

## Нетуберкулезные микобактерии: современные возможности видовой идентификации

Лямин А.В.<sup>1</sup>, Ковалёв А.М.<sup>2</sup>, Жестков А.В.<sup>1</sup>, Кондратенко О.В.<sup>1</sup>, Исмагуллин Д.Д.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия

<sup>2</sup> ГБУЗ «Самарский областной клинический противотуберкулезный диспансер имени Н.В. Постникова», Самара, Россия

Контактный адрес:

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

Ключевые слова: нетуберкулезные микобактерии, идентификация, масс-спектрометрия.

В обзоре представлена характеристика общепринятых в России и новых методов идентификации нетуберкулезных микобактерий. Проанализированы возможности и ограничения их реального применения в практике лабораторий противотуберкулезной службы и обычных бактериологических лабораториях. Приведены данные по биохимической идентификации нетуберкулезных микобактерий. Описаны современные методы идентификации нетуберкулезных микобактерий: масс-спектрометрия, хроматографические и молекулярно-генетические методы.

## Nontuberculous mycobacteria: modern possibilities of species identification

Lyamin A.V.<sup>1</sup>, Kovalyov A.M.<sup>2</sup>, Zhestkov A.V.<sup>1</sup>, Kondratenko O.V.<sup>1</sup>, Ismatullin D.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Samara State Medical University, Samara, Russia

<sup>2</sup> Samara Region Tuberculosis Dispensary Named After N.V. Postnikov, Samara, Russia

Contacts:

Artem V. Lyamin  
E-mail: avlyamin@mail.ru

The paper presents up-to-date review on existing methods of identification of nontuberculous mycobacteria. The advantages and limitations of the use of different identification methods in the real practice in specialized TB laboratories and general bacteriological laboratories are considered.

Key words: nontuberculous mycobacteria, identification, mass spectrometry.

Микобактерии – грамположительные, неспорообразующие, неподвижные, строго аэробные бактерии палочковидной формы. Для некоторых видов характерны признаки полиморфизма – образование клеток нитевидной формы с элементами ветвления, схожих по внешнему виду с мицелием грибов. Характерным признаком практически для всех видов рода *Mycobacterium* является выраженная кислотоустойчивость за счет большого количества миколовых кислот в составе клеточной стенки. Бактерии рода *Mycobacterium* относятся к семейству *Mycobacteriaceae* порядка *Actinomycetales*. По биохимическому составу и таксономическому положению наиболее близкими к микобактериям являются представители родов *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Corynebacterium*.

В связи с особым клиническим и эпидемиологическим значением группа микобактерий была разделена на следующие группы: микобактерии туберкулезного комплекса (*Mycobacterium tuberculosis complex*, МТС), нетуберкулезные микобактерии (НТМБ) и *M. leprae*. К МТС по современным данным относятся следующие виды: *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. bovis*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. microti*, *M. mungi*, *M. orygis* [1, 2].

Кроме того, на основе молекулярно-генетического анализа представителей МТС можно разделить на 6 сполитипов, или генетических групп (семейств) штаммов, ряд из которых имеет четкую связь с лекарственной устойчивостью к различным противотуберкулезным препаратам [3].

НТМБ – возбудители микобактериозов человека и различных групп животных, а также многочисленная группа сапрофитов, обитающих в окружающей среде, насчитывающая более 160 видов. По филогенетическому родству часть из НТМБ были объединены в комплексы. В отечественной литературе описаны 3 комплекса НТМБ: *M. avium complex* (*M. avium*, *M. intracellulare*, *M. scrofulaceum*); *M. fortuitum*

*complex* (*M. fortuitum*, *M. chelonae*); *M. terrae complex* (*M. terrae*, *M. triviale*, *M. nonchromogenicum*) [4]. По данным зарубежных авторов на 2015 год были выделены 5 комплексов: *M. avium complex*, *M. terrae complex*, *M. fortuitum complex* (*M. fortuitum*, *M. senegalense*, *M. farcinogenes*, *M. porcinum*), *M. mucogenicum-phocaicum complex*, *M. intracellulare-chimaera complex* [5, 6].

В отдельную группу микобактерий отнесен возбудитель лепры – *M. leprae*.

Видовая идентификация НТМБ в рутинной микробиологической практике имеет значительные ограничения, обусловленные метаболическими, генетическими, культуральными и рядом других особенностей. На сегодняшний день наиболее часто для идентификации микобактерий в лабораториях России используют биохимические, биологические и молекулярно-генетические методы [4]. Дополнительно, чаще в рамках научных исследований, используют высокоэффективную жидкостную хроматографию [7]. С недавнего времени для идентификации НТМБ стал доступен метод время-пролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS).

Несмотря на внедрение новых методов идентификации в отечественной микробиологической практике приоритетным остается разделение НТМБ на группы по культуральным свойствам, что имеет свое отражение даже на уровне ведущих нормативных документов [8]. В первую очередь это обусловлено значительным ограничением использования современных методов идентификации из-за их высокой стоимости или значительной трудоемкости проведения исследования. Во вторую, широким использованием и относительной дешевизной применяемых биохимических и культуральных методов исследования, характеризующихся низкой специфичностью и чувствительностью.

Результатом вышперечисленных фактов является крайне низкая диагностика микобактериозов в России. Несмотря на то, что по классификации групп патогенности, приведенной в

СП 1.3.2322-08, основная масса НТМБ отнесена к IV группе, так как они широко распространены в природе и обладают низкой контагиозностью, работа с ними в микробиологических лабораториях практически не ведется. Исключением являются микробиологические лаборатории противотуберкулезной службы, однако и в них из-за приоритетного направления по диагностике туберкулеза значительная часть НТМБ остается без должного микробиологического внимания. В то же время видовая идентификация НТМБ является основополагающей в определении клинической значимости возбудителя патологического процесса и выборе тактики антимикробной химиотерапии из-за выраженной природной резистентности у большинства видов НТМБ.

### Идентификация НТМБ в клиническом материале при микроскопии

Клеточная стенка микобактерий имеет общие признаки, характерные для грамположительных микроорганизмов, однако содержит большое количество липидов, что значительно влияет на восприятие основных красителей, применяемых в микробиологических лабораториях. Из-за особенностей строения клеточной стенки, практически все микобактерии плохо воспринимают анилиновые красители. Данный факт создает дополнительные трудности в диагностике микобактериозов, особенно внелегочной локализации. Использование специальных методов окраски по Цилю-Нильсену и флюорохромными красителями (аурамин и родамин) дает возможность выявить микобактерии в клиническом материале, но не позволяет провести дифференцировку НТМБ от микобактерий туберкулезного комплекса.

Ряд морфологических признаков, описываемых в литературе могут быть использованы для ориентировочной оценки видовой принадлежности исследуемого микроорганизма: для *M. kansasii* характерны крупные размеры и крестообразное взаимное расположение; клетки *M. xenopi* имеют сужение с одного полюса. Некоторые НТМБ при микроскопии из чистой культуры дают картину, характерную для условно патогенных коринебактерий: расположение в виде штакетника или частокола, утолщения на одном из концов клетки. Также в литературе описывается выраженный полиморфизм НТМБ, характерный для всех представителей порядка *Actinomycetales*. Тем не менее, несмотря на высокую специфичность метода (89-100%), микроскопическое исследование не может быть использовано для видовой идентификации [4, 9].

### Идентификация НТМБ, основанная на культуральных свойствах

На основе способности образовывать пигменты под воздействием света и в темноте, и в зависимости от скорости роста НТМБ были разделены на 4 группы. Приведенная классификация была предложена еще в 1959 году и не пересматривалась до настоящего времени, несмотря на значительное увеличение количества вновь открытых видов.

I группа – фотохромогенные НТМБ. Образуют непигментированные в темноте колонии, приобретающие после культивирования на свету от ярко-желтой до желто-оранжевой окраски. В основном медленно растущие. Наиболее широко распространенные представители: *M. asiaticum*, *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. simiae*.

II группа – скотохромогенные НТМБ. Образуют пигменты при культивировании в темноте, медленно растущие. Представителями данной группы являются *M. aquae*, *M. gordonae*, *M. scrofulaceum*.

III группа – нефотохромогенные НТМБ. Не образуют пигмент или имеют пигменты бледно-желтого цвета, которые не усиливают цвет колоний на свету. Представлены как быстро-

растущими, так и медленно растущими видами. К данной группе относятся *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. xenopi*, *M. terrae*, *M. gastri*, *M. hattey*, *M. bruiiense*.

IV группа – быстрорастущие НТМБ. Они не образуют пигментов, растут до 10 дней. К данной группе можно отнести *M. fortuitum*, *M. phlei*, *M. smegmatis* [4].

С одной стороны, приведенная классификация значительно упрощает работу с НТМБ, с другой практически исключает видовую идентификацию. Указанная упрощенная схема приведена в СП 1.3.2322-08 – видовые названия даны только для возбудителей, отнесенных к 3-й группе патогенности: *M. leprae*, *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. avium*. К 4-й группе патогенности отнесены представители *Mycobacterium* spp.: Photochromogenes, Scotochromogenes, Nonphotochromogenes, Rapid growers [8].

Отдельно следует упомянуть, что при оценке скорости роста в практике лабораторий используются искусственные питательные среды Левенштейна-Йенсена и Финн-2, а также оценка пигментообразования и скорости роста осуществляется при температуре 37°C, несмотря на то, что температурный оптимум для культивирования НТМБ значительно варьирует в пределах от 22°C до 45°C. Зарубежные авторы, учитывая эти особенности, рекомендуют обязательное культивирование посевов для выделения НТМБ при температуре 30°C и 37°C, что не всегда возможно в условиях лабораторий противотуберкулезной службы [10-12].

Еще одной проблемой выделения и идентификации НТМБ в рутинной практике является способность к росту на обычных питательных средах, используемых в практике непрофильных микробиологических лабораторий. Такой «феномен» характерен практически для всех быстрорастущих НТМБ, которые могут давать видимый рост через 48-72 часа и не проявляют характерных признаков, наблюдаемых при культивировании на яичных средах. Данная особенность НТМБ требует от бактериологов особой внимательности при использовании в работе жидких питательных сред для культивирования в автоматических анализаторах. В частности, рекомендуется проводить дополнительную идентификацию культур, выросших раньше срока, допустимого по протоколу исследования, так как такие культуры могут ошибочно считаться «посторонней флорой» (не микобактериями).

Если учесть, что среди быстрорастущих НТМБ более 20 имеют клиническое значение и выделяются достаточно часто не только из отделяемого дыхательной системы, а также и из другого клинического материала, то возникает закономерный вопрос о ценности деления НТМБ на вышеприведенные группы и возможности ориентировочной идентификации данной группы микроорганизмов по культуральным свойствам [2, 9]. Дополнительные трудности по выявлению колоний, подозрительных на НТМБ, в обычных микробиологических лабораториях создает частое формирование дисгонического роста – слабого, стелющегося, выпотевающего. Данный рост при обычных посевах может быть оценен как не значимый, и культура НТМБ не будет выбрана для дальнейшей работы.

### Биохимическая идентификация НТМБ

В связи с широким распространением туберкулеза в СССР и постсоветском пространстве приоритетным направлением в биохимической идентификации микобактерий была и остается дифференциация *M. tuberculosis complex* с НТМБ. По сочетанию определенных культуральных признаков с результатами биохимических тестов возможно в короткие сроки получить ответ о принадлежности микобактерии к одной из групп.

Одним из первых признаков, который определяется в указанной схеме, – способность НТМБ к росту на средах, содержащих салициловокислый натрий. Микобактерии туберкулезного комплекса не способны расти на средах с этой

селективной добавкой. Данный тест позволяет дополнительно выделить из группы НТМБ *M. fortuitum* и *M. chelonae*, т.к. они способны разрушать салициловокислый натрий до катехолов, окрашивающих яичную среду в черно-бурый цвет [9].

Биохимическая идентификация НТМБ основывается на определении нитратредуктазной, арилсульфатазной, амидазной активности (утилизация ацетамида, мочевины, никотинамида, пиразинамида, аллантаина, сукцинамида), способности выделять каталазу, гидролизировать Твин-80, восстанавливать теллурид калия, расти на средах с хлористым натрием. Использование указанных тестов с учетом дополнительных культуральных признаков позволяет с 94%-й специфичностью идентифицировать 9 наиболее часто встречающихся в клинической практике НТМБ: *M. avium*, *M. xenopi*, *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. scrofulaceum*, *M. terrae complex*, *M. gordonae*, *M. fortuitum*, *M. chelonae*. Практически все эти тесты не применяются в обычных непрофильных микробиологических лабораториях. Максимальное количество видов НТМБ, которые возможно идентифицировать по биохимическим и культуральным свойствам, не превышает 45, при этом часть из них имеют схожие биохимические свойства, что значительно ограничивает возможности видовой идентификации, либо делает ее слишком трудоемкой и неоправданно затратной [7, 9, 13, 14].

В реальной практике использование основных биохимических тестов применимо только в лабораториях противотуберкулезной службы и позволяет идентифицировать 10-20 видов НТМБ, что на сегодняшний день не решает задачу активного выделения и идентификации НТМБ в различном клиническом материале.

### Молекулярно-генетическая идентификация НТМБ

Широкое внедрение в практическую работу лабораторий противотуберкулезной службы методов молекулярно-генетической индикации и идентификации МТС и НТМБ связано с возможностью значительно сократить время исследования клинического материала. Всемирная организация здравоохранения рекомендовала включить некоторые из молекулярно-генетических методов в национальные противотуберкулезные программы, как для идентификации микобактерий, так и для определения множественной лекарственной устойчивости [13].

Одной из первых для идентификации НТМБ и индикации их в клиническом материале на практике стали использовать полимеразную цепную реакцию (ПЦР). Несмотря на широкое распространение ПЦР в лабораториях различного профиля у данного метода имеются значительные ограничения, обусловленные набором видоспецифичных праймеров, которые были разработаны и внедрены в рутинную работу.

Вторым направлением молекулярно-генетических методов идентификации НТМБ являются методы гибридизации. Первые варианты идентификации НТМБ с использованием гибридизации были основаны на видовой специфичности ДНК-зондов, которые гибридизуются с рНК микобактерий. Разработанные коммерческие тест-системы позволяют проводить идентификацию ограниченного количества НТМБ (4 вида) и микобактерий туберкулезного комплекса.

Принципиально новым направлением гибридизации является предложенная *Hain Lifescience*<sup>®</sup> методика, основанная на технологии обратной гибридизации продукта ПЦР с видоспецифичными зондами, иммобилизованными на ДНК-стрипах. Для НТМБ разработаны два набора для ступенчатой идентификации 28 видов. В первом наборе представлены наиболее часто встречающиеся микобактерии: *M. avium*, *M. chelonae*, *M. abscessus*, *M. fortuitum*, *M. gordonae*, *M. intracellulare*, *M. scrofulaceum*, *M. interjectum*, *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. marinum*/*M. ulcerans*, *M. peregrinum*, *M. xenopi*; во втором – менее

распространенные виды: *M. simiae*, *M. mucogenicum*, *M. goodii*, *M. celatum*, *M. smegmatis*, *M. genavense*, *M. lentiflavum*, *M. heckeshornense*, *M. szulgai*/*M. intermedium*, *M. phlei*, *M. haemophilum*, *M. kansasii*, *M. ulcerans*, *M. gastrii*, *M. asiaticum*, *M. shimoidei*.

Отличительной особенностью данной системы является то, что она рассчитана для идентификации НТМБ не напрямую из клинического материала, а из культур, выросших на жидких и плотных средах [9, 14].

Наиболее высокоточные результаты по идентификации НТМБ с помощью молекулярно-генетических методов можно получить при использовании ПЦР-секвенирования гена 16S рРНК. Указанная методика является «золотым» стандартом идентификации микроорганизмов. В основе метода лежит амплификация участка гена 16S рРНК с последующим секвенированием двух гипервариабельных регионов. В результате ПЦР микобактериальной ДНК образуется фрагмент между 9 и 1036 положениями нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК в геноме референс-штамма *M. tuberculosis H37Rv*. Секвенирование амплификата осуществляется с использованием различных праймеров. Нуклеотидная последовательность регионов А (150 п.н.) и В (70 п.н.) исследуемого штамма сравнивается с известными последовательностями для разных видов [7]. Метод ПЦР-секвенирования позволяет идентифицировать НТМБ как в чистой культуре, так и обнаруживать ДНК единичных бактериальных клеток в клиническом материале с высокой степенью специфичности и чувствительности. Метод позволяет идентифицировать практически все известные виды НТМБ. Основным недостатком приведенного метода является его стоимость, значительно ограничивающая возможность использования ПЦР-секвенирования в практике как профильных, так и обычных микробиологических лабораторий.

### Хроматографическая идентификация НТМБ

В последнее время в практику лабораторий стали внедряться методы, основанные на хроматографической идентификации микроорганизмов. Одной из первых возможностей использования хроматографии в микробиологии оценила Э. Кинг, которая на основе полученных хроматограмм предложила разделение неферментирующих грамотрицательных бактерий. Из существующих методов хроматографии для идентификации НТМБ лучше всего подходит метод высокоэффективной жидкостной хроматографии миколовых кислот (ВЭЖХ). Метод основан на получении хроматографических паттернов, которые сравниваются с базой данных, содержащей более 75 видов НТМБ. Преимуществами указанного метода является отсутствие зависимости получения результата от возраста культуры; не требуется большое количество материала, количественная характеристика миколовых кислоты стабильна и может использоваться для видовой идентификации с достаточно высокой специфичностью и чувствительностью [7, 9]. Большое количество видов, идентификация которых возможна с использованием ВЭЖХ, является основополагающим для внедрения данного метода в профильные научно-исследовательские учреждения, занимающиеся вопросами диагностики туберкулеза и микобактериозов. Тем не менее у метода имеются и ограничения, связанные с подготовкой проб для анализа, приобретением дорогостоящего оборудования, ограниченно используемого в обычных микробиологических лабораториях.

### Идентификация НТМБ с использованием MALDI-TOF масс-спектрометрии

Значительным событием в научной и практической микробиологии стала разработка метода идентификации микроорганизмов с использованием время пролетной ма-

трично-активированной лазерной десорбции/ионизации масс-спектрометрии (MALDI-TOF). Широкое внедрение масс-спектрометров в практику бактериологических лабораторий во всем мире обусловлено быстротой, точностью, высокой специфичностью и чувствительностью идентификации широкого спектра микроорганизмов как из чистой культуры, так и из некоторого, в норме стерильного клинического материала.

Отличительной особенностью масс-спектрометров производства Bruker® является возможность идентификации НТМБ по специальному оптимизированному протоколу. В дополнительной базе данных содержатся 880 спектров, позволяющих идентифицировать 159 видов НТМБ с точностью 94,4%. При этом в базе данных отдельно учитываются особенности белкового состава НТМБ, выросших на плотных и жидких питательных средах. Несмотря на высокую стоимость самого оборудования, низкая себестоимость одной идентификации дает возможность внедрения технологии в работу лабораторий практически любого уровня.

## Литература

- Alexander KA, Laver PN, Michel AL, Williams M, van Helden PD, Warren RM. Novel *Mycobacterium tuberculosis* complex pathogen, *M. mungi*. *Emerg Infect Dis* 2010;16:1296-9.
- Van Ingen J, Rahim Z, Mulder A, Boeree MJ, Simeone R, Brosch R, van Soolingen D. Characterization of *Mycobacterium orygis* as *M. tuberculosis* Complex Subspecies. *Emerg Infect Dis* 2012;18(4):653-5.
- Концевая ИС, Николаевский ВВ, Садыхова АВ, и соавт. Распространенность генетических групп *Mycobacterium tuberculosis* по районам Самарской области. *Известия Самарского научного центра РАН* 2014;16(1):317-20.
- Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. II / под ред. проф. В.В. Долгова, проф. В.В. Меньшикова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 808 с.
- Adekambi T, Berger P, Raoult D, Drancourt M. RpoB gene sequence-based characterization of emerging non-tuberculous mycobacteria with descriptions of *Mycobacterium bolletii* sp. nov., *Mycobacterium phocaicum* sp. nov. and *Mycobacterium aubagnense* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2006;56:133-43.
- Tortoli E, Rindi L, Garcia MJ, et al. Proposal to elevate the genetic variant MAC-A, included in the *Mycobacterium avium* complex, to species rank as *Mycobacterium chimaera* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2004;54:1277-85.
- Майрова АА. Идентификация нетуберкулезных микобактерий и выбор оптимальной комбинации методов для их видовой дифференциации: Автореф. дис. канд. биол. наук. – Москва: ФГУЗ «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора РФ, 2007. – 26 с.
- Санитарные правила СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных инфекций».
- Руководство по медицинской микробиологии. Книга III. Том первый. Оппортунистические инфекции: возбудители и этиологическая диагностика. Составитель А.С. Лабинская, редактор НН Костюкова. – М.: Издательство БИНОМ. 2013. – 752 с.
- Huitt GA, Daley CL. Nontuberculous mycobacteria. *Clin Chest Med* 2015;36(1):11-2.
- Van Copperaet LE, Kuijper EJ, Lindeboom JA. *Mycobacterium haemophilum* and lymphadenitis in children. *Emerg Inf Dis* 2005;11:62-68.
- Alfa MJ, Sepehri S. Evaluation of BacT/Alert 3D automated unit for detection of nontuberculous mycobacteria requiring incubation at 30 degrees C for optimal growth. *J Clin Microbiol* 2011;49:2691-3.
- Определитель бактерий Берджи. В 2-х т. Т. 2: Пер. с англ. / Под ред. Дж. Холта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. – М.: Мир, 1997 – 386 с.
- Елисеев ПИ. Роль молекулярно-генетических методов в повышении эффективности диагностики туберкулеза с лекарственной устойчивостью микобактерий и микобактериозов: Автореф. дис. канд. мед. наук. – Санкт-Петербург: ГБУВ ВПО «Северный государственный медицинский университет» МЗ РФ, 2013. – 23 с.

## References

- Alexander KA, Laver PN, Michel AL, Williams M, van Helden PD, Warren RM. Novel *Mycobacterium tuberculosis* complex pathogen, *M. mungi*. *Emerg Infect Dis* 2010;16:1296-9.
- Van Ingen J, Rahim Z, Mulder A, Boeree MJ, Simeone R, Brosch R, van Soolingen D. Characterization of *Mycobacterium orygis* as *M. tuberculosis* Complex Subspecies. *Emerg Infect Dis* 2012;18(4):653-5.
- Kontcevaya IS, Nikolaevsky VV, Sadikhova AV, et al. Distribution of *Mycobacterium tuberculosis* genetic groups in Samara region. *Proceedings of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences* 2014;16(1):317-20.
- Clinical laboratory diagnostics: National guidelines. Dolgov VV, Mentshikov VV, editors. M.: GEOTAR-Media, 2013, 808 p.
- Adekambi T, Berger P, Raoult D, Drancourt M. RpoB gene sequence-based characterization of emerging non-tuberculous mycobacteria with descriptions of *Mycobacterium bolletii* sp. nov., *Mycobacterium phocaicum* sp. nov. and *Mycobacterium aubagnense* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2006;56:133-43.
- Tortoli E, Rindi L, Garcia MJ, et al. Proposal to elevate the genetic variant MAC-A, included in the *Mycobacterium avium* complex, to species rank as *Mycobacterium chimaera* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2004;54:1277-85.
- Mayrova AA. Identification of non-tuberculosis micobacteria and the choice of optimal identification methods combination. *Dissertation Synopsis*. Moscow: Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology named under G.N. Gabrichevsky, 2007. 26 p.
- Sanitary rules SP 1.3.2322-08 «Safety of handling III-IV groups of biosafety microorganisms and parasites».
- Manual of Clinical Microbiology. Book III. Volume one. Oppotunistic infections: pathogens and etiological diagnostics. Labinskaya AS, Kostyukova N.N., editors. Moscow: Publisher BINOM, 2013. 752 p.
- Huitt GA, Daley CL. Nontuberculous mycobacteria. *Clin Chest Med* 2015;36(1):11-2.
- Van Copperaet LE, Kuijper EJ, Lindeboom JA. *Mycobacterium haemophilum* and lymphadenitis in children. *Emerg Inf Dis* 2005;11:62-68.
- Alfa MJ, Sepehri S. Evaluation of BacT/Alert 3D automated unit for detection of nontuberculous mycobacteria requiring incubation at 30 degrees C for optimal growth. *J Clin Microbiol* 2011;49:2691-3.
- Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 2. Translated from English. Holt JG, Krieg NR, editors. – Moscow: Mir, 1997. 386 p.
- Eliseev PI. The role of molecular-genetic methods in improving of efficacy of diagnosis multiple resistant tuberculosis and mycobacterial infections. *Dissertation Synopsis*. Saint-Petersburg: North State Medical University, 2013. 23 p.