. В 2007 году описан первый случай выделения *I. limosus* от пациента с МВ в Великобритании [13]. В 2014 году опубликован первый отчет с описанием выделения *I. limosus* от пациента с МВ в Италии [14].

По данным авторов приведенных исследований, эпидемического распространения штаммов от пациентов проследить не удалось. Приводятся данные о том, что у одного из колонизированных *I. limosus* пациентов с МВ был брат, который не был колонизирован *I. limosus*, несмотря на то что оба брата проживали в одном доме [12]. По данным авторов из Германии, среди 3 пациентов, посещающих одну поликлинику и колонизированных *I. limosus*, были изолированы 3 разных клона, что предполагает отсутствие потенциального заражения друг от друга [11]. Следует отметить, что практически во всех случаях штаммы *I. limosus* были выделены от молодых пациентов (средний возраст $17 \pm 6,47$ лет). Только в одном случае было описано выделение *I. limosus* от 2-летнего пациента, при этом авторы делают заключение о высокой вероятности внутрибольничного заражения [15].

Тем не менее, практически все авторы считают целесообразным проведение скринингового обследования пациентов с МВ на колонизацию *I. limosus* с целью накопления достаточного количества данных о способности его к распространению среди пациентов как во вне больничных условиях, так и во внутрибольничной среде.

Клиническое значение *Inquilinus limosus*

Все авторы отмечают отсутствие четких данных об участии *I. limosus* в патологическом процессе. Однако следует учитывать факт доказанной длительной колонизации штаммами *I. limosus* пациентов с МВ, при этом в некоторых случаях в значительных титрах — до 10^5 [11–14]. По данным авторов из Германии, у обоих пациентов с выделенными штаммами *I. limosus* в 2005 году достоверно выявить участие данного микроорганизма в патологическом процессе не удалось. Тем не менее, было показано, что у одного из пациентов штамм *I. limosus* выделялся длительное время. У обоих пациентов штаммы обладали способностью к выделению внеклеточной

слизи (мукоидный рост на плотных питательных средах). Исходя из приведенных фактов, авторы делают заключение о высокой вероятности персистирувания штаммов *I. limosus* в дыхательных путях и о возможном участии в хроническом воспалении слизистой бронхолегочной системы [9].

Кроме пациентов с МВ, в 2006 году был описан случай выделения бактерий рода *Inquilinus* из крови от пациента с эндокардитом [16].

Методы выделения и идентификации *Inquilinus limosus*

Выделение чистой культуры *I. limosus* из клинических образцов может представлять определенные трудности, обусловленные особенностями роста микроорганизма на искусственных питательных средах.

Следует отметить, что видимый рост *I. limosus* на плотных питательных средах появляется в процессе 5-суточного культивирования при температуре 36°C . Данный факт необходимо учитывать в рутинной микробиологической практике, так как штаммы *I. limosus* могут быть просмотрены на фоне быстрорастущей «классической» для пациентов с МВ микрофлоры. Для культивирования *I. limosus* не подходит агар МакКонки, на котором клинические изоляты не растут. Наиболее благоприятные для культивирования условия создаются при посеве клинического материала на 5% кровяной агар с бараньей кровью и на селективные среды для выделения бактерий *Burkholderia cepacia* complex.

Положительный тест на наличие оксидазы и выделение внеклеточной слизи (мукоидный рост на плотных питательных средах) может привести к ложной идентификации данного микроорганизма как синегнойной палочки.

Из существующих на сегодня методов идентификации микроорганизмов для *I. limosus* практически не подходят варианты, основанные на определении биохимических свойств, что обусловлено отсутствием биохимического профиля данного микроорганизма в базе данных производителей коммерческих тест-систем. При использовании биохимических панелей для идентификации чистой культуры *I. limosus* возможно получение профиля бактерий из совершенно других таксономических групп. Так, в работе немецких ученых приведен пример идентификации двух штаммов *I. limosus* от разных пациентов с использованием тест-системы Api20NE® как *Sphingomonas paucimobilis* с высоким индексом идентификации [9]. Низкая ферментативная активность бактерий данного рода практически исключает возможность рутинной идентификации с использованием биохимических тестов.

Однако современные методы позволяют идентифицировать *I. limosus* с помощью 16S РНК секвенирования и MALDI-TOF масс-спектрометрии. Также была разработана методика идентификации *I. limosus* с помощью ПЦР в реальном времени, что позволило выявить колонизацию *I. limosus* за три месяца до выделения культуры из отделяемого нижних дыхательных путей [15].

Особенности антибиотикорезистентности *Inquilinus limosus*

Выделенные штаммы *I. limosus* показали высокий уровень резистентности к ампициллину, цефотаксиму, ко-тримоксазолу, практически ко всем аминогликозидам, пиперациллину/тазобактаму; умеренную резистентность — к цефтазидиму и ципрофлоксацину [9]. Следует отметить, что мукоидные и немучкоидные формы показали сопоставимые результаты по чувствительности к колистину, тобрамицину и имипенему. При этом авторы

отмечают, что мукоидные штаммы формируются под воздействием антимикробных препаратов [17].

Заключение

Бронхолегочное дерево пациентов с муковисцидозом является сложной экологической нишей для потенциальной колонизации и размножения большого количества атипичных для обычных пациентов патогенов, к которым можно отнести *I. limosus*. В связи с этим фактом необходимы обязательное изучение и оценка всех случаев выделения редких и атипичных микроорганизмов от пациентов с муковисцидозом для определения их потенциального участия в патогенезе легочных инфекций у пациентов с МВ. Скрининговое обследование пациентов с МВ на колонизацию *I. limosus* позволит получить дополнительную информацию о клиническом значении и эпидемиологии данного микроорганизма, а также более полную информацию о его антибиотикорезистентности.

Литература

1. Респираторная медицина. Под редакцией А.Г. Чучалина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. — Т. 1.
2. Гембицкая Т.Е., Черменский А.Г., Бойцова А.Е. Муковисцидоз сегодня: достижения и проблемы, перспективы этиопатогенетической терапии. *Врач* 2012; (2).
3. Красовский С.А., Самойленко В.А., Амелина Е.Л. Муковисцидоз: диагностика, клиника, основные принципы терапии. *Практическая пульмонология* 2013; (1).
4. Ашерова И.К., Монахова С.И., Ершова М.Г., Ангелова С.Н., Медведева Е.Н. Распространенность и источники возможного инфицирования больных *Achromobacter xylosoxidans* и *Stenotrophomonas maltophilia* в региональном центре муковисцидоза. *Пульмонология* 2012; (2).
5. Чернуха М.Ю., Шагинян И.А., Капранова Н.И. и соавт. Персистенция *Burkholderia cepacia* у больных муковисцидозом. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии* 2012; (4).
6. Pitulle C., Citron D.M., Bochner B., Barbers R., Appleman M.D. Novel bacterium isolated from a lung transplant patient with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 1999; 37:3851-5.
7. Coenye T., Goris J., Spilker T., Vandamme P., LiPuma J.J. Characterization of unusual bacteria isolated from respiratory secretions of cystic fibrosis patients and description of *Inquilinus limosus* gen. nov., sp. nov. *J. Clin. Microbiol* 2002; 40(6):2062-9.
8. Jung H.M., Lee J.S., Bae H.M., Yi T.H., Kim S.Y., Lee S.T., Im W.T. *Inquilinus ginsengisoli* sp. nov., isolated from soil of a ginseng field. *Int J Syst Evol Microbiol* 2011; 61:201-4.
9. Wellinghausen N., Essig A., Sommerburg O. *Inquilinus limosus* in patients with cystic fibrosis, Germany. *Emerg Infect Dis* 2005; 11:457-9.
10. Saimmai A., Udomsilp S., Maneerat S. Production and characterization of biosurfactant from marine bacterium *Inquilinus limosus* KB3 grown on low-cost raw materials. *Annals of Microbiology* December 2013; 63:1327-39.
11. Schmoltdt S., Latzin P., Heesemann J., Griese M., Imhof A., Hogardt M. Clonal analysis of *Inquilinus limosus* isolates from six cystic fibrosis patients and specific serum antibody response. *J Med Microbiol* 2006; 55:1425-33.
12. Chiron R., Marchandin H., Counil F., et al. Clinical and microbiological features of *Inquilinus* sp. isolates from five patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 2005; 43:3938-43.
13. Cooke R.P., O'Neill W.A., Xu J., Moore J.E., Elborn J.S. *Inquilinus limosus* isolated from a cystic fibrosis patient: first UK report. *Br J Biomed Sci* 2007; 64:127-9.
14. Cicatiello A.G., Iula D.V., Pagliuca C., et al. Identification of *Inquilinus limosus* in cystic fibrosis: a first report in Italy. *New Microbiol* 2014; 37:567-71.
15. Bittar F., Leydier A., Bosdure E., et al. *Inquilinus limosus* and Cystic Fibrosis. *Emerg Infect Dis* 2008; 14:993-5.
16. Kiratisin P., Koomanachai P., Kowwigkai P., Pattanachaiwit S., Aswapokee N., Leelaporn A. Early-onset prosthetic valve endocarditis caused by *Inquilinus* sp. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006; 56:317-20.
17. Pino M., Baroni M.R., Meneghetti F., Gutkind G., Di Conza J. *Inquilinus limosus*: biofilm formation in presence of sub-minimal inhibitory concentration of antibiotics. *IAAC* 2014, Abstract 1418.