

***Pseudomonas aeruginosa*: патогенность, патогенез и патология**

А.В. Лазарева¹, И.В. Чеботарь¹, О.А. Крыжановская¹,
В.И. Чеботарь³, Н.А. Маянский^{1,2}

¹ ФГБНУ «Научный центр здоровья детей», Москва, Россия

² Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

³ Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород, Россия

Синегнойная палочка — *Pseudomonas aeruginosa* — входит в число наиболее актуальных возбудителей оппортунистических инфекций. Настоящий обзор литературы содержит анализ публикаций, посвященных молекулярной характеристике факторов вирулентности *P. aeruginosa*, а также патогенезу синегнойной инфекции, представляющему собой каскад сложных реакций между возбудителем и хозяи-

ном. Описаны разнообразные формы синегнойной патологии человека, включая полимикробную инфекцию с участием *P. aeruginosa*. Перечислены основные принципы диагностики, терапии и профилактики синегнойных инфекций.

Ключевые слова: *Pseudomonas aeruginosa*, синегнойная палочка, вирулентность, патогенез, госпитальные инфекции.

***Pseudomonas aeruginosa*: Pathogenicity, Pathogenesis and Diseases**

A.V. Lazareva¹, I.V. Tchebotar¹, O.A. Kryzhanovskaya¹,
V.I. Tchebotar³, N.A. Mayanskiy^{1,2}

¹ Scientific Center of Children's Health, Moscow, Russia

² First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov, Moscow, Russia

³ Nizhniy Novgorod State Medical Academy, Nizhniy Novgorod, Russia

Pseudomonas aeruginosa is one of the most important pathogens causing opportunistic infections. This literature review contains analysis of articles on molecular characteristics of *P. aeruginosa* virulence factors, as well as the pathogenesis of pseudomonal infections, which involves the complex interactions between the microorganism and a host. Different types of pseudomonal infec-

tions, including polymicrobial infections involving *P. aeruginosa* are described. Diagnosis, treatment options, and prophylactic measures for infections caused by *P. aeruginosa* are considered in detail.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, virulence, pathogenesis, nosocomial infections.

Контактный адрес:
Николай Андреевич Маянский
Эл. почта: mayansky@nczd.ru

Синегнойная палочка — *Pseudomonas aeruginosa* — входит в группу лидирующих бактерий-оппортунистов, объединенных термином «ESKAPE»¹, и включающих шесть самых опасных микробов для населения развитых стран [1]. Начав свое «восхождение» в качестве социально-опасного нозокомиального патогена в 60–80-е годы двадцатого века, синегнойная палочка не теряет своей роли и продолжает прогрессировать в госпитальной патологии XXI века.

Синегнойная палочка поражает разнообразием вызываемой патологии, являясь причиной широкого круга заболеваний — от интоксикаций до обширных гнойно-воспалительных процессов и септического шока. Логично, что внимание, уделяемое синегнойной инфекции научно-медицинским сообществом, в течение многих лет остается высоким: согласно статистике ресурса PubMed только в 2013 году проблемам, связанным с *P. aeruginosa*, в мире было посвящено более 2700 научных публикаций. Объем информации о молекулярных механизмах патогенности и антибиотикорезистентности синегнойной палочки расширяется стремительными темпами. На основе этой информации создаются новые способы диагностики синегнойной патологии, разрабатываются методы оценки чувствительности *P. aeruginosa* к антибиотикам.

К сожалению, современная отечественная научная литература, уделяющая достаточное внимание фактологическому описанию эпидемиологии синегнойных инфекций и распространенности резистентных штаммов, не располагает свежими обзорами научной литературы, направленными на обобщение новых данных о молекулярных основах и новых интерпретациях патогенеза синегнойной инфекции.

Настоящий обзор литературы посвящен анализу информации о молекулярных механизмах вирулентности *P. aeruginosa*, о сложностях патогенеза и разнообразии клинических проявлений синегнойной инфекции.

Общая микробиологическая характеристика

P. aeruginosa — это аэробные неферментирующие каталазо- и оксидазопозитивные грамотрицательные подвижные психрофильно-мезофильные бактерии-прототрофы, имеющие прямую или слегка изогнутую палочковидную форму с

содержанием G + C в ДНК примерно 66,2–66,5%. Нуклеоид представлен единичной циркулярной хромосомой. Геном типовых клинических штаммов имеет объем 6,3–6,9 МБ и 5500–6200 открытых рамок считывания, что примерно соответствует аналогичному количеству генов [2]. *P. aeruginosa* обладает необычно большим числом регуляторных генов (по сравнению с другими прокариотами), которые составляют 8,4% общего объема хромосомы. Клеточная стенка и *липополисахарид* (ЛПС) наружной мембраны имеют типичное для грамотрицательных бактерий строение. Как и у других грамотрицательных бактерий, на внешней мембране синегнойной палочки присутствуют поверхностные белки (outer membrane proteins, или OMP) с молекулярной массой от 9 до 87 КДа [3]. В зависимости от типа поверхностные белки выполняют разнообразные функции, включая транспорт (порины) и захват железа (сидерофоры), стабилизируют внешнюю мембрану при физиологических и стрессовых состояниях. Патогенетические свойства поверхностных белков описаны ниже в разделе «Вирулентность и ее регуляция». *P. aeruginosa* не образует спор, формирует полисахаридную капсулу. Синегнойная палочка подвижна, имеет один или два полярно расположенных жгутика. Обладает твичинг-подвижностью (twitching mobility), реализуемой через сокращение-расслабление пилей IV типа. Многие штаммы синегнойной палочки могут образовывать слизь, основой которой является альгинат — гелеобразующий полимер, собранный из β -1,4-связанных мономеров D-маннуроновой и L-гиалуроновой кислоты [4]. В состав слизи могут входить рамнолипиды, Pls- и Pel-полисахариды, дериваты клеточной ДНК, протеины [5, 6].

P. aeruginosa продуцирует богатый спектр окрашенных веществ, которые расцениваются как пигменты [7, 8]. Их можно отнести к трем основным химическим группам — производным феназинов (группа пиоцианина), дериватам хинолина, связанным с пептидной и ацильной цепями (группа пиовердина), и производным гомогентизиновой кислоты (группа пиомеланина). Штаммы, продуцирующие сразу два или три пигмента, немногочисленны, большинство изолятов продуцируют лишь одну «любимую» группу пигментов. Важно помнить, что в клинической практике встречаются беспигментные штаммы синегнойной палочки, роль которых проанализирована ниже (см. раздел «Синегнойная палочка при полимикробной инфекции»). Многие штаммы обладают гемолитической активностью, она воспроизводится на 5% кровяном агаре (с эритроцитами барана). Рост синегнойной палочки часто сопровождается специфичным аро-

¹ Термин «ESKAPE» обозначает группу бактерий, являясь аббревиатурой из первых букв родовых наименований бактерий, входящих в эту группу: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и виды рода *Enterobacter*.

матом, который авторы описывают по-разному, сравнивая с запахом винограда, цветущей липы, жасмина и даже гниющей картошки. Вероятно, что различия в оценке ароматов связаны не только с субъективным восприятием исследователей, но и с индивидуальными особенностями штаммов, продуцирующими разные спектры летучих соединений, главными из которых являются 2-аминоацетофенон, 2,4-диметилхиназолин и 4-метилхиназолин [9]. Встречаются штаммы, не синтезирующие пахучие вещества.

Синегнойная палочка характеризуется универсальностью метаболической активности, используя в качестве источников питания широкий спектр веществ — от простых углеводов и тканевых субстанций организма человека до антимикробных препаратов (этакридина лактата, детергентов, фурацилина и даже формальдегида), что обеспечивает ее широкую экологическую пластичность. Парадоксально, что *P. aeruginosa*, являясь строгим аэробом, может расти и размножаться в бескислородных условиях, где конечным акцептором электронов могут служить нитраты. Именно дыхательный метаболизм, ключевую роль в котором играет *Fe*-содержащая цитохромоксидаза, детерминирует жизненно важную потребность синегнойной палочки в железе. Поэтому *P. aeruginosa* обладает несколькими системами захвата железа из окружающей среды (сидерофорами), к которым относятся пиовердин, псевдобактин, пиохелин, салициловая кислота [10, 11]. Синегнойная палочка реализует пептидазную и протеазную активность (в том числе — желатиназную), а также проявляет липолитическую активность за счет набора ферментов-липаз.

Вирулентность и ее регуляция

Синегнойная палочка обладает большим набором компонентов, которые могут играть роль факторов патогенности, вызывающих повреждение тканей и обеспечивающих выживание *P. aeruginosa* в организме. Факторы патогенности при синегнойной инфекции активно действуют на всех этапах инфекционного процесса — адгезии, инвазии, в случае диссеминации и персистенции, а также вызывают прямую интоксикацию и обеспечивают ускользание от иммунного ответа.

Факторы адгезии (адгезины)

Важнейшим фактором адгезии синегнойной палочки являются пили (реснички, фимбрии). Вторым по значимости факторы адгезии служат белки жгутиков — флагеллярные протеины. В совокупности пили и флагеллин вносят наибольший

вклад в реализацию первого этапа инфекционного процесса — адгезии на тканях человека и абиотических поверхностях [12]. Экспериментальная блокада пилей и флагеллинов не только угнетает адгезию синегнойной палочки в ране, но и снижает ее способность к инвазии [13]. Наибольшую адгезивность проявляют пили IV типа, которые способны взаимодействовать с многочисленными локусами, например с несиалированными углеводными участками сложных биополимеров и ДНК-комплексами, которые могут присутствовать в составе разнообразных элементов нормальных и патологически измененных тканей [14, 15].

P. aeruginosa обладает и другими адгезивными молекулами. В процессе адгезии может участвовать липид А, который инициирует закрепление липополисахарида (частью которого он является) на поверхностных молекулах TLR 1–10 типов (от англ. «toll-like receptors» — толл-подобные рецепторы) на клетках легочной ткани и роговицы [16]. Не совсем понятно, насколько прочны такие контакты механически, но в функциональном плане они могут определять эволюцию инфекционного процесса (см. ниже — раздел «Патогенез и защитные реакции хозяина»). Белки, ассоциированные с поверхностной мембраной, также вносят вклад в адгезивный процесс. Поверхностные протеины из семейств Omp (LptF), Opr (OprQ, OprF) обеспечивают адгезию беспилевых штаммов на многих субстратах, включая муцин, лакто-трансферрин, ламинин, фибронектин и др. [17–20]. На поверхности клетки присутствуют адгезины, распознающие сиаловые кислоты, ганглиозиды, а также адгезивные лектины PA-II и PA-III [21]. Отсутствие специфических сайтов для адгезинов синегнойной палочки на колонизируемой поверхности, например на чистой поверхности катетеров или эндопротезов, не останавливает процесс закрепления. В этом случае *P. aeruginosa* вначале синтезирует прилипающий к инертной поверхности внеклеточный матрикс, который может включать полисахариды (альгинат, полисахариды Pel и Psl), ДНК, белки и рамнолипиды [5]. Затем бактериальные клетки фиксируются на матриксе, используя адгезины, специфично реагирующие с матричными молекулярными комплексами. В качестве матрикс-взаимодействующих адгезинов могут выступать белки пилей, поверхностные белки (CdrA и другие) [5].

Факторы инвазии и диссеминации

Синегнойная палочка активно проникает через тканевые барьеры. Механизмы инвазии включают процессы, направленные на разрушение ткане-

вых барьеров — клеток и межклеточного вещества. В качестве факторов инвазии могут прямо или косвенно выступать ферменты, токсины дистантного и контактного типов, эндотоксин (ЛПС), апоптоз-индуцирующие белки, сидерофоры, вторичные токсины синегнойного и тканевого происхождения.

К числу важнейших протеолитических ферментов инвазии принадлежат два варианта эластазы — LasA и LasB, щелочная протеаза (ArgA), протеаза IV (PrpL). Все они характеризуются активностью в отношении широкого спектра субстратов. Эластазы разрушают эластин, коллаген и фибрин, вызывая деструкцию соединительной ткани и нарушая раневые барьеры; они могут вызывать деградацию иммуноглобулинов классов G и A, интерферонов [22]. Щелочная протеаза активна в отношении фибрина, факторов комплемента и в комплексе с эластазой разрушает молекулы γ - и α -интерферона [22]. Протеаза IV вызывает деструкцию эластина, факторов комплемента, молекул иммуноглобулина G и Fe-связывающих белков человека лактоферрина и трансферрина [23].

P. aeruginosa располагает патогенетически значимыми экзоферментами — липазой (варианты LipA, LipB, LipC) и фосфолипазой C, которые по отдельности, а чаще в синергизме, проявляют гемолитические свойства и разрушают в кровяном агаре мембраны эритроцитов, а в условиях *in vivo* могут дестабилизировать мембраны любых типов клеток млекопитающих, вызывая серьезные некротические изменения в тканях [24, 25].

Синегнойная палочка продуцирует два различных класса экзотоксинов. К первому классу относят экзотоксин A (ExoA), который активно высвобождается бактериями во внешнюю среду через систему Xcp по II типу секреции [26]. Он действует не только местно, но и на расстоянии, транспортируясь через кровь, в которую поступает из инфекционного локуса. Экзотоксин A состоит из трех субъединиц, одна из которых отвечает за рецепцию на α -2-макроглобулинах на поверхности клеток-мишеней, другая обеспечивает транслокацию через плазматическую мембрану, третья, обладая АДФ-рибозил-трансферазной активностью, непосредственно оказывает повреждающий эффект на фактор элонгации-2. Результатом является блокада синтеза белка. Экзотоксин A наиболее активно поражает легочную ткань, паренхиму печени, почек, приводя к некрозам, кровоизлияниям и формированию острой или хронической дисфункции пораженных органов. Он вызывает отек кожи и мягких тканей, воздействуя на клетки сосудов.

Второй класс экзотоксинов отличается по пути высвобождения из бактериальной клетки. Если

большинство ферментов покидает цитоплазму синегнойной палочки через I и II системы секреции, то второй класс экзотоксинов может высвобождаться, используя только III тип секреции, который образно называют «макромолекулярным шприцом» [27]. Название обусловлено тем, что токсин, секретлируемый по III типу, при помощи поверхностного молекулярного комплекса вводится непосредственно в цитоплазму клетки, на которой плотно адгезирована синегнойная палочка. Это приводит к повреждению конкретной клетки, однако делает невозможным воздействие «токсинов III типа» на другие клетки хозяина, не соприкасающиеся с бактерией. Поэтому токсины, высвобождаемые таким образом, называют «контактными». У *P. aeruginosa* обнаружено 4 варианта контактных токсинов [28]. Токсины ExoS и ExoT функционально схожи: они обладают свойствами ГТФ-активирующего протеина и АДФ-рибозилтрансферазы, которые в синергизме вызывают перестройку актина в цитоскелете клетки хозяина, приводящую к ее немедленной гибели. Наиболее опасен для клеток человека ExoU, работающий как внутриклеточная фосфолипаза, которая вызывает быстрый лизис клеток. ExoY является аденилатциклазой. Механизм контактной интоксикации позволяет синегнойной палочке получить серьезное преимущество в противоборстве с иммунной системой, поскольку контактные токсины не выходят во внеклеточную среду, а значит не могут быть нейтрализованы антителами.

ЛПС (эндотоксин) синегнойной палочки может оказывать как генерализованное действие (пирогенность и интоксикация), так и прямой местный токсический эффект. Патогенные свойства ЛПС зависят, в основном, от липида А. Взаимодействие с клетками происходит за счет рецепции элементов ЛПС на молекулярных паттернах, специализированных на распознавании патогенов. Рецепция эндотоксина диких штаммов *P. aeruginosa* запускает каскад иммунных реакций, обеспечивающих подавление патогена. Однако клинические штаммы характеризуются модифицированным строением липида А, который извращает защитные реакции макроорганизма, что приводит к выживанию бактерий и местному гиперповреждению тканей за счет аутоагрессии иммунных эффекторов [29].

В 90-е годы XX века неоднократно писали об энтеротоксине синегнойной палочки [30]. По-видимому, продукты *P. aeruginosa* обладают энтеротоксигенным эффектом, который не определяется какой-либо мономолекулярной структурой. Термин «энтеротоксин» должен расцениваться

как собирательное понятие, которое соответствует нескольким вышеописанным токсинам, действующим синергидно на слизистую кишечника.

Синегнойная палочка обладает способностью продуцировать необычный для патогенов человека токсин — синильную кислоту (гидрогенцианид), которая синетируется при окислительном декарбоксилировании глицина при участии фермента *P. aeruginosa* гидрогенцианидсинтазы [31]. Полагают, что синильная кислота за счет местной и общей интоксикации усугубляет течение хронического бронхолегочного воспаления при муковисцидозных пневмониях, ассоциированных с синегнойной палочкой.

Пигменты также расцениваются в качестве факторов инвазии: пиоцианин вызывает непосредственное повреждение эпителиальных тканей, пиовердин и пиоцианин обладают способностью к прямому гемолизу эритроцитов [32, 33].

Разрушение тканей хозяина может быть следствием апоптоза, индуцированного синегнойной палочкой. Об этом свидетельствуют данные о способности экзотоксина А, пиоцианина, ExoS, белков семейства Opg (мембранные порины), 3-оксо-S12-гомосерин-лактона вызывать каспазозависимый апоптоз клеток млекопитающих [34].

Как уже говорилось, *P. aeruginosa* обладает системами захвата железа, жизненно необходимого для функционирования железосодержащих ферментов дыхательной цепи. В этом смысле синегнойная палочка является конкурентом для человеческих клеток, которым она может нанести фатальный ущерб, лишая их ионов железа [35]. Наиболее активными сидерофорами являются пиовердин, пиохелин, псевдобактин, салициловая кислота [35]. *P. aeruginosa* использует не только собственные сидерофоры, но и «заимствует» для собственных нужд гем от гемопротеинов человека; этот феномен получил название «сидерофорное пиратство» [35]. Повреждающий эффект сидерофоров усугубляется тем, что синегнойная палочка не только активно «отбирает» железо у клеток хозяина, но и разрушает «железособирающие» белки человека: как уже говорилось, протеаза IV вызывает деструкцию лактоферрина и трансферрина.

Очень интересной особенностью «фармакокинетики» факторов патогенности синегнойной палочки является наличие специальных систем, улучшающих их транспорт в тканях человека. *P. aeruginosa* способна продуцировать достаточно устойчивые в водной среде везикулы диаметром от 50 до 250 нм, которые могут включать в свой состав ЛПС, фосфолипазу С, липазу, щелочную фосфатазу [36]. Везикулы обеспечивают более эффек-

тивное взаимодействие факторов патогенности с клетками человека [36].

Синегнойная инфекция может сопровождаться местной аутодеструкцией тканей за счет атаки со стороны эффекторов иммунной системы хозяина вследствие гипертрофического ответа [37]. Продукты тканевого распада, появляющиеся и резорбирующиеся в результате воздействия ферментов инвазии *P. aeruginosa* или вследствие саморазрушения, также вносят весомый вклад в дальнейшее повреждение, общую интоксикацию и развитие лихорадки.

Факторы персистенции и «ускользания» от иммунного ответа

Реализация патогенетического потенциала любого болезнетворного микроба в организме человека невозможна без его противодействия иммунной системе хозяина. Синегнойная палочка, подчиняясь этому правилу, использует многочисленные механизмы «ускользания» от иммунных эффекторов и даже прямую агрессию в отношении иммунной системы. Антифагоцитарные свойства описаны у капсульных полисахаридов, ЛПС, флагеллина, белков семейств Omp и Opg, пигментов, альгината. Защита от повреждения кислородными радикалами осуществляется за счет пигментов, оксидазы, альгината. Факторы инвазии оказывают повреждающий эффект на иммунциты в такой же степени, как и на другие клетки. Как уже упоминалось, ферменты инвазии (эластаза, щелочная протеаза, протеаза IV) обеспечивают деструкцию иммуноглобулинов, факторов комплемента, γ - и α -интерферонов. Особо защищены от иммунной системы мукоидные (альгинатобразующие) и биопленочные штаммы. Альгинат увеличивает вязкость секретов и экссудатов, следствием чего являются два негативных явления. С одной стороны, блокируется отток экссудата (один из самых важных этапов патогенеза синегнойной пневмонии при муковисцидозе), с другой — затрудняется миграция в очаг воспаления клеточных и гуморальных факторов иммунитета [4]. Альгинат непосредственно ингибирует эффекторные способности иммунцитов.

Однако самой совершенной и сложной стратегией защиты бактерий от иммунной атаки является образование биопленок [38, 39]. Биопленка содержит два обязательных атрибута — скопления клеток и связывающий их внеклеточный (экстрацеллюлярный) матрикс, локализованный на каком-либо разделе сред с разными физико-химическими свойствами. В зависимости от особенностей штамма и параметров внешней среды синегнойная

палочка может формировать плоскую (недифференцированную) или структурированную (дифференцированную) биопленку [5]. Плоская биопленка представляет собой плотный и относительно равномерный слой скрепленных между собой бактерий. Дифференцированная биопленка представлена скоплениями агрегированных бактерий, разделенных водными каналами. Процесс скрепления бактерий между собой и с биопленочным матриксом опосредуется поверхностными адгезинами — пилиями и поверхностными белками (Omp, Opr, LecA, LecB). В связи с этим фармацевтическая блокада адгезии может быть перспективным способом профилактики биопленкообразования.

Структура внеклеточного матрикса формируется за счет собственных полимеров синегнойной палочки — альгината (сополимер частично ацетилированных 9-маннуриновой и L-глюкуроновой кислот), Psl- и Pel-полисахаридов, ДНК, протеинов (CdrA и др.), рамнолипидов. Для построения матрикса *in vivo* синегнойная палочка активно использует биополимеры хозяина — фибрин, секреты слизистых, тканевые дериваты [40]. В архитектуре матрикса могут концентрироваться многие полезные для *P. aeruginosa* субстанции. По образному выражению J. Wingender и H.C. Flemming, биопленочный матрикс — это «резервуар ферментов, которые используются бактериями для выживания и агрессии» [41].

Однако не все клинические изоляты *P. aeruginosa* являются биопленочными. В работе J. Gurung et al. было установлено, что лишь 33% штаммов из отделений интенсивной терапии могли формировать биопленки на сердечно-мозговом бульоне [42]. В другой работе авторы говорят о более высоких цифрах: 83% клинических штаммов могли формировать биопленки со средней биомассой на среде Луриа-Бертани [43].

Регуляция вирулентности

Клинические изоляты *P. aeruginosa* демонстрируют разные фенотипы, характеристики которых зависят от многих параметров, включая клональную принадлежность штамма, локализацию патологического процесса, проводимую антибактериальную терапию. Например, при муковисцидозных пневмониях преобладают мукоидные штаммы с гиперпродукцией альгината, при девайс-ассоциированных инфекциях чаще регистрируются биопленкообразующие изоляты, слизееобразование для которых не является обязательным признаком. Подобные различия связаны как с селекцией клонов, так и с регуляцией экспрессии тех или иных генов, определяемой местными условиями обитания.

Многие из генов, контролирующих вирулентность, объединены в «генетические островки патогенности». Это означает, что агрессивность чаще проявляется по принципу «все или ничего», то есть либо не экспрессируется ни один из генов, входящих в состав «островка патогенности», и в этом случае синегнойная палочка остается относительно безвредной для человека, либо экспрессируются все гены «островка». В последнем случае наблюдается одновременная активация многих механизмов, направленных на повреждение тканей человека. Такая организация направлена на экономию «материальных» и «управленческих» ресурсов синегнойной палочки. Дикие штаммы синегнойной палочки отличаются от более вирулентных клинических изолятов не только по количеству «островков патогенности», но и по их качественному составу [44]. По-видимому, полезная для *P. aeruginosa* перестройка генетического материала в «островках» происходит за счет реаранжировки, которая может включать быстрый захват, ремоделирование и экспрессию «полезных» генов из внешней среды [45].

Регуляция экспрессии генов вирулентности происходит в рамках системы глобального сигналинга, которая получила название «кворум-сенсинг» [46]. Стратегический смысл системы кворум-сенсинга — в повторении идеологии «генетических островков» — правила «все или ничего» на более высоком, надклеточном, уровне. Кворум-сенсинг обеспечивает однотипную и одновременную реакцию на внешний стимул всех бактерий многоклеточного сообщества. Система кворум-сенсинга функционирует по принципам, общим для всех грамотрицательных бактерий: сигнальные молекулы семейства N-ацил-гомосеринлактонов, синтезируемые белками системы LuxI и секретируемые во внешнюю среду, взаимодействуют с протеином LuxR. У синегнойной палочки аналогичные функции выполняют системы Las и Rhl [46]. Система Las регулирует продукцию и связывание N-3-оксо-додеканойл-гомосеринлактона (3-оксо-C₁₂-HSL). LasI отвечает за его синтез и секрецию, а LasR распознает 3-оксо-C₁₂-HSL, связывает его и выступает в роли транскрипционного регулятора, контролирующего выработку эластазы, экзотоксина А, щелочной протеазы и биопленкообразования. Rhl-система, включающая белок синтеза RhlII и белок распознавания RhlR, «работает» с N-бутаноил-гомосеринлактоном (C₄-HSL) по аналогичному принципу. Комплекс C₄-HSL-RhlR является транскрипционным регулятором продукции рамнолипидов, белков III типа секреции, синтеза пиоцианина и синильной кислоты. Rhl-система находится в функциональном подчинении у Las-системы: стимуляция Las расторма-

живает Rhl. У синегнойной палочки обнаружены еще 2 типа N-ацил-гомосеринлактонов (3-оксо- C_{14} -HSL и 3-оксо- C_{10} -HSL), которые, как считается, не играют важной роли в регуляции бактериальных функций. Среди других значимых регуляторов, функционирующих в рамках кворум-сенсинга, следует упомянуть молекулы циклических дипептидов: цикло(Δ Ала-L-Вал), цикло(Δ Про-L-Тир), 4-хинолоны (2-гептил-3-гидрокси-4-хинолон и др.), ионы Fe (через взаимодействие с пиовердином, поверхностным рецептором FrvA и анти-сигма-фактором FrvR), производные декановой (каприновой) кислоты, циклическую АМФ и ди-ГМФ, гуанозин-5'-дифосфат-3'-дифосфат (ppGpp) и гуанозин-5'-трифосфат-3'-дифосфат (pppGpp) [46].

Система кворум-сенсинга является перспективной мишенью для фармакологического управления вирулентностью синегнойной палочки [47]. В частности, предлагается комплекс мероприятий «кворум-квенчинг» (от англ. «quenching» — гашение), направленных на ингибирование системы кворум-сенсинга через ферментативное разрушение или связывание сигнальных молекул, блокаду внутриклеточных сигнальных путей и репрессию генов, вовлеченных в глобальную регуляцию [48].

Патогенез и защитные реакции хозяина

В развитии синегнойной патологии играют роль четыре группы механизмов: 1) деструкция тканей, осуществляемая за счет субстанций, продуцируемых синегнойной палочкой; 2) аутоповреждение тканей эффекторами хозяина при развитии гипервоспаления; 3) интоксикация; 4) персистенция бактерий, поддерживающая существование резервуара инфекции в организме и направленная на пролонгацию инфекционного процесса. В зависимости от штаммовых особенностей синегнойной палочки и индивидуального статуса резистентности человека реализуются различные сочетания перечисленных механизмов.

Организм человека не беззащитен перед синегнойной патологией. Главное свидетельство этого — благополучное существование иммунокомпетентных людей, постоянно контактирующих с дикими и симбионтными штаммами *P. aeruginosa*. Защита выстраивается по нескольким направлениям: 1) барьерные функции кожи и слизистых; 2) киллинг бактерий; 3) антиадгезивные механизмы; 4) антиинвазивные реакции; 5) антитоксический иммунитет; 6) антивирулентные воздействия на *P. aeruginosa*.

Барьерные свойства слизистых и кожи вносят наиболее весомый вклад в резистентность против

синегнойной палочки. Наиболее ярко защитная роль слизистой иллюстрируется на примере муковисцидоза. Показано, что нормальная слизистая оболочка респираторного тракта защищена от адгезии *P. aeruginosa* двумя важнейшими факторами — механическим барьером и мукоцилиарным транспортом, который обеспечивает смыв и механическое удаление бактерий, попавших в дыхательные пути [49]. Именно нарушение этих функций при муковисцидозе инициирует первую фазу инфекционного процесса — адгезию *P. aeruginosa* на эпителиоцитах с последующим образованием биопленки и селекцией клонов, приспособленных к выживанию в бронхолегочной системе пациента [49].

Фагоциты (нейтрофилы) способны активно фагоцитировать и убивать синегнойную палочку [50]. Даже неопсонизированные бактерии хорошо распознаются фагоцитами через систему TLR-рецепторов: нейтрофилы «узнают» ЛПС, пептидогликан и флагеллин синегнойной палочки через рецепторы TLR4 и TLR5 [51]. Ig- и комплемент-зависимая опсонизация усиливает эффективность фагоцитарного киллинга [52]. Фагоцитоз сопровождается активацией множества антимикробных субстанций, которые проявляют активность в отношении *P. aeruginosa*. К их числу относятся кислородные радикалы, ферменты, дефенсины. Фатальное действие на синегнойную палочку могут оказывать и гуморальные эффекторы иммунитета. Так, комплемент, активируясь по альтернативному пути, подавляет жизнедеятельность независимо от антител и фагоцитов [53].

Важную антиадгезивную функцию выполняют IgG- и IgA-антитела, специфически блокирующие поверхностные адгезины синегнойной палочки, что доказано в эксперименте и подтверждено испытаниями *in vivo* [54, 55]. Однако этот способ защиты не является совершенным: иммуноглобулины отсутствуют при первичном контакте человека и синегнойной палочки и не могут выполнять свои функции в отношении бактерий, окруженных слизью либо находящимися внутри биопленки.

Антиинвазивный иммунитет реализуется через описанные выше механизмы киллинга, а также через Ig-зависимую нейтрализацию факторов инвазии. Иммуноглобулины успешно обезвреживают экзотоксин А и патогенетически значимые ферменты [56].

Весьма интересными являются новые, малоизученные механизмы нейтрализации токсинов контактного типа за счет убиквитинирования. Обнаружен факт внутриклеточного взаимодействия между ExoT бактерий и Cbl-b-убиквитинлигазой хозяина, которое приводит к ослаблению фатального эффекта экзотоксина [57].

Нейтрализация растворимых фракций ЛПС (эндотоксина) успешно осуществляется клетками различной тканевой принадлежности за счет распознавания через специфическое взаимодействие между липидом А и TLR главным образом 4-го типа (TLR-4) [16]. Раннее TLR-4-зависимое распознавание эндотоксина обеспечивает защиту от синегнойной инфекции. Однако у этого явления есть и другая сторона. Образование комплекса липид А — TLR-4 запускает каскад ответных реакций, одним из результатов которого является продукция или гиперпродукция цитокинов. Это может привести к развитию системного воспалительного ответа, тогда как при подавлении ЛПС-связывающей функции TLR-4 развитие системного воспаления, индуцированного эндотоксином, становится невозможным [16]. ЛПС может быть дезактивирован через взаимодействие с плазменным белком LBP (от англ. «LPS-binding protein» — ЛПС-связывающий белок), уровень которого может десятикратно повышаться при воспалении [58].

Самые интригующие открытия в иммунологии последних лет связаны с новым механизмом иммунной защиты, который заключается в способности осуществлять «понижающую» регуляцию вирулентности бактерий гуморальными факторами. В частности, было показано, что естественный катионный пептид LL-37 оказывает подавляющий эффект на активность системы кворум-сенсинга, что в итоге приводит к угнетению экспрессии более 50 генов, контролирующих биопленкообразование и другие механизмы вирулентности [59, 60].

Персистенция *P. aeruginosa* в организме поддерживается в двух вариантах. Во-первых, синегнойная палочка может существовать в составе микробных ассоциаций нормальной микрофлоры. Во-вторых, в патологическом локусе наиболее важным механизмом персистенции является биопленкообразование. Имеющиеся данные об обнаружении внутриэпителиальной локализации *P. aeruginosa* предполагают (но не доказывают) ее способность к патогенетически значимой внутриклеточной персистенции.

Взаимоотношения между синегнойной палочкой и иммунной системой развиваются как сложный процесс, участники которого не только наносят урон друг другу, но и нейтрализуют повреждающие действия «противника», нередко обращая атаку против него самого. Пример такой стратегии был обнаружен при исследовании взаимодействий между нейтрофилами и биопленкой *P. aeruginosa* [61]. Добавление нейтрофилов к биопленке приводило к ее усиленному росту. Авторы предположили, что биопленочные синегнойные палочки убивали нейтрофилы и использовали их

дериваты (актин и ДНК) в качестве субстратов для своего развития, в частности для построения биопленочного матрикса. Эти данные были подтверждены в опытах по моделированию биопленки *P. aeruginosa* на поверхности контактных линз: в присутствии нейтрофилов рост биопленки шел опережающими темпами [62]. Исследование усиленного нейтрофилами роста синегнойной биопленки вскрыло еще один интересный механизм. Оказалось, что оксидантное воздействие со стороны нейтрофилов на *P. aeruginosa* может включать необычный способ защиты бактерий. Было показано, что кислородные радикалы способны вызывать мутации в гене *musA*, который кодирует анти- σ -фактор (σ -фактор необходим для функционирования альгинатного оперона). Мутация *musA* приводит к дефекту анти- σ -фактора, альгинатный оперон растормаживается, начинается избыточный синтез альгината, что вызывает фенотипические изменения, в частности повышение секреции мукоида альгината, который может использоваться как важнейший компонент биопленочного матрикса. В итоге атака нейтрофилов с участием биоцидных кислородных радикалов усиливает биопленкообразование *P. aeruginosa*. По мнению авторов, этот механизм является ключевым этапом патогенеза при некоторых формах синегнойной патологии, в частности легочных форм муковисцидоза [63].

Стратегия другой стороны конфликта иммунной системы — также построена на многоходовых комбинациях. Первичное взаимодействие нейтрофилов с синегнойной палочкой может иметь два исхода. Один вариант, когда количество клеток *P. aeruginosa* невелико и они характеризуются слабой вирулентностью, заканчивается полным уничтожением возбудителя и микробиологическим выздоровлением. Другой исход тоже предполагает уничтожение какого-то количества бактерий, но результатом его становится выживание значительной части возбудителя и гибель нейтрофилов. В этом случае нейтрофилы реализуют второй, «постмортальный» этап наступления. Из продуктов полностью разрушенных синегнойной палочкой нейтрофилов формируется эффективный антибактериальный инструмент — экстрацеллюлярные «ловушки» (neutrophil extracellular traps — NETs), которые состоят из комплексов ДНК-белок и обладают способностью повреждать клетки *P. aeruginosa* [64].

Приведенные выше примеры сложных патогенетических механизмов синегнойной инфекции являются наиболее яркими и не исчерпывают всех вариантов взаимных многоходовых атак и ускользаний, возникающих в противоборстве между *P. aeruginosa* и иммунными эффекторами. В итоге,

многообразные и сложные реакции между возбудителем и иммунитетом определяют возникновение, эволюцию и исход синегнойного патологического процесса.

Патология

Синегнойная палочка является типичным условно-патогенным микроорганизмом, который вызывает инфекционный процесс преимущественно на фоне иммуносупрессии [65]. Факторами риска являются первичные заболевания, связанные с генетическими дефектами, тяжелые травмы, обширные ожоги, злокачественные новообразования, большие хирургические вмешательства, лучевая, гормональная и цитостатическая терапия, патология новорожденных, СПИД, пожилой возраст и пр. [66, 67]. Искусственная вентиляция легких, диализ, наличие имплантированных медицинских устройств (катетеры, дренажные трубки и т. д.) в значительной степени увеличивают риск возникновения синегнойной инфекции [68], поэтому естественно, что синегнойная палочка чаще встречается в отделениях, где сконцентрированы тяжелые больные. Распространенность синегнойной инфекции наиболее высока в *отделениях реанимации и интенсивной терапии* (ОРИТ), где *P. aeruginosa* является возбудителем примерно от 10 до 20% всех бактериальных инфекций [69, 70].

Топология поражения охватывает практически все органы и ткани. Подобно другим гнойно-воспалительным заболеваниям, синегнойная инфекция может протекать в двух взаимосвязанных формах — в виде местных процессов и как генерализованная инфекция. В первом случае речь идет о локализованных повреждениях органов и тканей, второй сценарий подразумевает развитие патогенетически значимой бактериемии и сепсиса.

Синегнойная палочка может вызывать поражение бронхолегочного аппарата. Воспаление часто реализуется в виде трахеобронхита и пневмонии, последняя иногда приобретает лобарную или некротизирующую форму. Наиболее часто с проблемой синегнойных инфекций бронхолегочной системы сталкиваются пациенты ОРИТ, особенно находящиеся на *искусственной вентиляции легких* (ИВЛ). В этой группе пациентов 30% трахеобронхитов и 24% пневмоний имеют синегнойную этиологию [71, 72]. Вероятность синегнойной ИВЛ-ассоциированной пневмонии возрастает с увеличением продолжительности искусственной вентиляции. Пневмонии могут быть результатом диссеминации имеющейся в организме синегнойной инфекции или возникать как первичные процессы. Штамм, вызывающий поражение бронхолегочной

системы, примерно с равной вероятностью может иметь эндогенное (первичный инфекционный локус, кишечник) либо экзогенное происхождение.

Особое место следует отвести роли синегнойной палочки в развитии пневмоний при муковисцидозе [73]. В этом случае мукоидные клоны *P. aeruginosa* при содействии интенсивной антибактериальной терапии вытесняют штаммы-конкуренты и становятся ведущими этиологическими агентами хронической бронхопневмонии. Впрочем, при муковисцидозе достаточно часто встречаются случаи полимикробной пневмонии, когда синегнойная палочка существует в ассоциации с золотистым стафилококком, буркхолдериями, ахромобактериями и др. Интересно то, что при развитии такой патологии процесс не переходит в сепсис, что, по-видимому, связано с высоким титром антител к синегнойной палочке. Больной в итоге погибает от прогрессирующего фиброза и развития дыхательной недостаточности. Кроме того, хроническая обструктивная болезнь легких в 34,7% случаев сопровождается присоединением синегнойной инфекции [74].

Среди синегнойных инфекций ЛОР-органов преобладают отиты (до 40% случаев хронического среднего отита у взрослых), реже встречаются синуситы [75, 76].

Синегнойные поражения роговицы характеризуются неблагоприятным прогрессированием вплоть до паноптальмита. Обычно они связаны с использованием контактных линз и контаминированных глазных капель [77].

Синегнойные поражения мочевыводящей системы чаще развиваются в виде катетер-ассоциированных инфекций, патогенез которых во всех случаях определяется развитием биопленок [78]. Описаны случаи возникновения циститов (с последующей диссеминацией) вследствие баланеологического лечения и СПА-процедур (вихревые ванны и т. п.) [79]. Синегнойная инфекция данной локализации чаще протекает в виде острого нефрита и пиелонефрита, которые могут приобретать крайне тяжелое течение. Их патогенез и тяжесть определяются концентрацией экзотоксина А [80]. Весьма интересными являются наблюдения рецидивирующего геморрагического васкулита (пурпура Шонлейна-Геноха), который возникал на фоне синегнойного нефрита и полностью излечивался после эрадикации *P. aeruginosa* [81]. Синегнойная палочка является частым возбудителем острых и хронических простатитов (13% всех случаев острого простатита), встречается в качестве причины острых гнойных орхитов и эпидидимитов [82, 83].

Синегнойные менингиты, венитрикулиты и абсцессы мозга являются, как правило, результатами искусственных вмешательств (травмы, хирургические операции, пункции, дренирование и т. д.) либо следствием диссеминации возбудителя из имеющегося инфекционного локуса (синегнойные отиты, конъюнктивиты, бактериемия и др.). Случаи первичных синегнойных поражений мозга и мозговых оболочек встречаются крайне редко.

Синегнойная палочка может участвовать в развитии острого перитонита (16% случаев всех послеоперационных перитонитов), часто — в составе разнообразных микробных ассоциаций [84].

Синегнойная палочка в редких случаях может стать причиной абсцесса печени (до 7,6% всех случаев) [85]. Она также входит в пятерку бактерий (вместе с *S. epidermidis*, *S. aureus*, *Serratia marcescens* и *Escherichia coli*), наиболее часто вызывающих остеомиелиты [86].

Весьма значимыми являются синегнойные осложнения раневых процессов. В общей структуре раневых инфекций синегнойная палочка занимает 9–10% [87]. *P. aeruginosa* является причиной гнойных осложнений ожоговых ран в 11,8–30,0% случаев [88, 89]. Опыт боевых действий XXI века показал, что синегнойная палочка наряду с *S. aureus*, *K. pneumoniae* и *Acinetobacter* spp. входит в четверку лидеров бактерий, осложняющих течение боевой травмы [90].

Синегнойная инфекция кожи, известная как «hot tub rash» (сыпь, связанная с горячим водоснабжением), является следствием инфицирования при купании в воде (бассейны, бальнеологические процедуры), где из-за тепловой инактивации снижается бактерицидная активность растворенного хлора [91]. В результате формируются условия для образования синегнойных биопленок на внутренних поверхностях гидроконструкций и появления достаточной для контаминации кожи и слизистых оболочек купающихся концентрации синегнойной палочки. Клиническая картина развивается через один-четыре дня после инфицирования кожи. Инфекция проявляется в виде фолликулита, макулопапулярной и/или пустулярной сыпи. Вариантом этого типа инфекции является «hot hand-foot syndrome», названный по аналогии с предыдущим синдромом, но поражающий ладони и стопы пациентов. Сыпь может сопровождаться увеличением лимфоузлов, симптомами общей интоксикации. Обсеменение слизистых (часто процесс локализуется в носоглотке) может приводить к развитию субклинической инфекции с симптомами хронической интоксикации, главной жалобой при этом являются головные боли. Синдром, полу-

чивший название «головная боль пловцов», трудно диагностируется, пациентам ставятся ложные диагнозы и назначается неэффективное лечение.

Синегнойное воспаление подкожной клетчатки, реализующееся в виде гнойного целлюлита, является осложнением раневого процесса или первичной синегнойной инфекции [92]. Синегнойные фасциты, развивающиеся по типу вторичной инфекции, протекают крайне тяжело, могут приобретать некротизирующую форму и часто заканчиваются летальным исходом [93].

Интересным проявлением синегнойного поражения придатков кожи (ногтей и близлежащих мягких тканей) является «синдром зеленого ногтя». Клинически он проявляется симптомами местного воспаления, а также характерной темнозеленой окраской пораженного ногтя за счет пигмента пиоцианина. Поражается один, реже два ногтя на соседних пальцах; предрасполагающим фактором являются онихомикозы [94].

Современные данные говорят о том, что синегнойная палочка может поддерживать патогенез трофических язв. По крайней мере, с поверхности хронических трофических язв нижних конечностей *P. aeruginosa* высевается в патогенетически значимых концентрациях почти в половине случаев, часто сочетаясь с другими микробами (и практически во всех случаях — в ассоциации с золотистым стафилококком) [95].

Синегнойное поражение кишечника клинически проявляется в виде диареи [96]. Особый и крайне тяжелый случай диареи, сопровождающей синегнойный сепсис у детей первого года жизни, получил название «шанхайская лихорадка» [97]. В случае отсутствия или нерациональной антимикробной терапии дети с «шанхайской лихорадкой» погибают от последствий некроза кишечника.

Важнейшей группой заболеваний, которые часто вызывает *P. aeruginosa*, являются инфекции кровотока. Согласно данным A. Vitkauskien et al., синегнойные бактериемии составляют 2,7% всех клинических случаев бактериемии [67]. При этом 58,8% из них диагностировали в ОРИТ, остальные в иных отделениях; первичная бактериемия была выявлена у 62,5% больных. При вторичной бактериемии источники инфекции по локализации заняли следующие позиции: 52% — первичный очаг располагался в легких, 26% — первичный очаг представлял собой рану, 18% — первичная инфекция поражала мочевыводящие пути, 4% — первичный очаг находился в желчном пузыре. Более половины пациентов с диагностированной бактериемией имели два или более положительных критерия SIRS (от англ. **S**ystemic **I**nflammatory

Response Syndrome — синдром системного воспалительного ответа). Это говорит о корректности применения термина «сепсис» у подавляющего большинства пациентов с синегнойной бактериемией. Септикопиемия, самое частое проявление синегнойного сепсиса, может сопровождаться вторичными метастатическими поражениями кожи эритематозно-некротического характера (*ectyma gangrenosa*).

Синегнойные эндокардиты и медиастениты являются осложнениями стойких бактериемий, ранений или медицинских манипуляций; в качестве первичных процессов эти типы патологии встречаются казуистически редко.

В зависимости от локализации патологического процесса и адекватности проводимой антимикробной терапии летальность при синегнойной инфекции с поражением внутренних органов колеблется от 18 до 61% [98]. Согласно данным 2014 года, смертность от состояний, сопряженных с синегнойной бактериемией, составляет 38% [99]. До 30% пациентов умирают в 30-дневный срок, 53% из них умирают в первые 5 дней с момента регистрации инфекции кровотока. Смертность за 30-дневный период при инфекции кровотока, вызванной внебольничными штаммами синегнойной палочки, значительно ниже (26%), чем при аналогичной нозокомиальной инфекции (36%) [100]. Считается, что наиболее верным показателем, коррелирующим со смертностью при синегнойных инфекциях кровотока, является способность изолированного из крови штамма к продукции контактных токсинов. Наибольшая степень корреляции между летальностью и токсинообразованием прослеживается у штаммов, продуцирующих ExoU [101]. Другим предиктором высокой смертности является множественная антибиотикорезистентность (панрезистентность, мультирезистентность и расширенный спектр резистентности) штамма-возбудителя [102]. Непосредственным терминальным состоянием, приводящим к смерти пациента при синегнойной инфекции кровотока, чаще является септический шок.

Нужно признать, что значительное число случаев синегнойной инфекции является следствием медицинских манипуляций. Описаны ситуации, когда причиной развития синегнойной инфекции было инфицирование во время катетеризаций, пункций, миело- и вентрикулографии, бронхоскопии, урологических эндоскопических процедур, общехирургических операций, перевязок, а также использование контаминированных растворов антисептиков. Некоторые случаи поразительны. Так, зафиксировано инфицирование значительного числа пациентов одним клоном *P. aeruginosa* при их обследова-

нии контаминированным бронхоскопом, имевшим незначительный скрытый дефект, внутри которого синегнойная палочка (в ассоциации с *Serratia marcescens*) сохраняла жизнеспособность в процессе правильно проводимой дезинфекции [103].

Синегнойная палочка при полимикробной инфекции

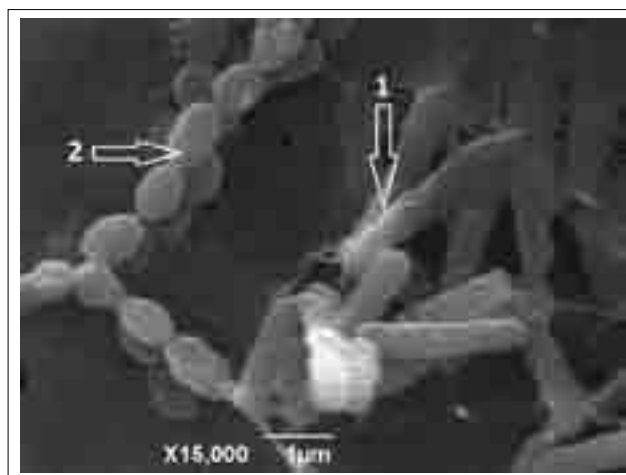
Как уже упоминалось, синегнойная палочка может быть участником полимикробного инфекционного процесса. Долгое время существование *P. aeruginosa* в стойких ассоциациях с другими микробами не рассматривалось в качестве патогенетически значимой проблемы, что было связано с многочисленными сведениями о межмикробной конкуренции, которую проявляет синегнойная палочка. Если следовать этой теории, то известные факты подавления синегнойной палочкой грибов рода *Candida* за счет фосфолипазы и феназинов должны были бы исключить возможность присоединения кандидоза к локальным очагам синегнойной инфекции [104]. Практическая медицина показывает обратную картину — синегнойно-кандидозные ассоциации являются распространенной этиологической причиной полимикробных инфекций [105]. В настоящее время молекулярные механизмы возникновения синегнойно-кандидозных ассоциаций изучены до такой степени, что могут служить моделью общих принципов кооперации *P. aeruginosa* с другими возбудителями. Одной из причин сожительства кандид и синегнойной палочки являются мутации генов *plcS* (структурный ген фосфолипазы C), *plcR* (ген, отвечающий за секрецию фосфолипазы C), *phnAB* (ген, мутация которого снижает синтез феназинов) [106]. Вследствие этого синегнойная палочка лишается своих главных инструментов в конкуренции с кандидами и начинает использовать тактику симбиоза с ними. Более того, низкие дозы феназинов (в 25–200 раз ниже токсических для кандид концентраций) модулируют вирулентность кандид и стимулируют формирование кандидозных биопленок [107, 108]. Из приведенной информации вытекает важное, клинически значимое следствие. Мутанты *P. aeruginosa* по феназинам формируют бесpigментные колонии. Следовательно, неокрашенность колоний на питательной среде, а применительно к раневой инфекции — отсутствие характерной синегнойной окраски экссудата и перевязочных материалов, является прогностическим признаком возможного присоединения кандидозной инфекции. Справедливость требует отметить, что причина симбиоза с *P. aeruginosa* может быть связана и с кандидами, точнее — с их мутированными кло-

нами [109]. Мутации в генах *ssn3* (соответствует циклинозависимой киназе) и *ssn8* (соответствует циклиноподобному протенину), которые являются летальными мишенями для пиоцианина, делают кандиду нечувствительной к феназилам. При этом вирулентность и способность к биопленкообразованию у кандид сохраняется. Кандиды, в свою очередь, тоже могут усиливать вирулентность *P. aeruginosa*, находящихся в составе полимикробной биопленки [108].

В качестве патогенетически значимых ассоциантов синегнойной палочки могут выступать практически все оппортунистические микроорганизмы, включая *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Aspergillus fumigatus*, *Shigella flexneri* и др. [110–115]. Встречаются и более сложные ассоциации. Интересен случай тяжелого посттатуировочного гнойного целлюлита, вызванного ассоциацией *P. aeruginosa*/*Streptococcus pyogenes*/*Klebsiella oxytoca*/*S. aureus* и осложнившегося *P. aeruginosa*/*S. pyogenes*-индуцированной септицемией [116]. Опыт нашей лаборатории говорит о микробиологически подтвержденных случаях полимикробных инфекций кровотока у детей с участием синегнойной палочки. Так, в 2013–2014 гг. из периферической крови были изолированы ассоциации *P. aeruginosa*/*A. baumannii* и *P. aeruginosa*/*A. baumannii*/*K. pneumoniae* [117].

Еще один показательный пример полимикробной биопленки, в составе которой удалось визуализировать *P. aeruginosa* и *Enterococcus* spp., был обнаружен на Т-образном желчевыводящем катетере у пациента после холецистэктомии (см. рисунок) [118].

Нужно помнить, что в условиях организма во взаимоотношения между синегнойной палочкой и другими микробами вмешивается третий игрок — система иммунитета, которая вносит еще большую непредсказуемость в эволюцию инфекционного процесса, в связи с чем трактовка тяжести полимикробных инфекций может быть неоднозначной. Большинство экспертов считает, что второй возбудитель усиливает тяжесть течения и вероятность летального исхода синегнойной инфекции [111]. Однако есть и противоположная точка зрения, подкрепленная серьезными статистическими данными. В частности, A.R. Marra et al. показали, что мономикробные синегнойные инфекции кровотока по тяжести и летальности не отличались от инфекций, причиной которых была ассоциация *P. aeruginosa* с другим микробом [119]. В последнем случае лишь затруднялось индивидуальное прогнозирование летальности, основанное на оценке гематологических нарушений и данных шкалы APACHE.



Полимикробная биопленка, сформированная *P. aeruginosa* (1) и энтерококками (2) на Т-образном желчевыводящем катетере.

Сканирующая электронная микроскопия, увеличение $\times 15\,000$ раз, препарат фиксирован глутаровым альдегидом и осмия тетраоксидом.

Существует еще одно негативное свойство, которое усиливается у синегнойной палочки в ассоциациях с другими бактериями — резистентность к антимикробным препаратам [120].

Перечисленные характеристики позволяют сделать заключение о том, что полимикробная инфекция является качественно иным состоянием, которое может потребовать нетривиальных подходов к его прогнозированию и терапии. В целом, как и в случае других пиогенных инфекций, топика синегнойного инфекционного процесса, степень тканевой деструкции и глубина инвазии, возможность генерализации и исход определяются сложными, не всегда предсказуемыми сочетаниями параметров вирулентности штамма, функционального статуса иммунной системы и адекватностью проводимой антибактериальной терапии.

Общие принципы диагностики, лечения и профилактики

Пациентов с истинной патологией следует отличать от так называемого «колонизированного контингента», т. е. лиц, не имеющих клинических признаков синегнойной инфекции, но у которых высевается *P. aeruginosa*. В ОРИТ такой контингент может составлять до 30% от числа всех пациентов [121]. «Золотым стандартом» видовой идентификации *P. aeruginosa* остается бактериологическое исследование, которое ускоряется современными технологиями. К последним принадлежат: (1) биохимические автоматизированные исследования, (2) оценка протеомного профиля при помощи масс-спектрометрии и (3) методы, основанные на

амплификации ДНК (полимеразная цепная реакция). Попытки использовать в качестве маркеров синегнойной инфекции специфические антитела (секреторные IgA при муковисцидозе), метаболиты и структурные элементы (синильную кислоту, пигменты, липополисахарид эндотоксин) пока не нашли широкого распространения в клинической микробиологии. Важнейшей составной частью диагностических процедур является определение у выделенного изолята спектра чувствительности к антибиотикам на основе фенотипических (диско-диффузионный, E-тесты и др.) и молекулярных (определение генов резистентности) методов.

Безусловно, единственным реальным способом эрадикации синегнойной палочки является антимикробная химиотерапия. Эмпирическая антибиотикотерапия исключает применение препаратов, для которых у *P. aeruginosa* доказано наличие природной резистентности. К их числу относятся: ампициллин, амоксициллин, цефазолин, цефотаксим, цефтриаксон, эртапенем, канамицин, неомицин, тетрациклины, тигециклин, триметоприм, триметоприм/сульфаметоксазол (согласно рекомендациям «Европейского комитета по тестированию чувствительности к антибиотикам — EUCAST», режим доступа: <http://www.eucast.org>). Широкое распространение приобретенной резистентности среди клинически значимых клонов *P. aeruginosa* требует назначения антибиотиков с учетом знания спектра чувствительности у конкретного изолята. Количественно оценить чувствительность *in vitro* возможно для довольно ограниченного набора антибиотиков. EUCAST рекомендует проводить такую оценку для 17 препаратов: пиперациллина, пиперациллина/тазобактама, тикарциллина, тикарциллина/клавуланата, цефепима, цефтазидима, дорипенема, имипенема, меропенема, азтреонама, цiproфлоксацина, левофлоксацина, амикацина, гентамицина, нетилмицина, тобрамицина, полимиксина E (колистина). Для последнего оценивается только минимальная подавляющая концентрация, но не зона задержки роста при использовании диско-диффузионного метода.

В литературе имеются противоречивые данные о выборе между монотерапией и назначением комбинаций препаратов при синегнойной моноинфекции [122]. Некоторые эксперты связывают неизученность вопроса с отсутствием интереса к комбинированной терапии у фармацевтических компаний, спонсирующих клинические исследования [123]. Безусловно, выбор в пользу комбинированной терапии делается во всех случаях, когда диагностирована полимикробная инфекция.

Другой важный вопрос, касающийся выбора между местной или системной терапией при локализованных формах синегнойной инфекции, должен решаться в пользу системного назначения антибиотиков. В ряде случаев системная антибиотикотерапия может успешно дополняться местными препаратами. Например, описан случай положительной динамики у пациентов с «синдромом зеленого ногтя», когда предшествующая неэффективная системная терапия левофлоксацином и итраконазолом (итраконазол назначался для лечения сопутствующего микоза) была дополнена местным препаратом на основе тобрамицина [124].

Антивирулентная терапия синегнойных инфекций, о которой много и оптимистично говорят в последние годы, до сих пор не нашла эффективного применения в клинике. Лечебное и профилактическое применение вакцинных препаратов и препаратов на основе специфических антител также пока не получило практического выхода, хотя их доклинические и даже клинические испытания проводятся более 20 лет.

Неспецифическая профилактика сводится к проведению общих противоэпидемических мероприятий, направленных на ликвидацию путей передачи и санацию/дезинфекцию/изоляцию источников инфекции.

Заключение

Проведенный анализ литературы говорит о том, что к настоящему времени получен огромный массив данных, детально характеризующих молекулярные механизмы вирулентности *P. aeruginosa* и реализацию патогенеза синегнойной инфекции. Накопленная информация о патогенетических механизмах позволяет убедиться лишь в сложности взаимоотношений между синегнойной палочкой и организмом человека, но, к сожалению, не служит достаточной базой для создания эффективных способов управления инфекционным процессом. Надежда на разработку успешных методов контроля за синегнойной инфекцией может быть связана с дальнейшими исследованиями, объединяющими усилия специалистов разного профиля — микробиологов, молекулярных биологов, эпидемиологов, патофизиологов, иммунологов и врачей-клиницистов.

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (уникальный идентификатор прикладных научных исследований — RFMEFI60714X0064).

Литература

- Rice L.B. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: ESKAPE. *J Infect Dis* 2008; 197(8):1079-81.
- Kung V.L., Ozer E.A., Hauser A.R. The accessory genome of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology and molecular biology reviews* 2010; 74(4):621-41.
- Hancock R.E.W., Siehnel R., Martin N. Outer membrane proteins of *Pseudomonas*. *Molecular microbiology* 1990; 4(7):1069-75.
- May T.B., Shinabarger D., Maharaj R., Kato J., DeVault J.D., Chu L., et al. Alginate synthesis by *Pseudomonas aeruginosa*: a key pathogenic factor in chronic pulmonary infections of cystic fibrosis patients. *Clin microbiol rev* 1991; 4(2):191-206.
- Маянский А.Н., Чеботарь И.В., Руднева Е.И., Чистякова В.П. *Pseudomonas aeruginosa*: характеристика биопленочного процесса. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология 2012; 1:3-8.
- Flemming H.C. The perfect slime // *Colloids and Surfaces*. In: *Biointerfaces* 2011; 86(2):251-9.
- Turner J.M., Messenger A.J. Occurrence, biochemistry and physiology of phenazine pigment production. *Advances in microbial physiology* 1986; 27:211-75.
- Wahba A.H. Pyrrobrin-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied microbiology* 1965; 13(2):291-2.
- Cox C.D., Parker J. Use of 2-aminoacetophenone production in identification of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol* 1979; 9(4):479-84.
- Visca P., Imperi F., Lamont I.L. Pyoverdine siderophores: from biogenesis to biosignificance. *Trends in microbiology* 2007; 15(1):22-30.
- Visca P., Ciervo A., Sanfilippo V., Orsi N. Iron-regulated salicylate synthesis by *Pseudomonas* spp. *J Gen Microbiol* 1993; 139:1995-2001.
- Giltner C.L., Van Schaik E.J., Audette G.F., et al. The *Pseudomonas aeruginosa* type IV pili receptor binding domain functions as an adhesin for both biotic and abiotic surfaces. *Molecular microbiology* 2006; 59(4):1083-96.
- Sato H., Okinaga K., Saito H. Role of pili in the pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa* burn infection. *Microbiol Immunol* 1988; 32:131-9.
- Heiniger R.W., Winther-Larsen H.C., Pickles R.J., Koomey M., Wolfgang M.C. Infection of human mucosal tissue by *Pseudomonas aeruginosa* requires sequential and mutually dependent virulence factors and a novel pilus-associated adhesion. *Cellular Microbiol* 2010; 12(8):1158-73.
- van Schaik E.J., Giltner C.L., Audette G.F., Keizer D.W., Bautista D.L., Slupsky C.M., et al. DNA binding: a novel function of *Pseudomonas aeruginosa* type IV pili. *J Bacteriol* 2005; 187(4):1455-64.
- Pier G.B. *Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide: A major virulence factor, initiator of inflammation and target for effective immunity. *Int J Med Microbiol* 2007; 297(5):277-95.
- Plotkowski M.C., Tournier J.M., Puchelle E. *Pseudomonas aeruginosa* strains possess specific adhesins for laminin. *Infect Immun* 1996; 64(2):600-5.
- Carnoy C., Scharfman A., Van Brussel E., Lamblin G., Ramphal R., Roussel P. *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane adhesins for human respiratory mucus glycoproteins. *Infection and Immunity* 1994; 62(5):1896-900.
- Arhin A., Boucher C. The outer membrane protein OprQ and adherence of *Pseudomonas aeruginosa* to human fibronectin. *Microbiology* 2010; 156(5):1415-23.
- Azghani A.O., Idell S., Bains M., Hancock R.E. *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane protein F is an adhesin in bacterial binding to lung epithelial cells in culture. *Microbial pathogenesis* 2002; 33(3):109-14.
- Gilboa-Garber N., Avichezer D., Garber N.C. Bacterial lectins: properties, structure, effects, function and applications. In: Gabius H.-J., Gabius S. editors. *Glycosciences: Status and perspectives*. Germany: Wiley-VCH; 2002. p. 369-73.
- Caballero A.R., Moreau J.M., Engel L.S., Marquart M.E., Hill J.M., O'Callaghan R.J. *Pseudomonas aeruginosa* protease IV enzyme assays and comparison to other *Pseudomonas* proteases. *Annal Biochem* 2001; 290:330-7.
- Engel L.S., Hill J.M., Caballero A.R., Green L.C., O'Callaghan R.J. Protease IV, a unique extracellular protease and virulence factor from *Pseudomonas aeruginosa*. *J Biol Chem* 1998; 273:16792-7.
- Ostroff R.M., Vasil M.L. Identification of a new phospholipase C activity by analysis of an insertional mutation in the hemolytic phospholipase C structural gene of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriology* 1987; 169(10):4597-601.
- Konig B., Jaeger K.E., Sage A.E., Vasil M.L., Konig W. Role of *Pseudomonas aeruginosa* lipase in inflammatory mediator release from human inflammatory effector cells (platelets, granulocytes, and monocytes). *Infect Immun* 1996; 64(8):3252-8.
- Morlon-Guyot J., Mere J., Bonhoure A., Beaumelle B. Processing of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A is dispensable for cell intoxication. *Infection and immunity* 2009; 77(7):3090-9.
- Veesenmeyer J.L., Hauser A.R., Lisboa, T., Rello J. *Pseudomonas aeruginosa* virulence and therapy: evolving translational strategies. *Crit Care Med* 2009; 37(5):1777.
- Sato H., Frank D.W. ExoU is a potent intracellular phospholipase. *Mol Microbiol* 2004; 53(5):1279-90.
- Cigana C., Curcurù L., Leone M.R., Ieranò T., Lorè N.I., Bianconi I., et al. *Pseudomonas aeruginosa* exploits lipid A and muropeptides modification as a strategy to lower innate immunity during cystic fibrosis lung infection. *PLoS one* 2009; 4(12):e8439.
- Grover S., Batish V.K., Srinivasan R.A. Production and properties of crude enterotoxin of *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Food Microbiol* 1990; 10(3):201-8.
- Williams H.D., Zlosnik J.E.A., Ryall B. Oxygen, cyanide and energy generation in the cystic fibrosis pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. *Adv Microb Physiol* 2007; 52:1-71.
- Пыж А.Э., Никандров В.Н. Вклад сине-зеленых пигментов *Pseudomonas aeruginosa* в гемолитическую активность культуральной жидкости. *Журн микробиол* 2011; 1:19-25.
- Sadikot R.T., Blackwell T.S., Christman J.W., Prince A.S. Pathogen-host interactions in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171(11):1209-23.
- Jenkins C.E., Swiatoniowski A., Power M.R., Lin T.J. *Pseudomonas aeruginosa*-induced human mast cell

- apoptosis is associated with up-regulation of endogenous Bcl-xS and down-regulation of Bcl-xL. *J Immunology* 2006; 177(11):8000-7.
35. Cornelis P., Dingemans J. *Pseudomonas aeruginosa* adapts its iron uptake strategies in function of the type of infections. *Front Cell Infect Microbiol* 2013; 3(7):1-7.
 36. MacDonald I.A., Kuehn M.J. Stress-induced outer membrane vesicle production by *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 2013; 195(13):2971-81.
 37. Чеботарь И.В., Маянский А.Н., Кончакова Е.Д. Нейтрофилы и биоупленка: диалектика взаимоотношений. *Журн микробиол* 2013; 6:105-11.
 38. Кузнецова М.В., Николаева Н.В., Розанова С.М., Карпунина Т.И. Формирование биоупленок нозокомиальными штаммами *Pseudomonas aeruginosa*. *Журн микробиол* 2011; 4: С. 8-148.
 39. Чеботарь И.В. Механизмы антибиоупленочного иммунитета. *Вестник РАМН* 2012; 12:22-9.
 40. Buret A., Ward, K.H. Olson, M.E., Costerton, J.W. An in vivo model to study the pathobiology of infectious biofilms on biomaterial surfaces. *J biomedical materials research* 1991; 25(7):865-74.
 41. Wingender J., Flemming H.C. The biofilm matrix. *Nature Rev Microbiol* 2010; 13:623-33.
 42. Gurung J., Khyriem A.B., Banik A., Lyngdoh W.V., Choudhury B., Bhattacharyya P. Association of biofilm production with multidrug resistance among clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* from intensive care unit. *Indian J Crit Care Med* 2013; 17(4):214-8.
 43. Sanchez C.J., Mende K., Beckius M.L., Akers K.S., Romano D.R., Wenke J.C., Murray C.K. Biofilm formation by clinical isolates and the implications in chronic infections. *BMC infectious diseases* 2013; 13(1):47.
 44. Liang X., Pham X.Q.T., Olson M.V., Lory S. Identification of a genomic island present in the majority of pathogenic isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 2001; 183(3):843-53.
 45. Singh G., Srinivasan R., Cheng J., Peng Z., Fujimura K., Baek M.S., et al. Rearrangement of a large novel *Pseudomonas aeruginosa* gene island in strains isolated from a patient developing ventilator-associated pneumonia. *J Clin Microbiol* 2014; 52(7):2430-8.
 46. Jimenez P.N., Koch G., Thompson J.A., Xavier K.B., Cool R.H., Quax W.J. The multiple signaling systems regulating virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 2012; 76(1):46-65.
 47. Jakobsen T.H., Bjarnsholt T., Jensen P.O., Givskov M., Hoiby N. Targeting quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: current and emerging inhibitors. *Future microbiology* 2013; 8(7):901-21.
 48. Weng L., Zhang Y., Yang Y., Wang L. Isolation of the autoinducer-quenching strain that inhibits LasR in *Pseudomonas aeruginosa*. *Intern J Molecular Sciences* 2014; 15(4):6328-42.
 49. Campodonico V.L., Gadjeva M., Paradis-Bleau C., Uluer A., Pier G.B. Airway epithelial control of *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. *Trends in molecular medicine* 2008; 14(3):120-33.
 50. Weinstein R.J., Young L.S. Neutrophil function in gram-negative rod bacteremia. The interaction between phagocytic cells, infecting organisms, and humoral factors. *J Clinical Investigation* 1976; 58(1):190-9.
 51. Lavoie E.G., Wangdi T., Kazmierczak B.I. Innate immune responses to *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Microbes and Infection* 2011; 13(14):1133-45.
 52. Peterson P.K., Kim Y.O.U.N.G.K.I., Schmelting D.A.V.I.D., Lindemann M.A.R.J.O.R.I.E., Verhoef J., Quie P.G. Complement-mediated phagocytosis of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Lab Clin Med* 1978; 92:883-94.
 53. Pier G.B., Ames P. Mediation of the killing of rough, mucoid isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from patients with cystic fibrosis by the alternative pathway of complement. *J Infect Diseases* 1984; 150(2):223-8.
 54. Morrin M., Reen D.J. Inhibition of the adherence of *Pseudomonas aeruginosa* to epithelial cells by IgG subclass antibodies. *J Medical Microbiology* 1993; 39(6):459-66.
 55. Masinick S.A., Montgomery C.P., Montgomery P.C., Hazlett L.D. Secretory IgA inhibits *Pseudomonas aeruginosa* binding to cornea and protects against keratitis. *Investigative ophthalmology & visual science* 1997; 38(5):910-918.
 56. Hollsing A.E., Granström M., Vasil M.L., Wretling B., Strandvik B. Prospective study of serum antibodies to *Pseudomonas aeruginosa* exoproteins in cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 1987; 25(10):1868-74.
 57. Balachandran P., Dragone L., Garrity-Ryan L., Lemus A., Weiss A., Engel J. The ubiquitin ligase Cbl-b limits *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin T-mediated virulence. *J Clin Invest* 2007; 117(2):419-27.
 58. Zweigner J., Schumann R.R., Weber J.R. The role of lipopolysaccharide-binding protein in modulating the innate immune response. *Microbes Infect* 2006; 8:946-52.
 59. Overhage J., Campisano A., Bains M., Torfs E.C., Rehm B.H., Hancock R.E. Human host defense peptide LL-37 prevents bacterial biofilm formation. *Infect Immun* 2008; 76(9):4176-82.
 60. Burton M.F., Steel P.G. The chemistry and biology of LL-37. *Natural product reports* 2009; 26(12):1572-84.
 61. Walker T.S., Tomlin K.L., Worthen G.S., Poch K.R., Lieber J.G., Saavedra M.T., et al. Enhanced *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development mediated by human neutrophils. *Infect Immun* 2005; 73(6):3693-701.
 62. Robertson D.M., Parks Q.M., Young R.L., Kret J., Poch K.R., Malcolm K.C. et al. Disruption of contact lens-associated *Pseudomonas aeruginosa* biofilms formed in the presence of neutrophils. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52(5):2844-50.
 63. Mathee K., Ciofu O., Sternberg C., Lindum P.W., Campbell J.I., Jensen P. et al. Mucoid conversion of *Pseudomonas aeruginosa* by hydrogen peroxide: a mechanism for virulence activation in the cystic fibrosis lung. *Microbiology* 1999; 145(Pt6):1349-57.
 64. Young R.L., Malcolm K.C., Kret J.E., Caceres S.M., Poch K.R., Nichols D.P., et al. Neutrophil extracellular trap (NET)-mediated killing of *Pseudomonas aeruginosa*: evidence of acquired resistance within the CF airway, independent of CFTR. *PLoS One* 2011; 6(9): e23637.
 65. Driscoll J.A., Brody S.L., Kollef M.H. The epidemiology, pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs* 2007; 67(3):351-68.
 66. Lin M.F., Chen Y.L. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: treatment and outcome—an analysis of 56 episodes. *Infect Dis Clin Practice* 2006; 14(3):150-3.

67. Vitkauskienė A., Skrodenienė E., Dambrauskienė A., Macas A., Sakalauskas R. *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia: resistance to antibiotics, risk factors, and patient mortality. *Medicina (Kaunas)* 2010; 46(7):490-5.
68. Agodi A., Barchitta M., Cipresso R., Giaquinta L., Romeo M.A., Denaro C. *Pseudomonas aeruginosa* carriage, colonization, and infection in ICU patients. *Intensive care medicine*. 2007; 33(7):1155-61.
69. Руднов В.А., Бельский Д.В., Дехнич А.В., исследовательская группа РИОРИТа. Инфекции в ОРИТ России: результаты национального многоцентрового исследования. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2011; 13(4):294-304.
70. Custovic A., Smajlovic J., Hadzic S., Ahmetagic S., Tihic N., Hadzagic H. Epidemiological surveillance of bacterial nosocomial infections in the surgical intensive care unit. *Materia socio-medica* 2014; 26(1):7-11.
71. Nseir S., Martin-Loeches I., Makris D., Jaillette E., Karvouniaris M., Valles J., et al. Impact of appropriate antimicrobial treatment on transition from ventilator-associated tracheobronchitis to ventilator-associated pneumonia. *Crit Care* 2014; 18(3): R129.
72. Chastre J., Fagon J.Y. Ventilator-associated pneumonia. *American J Respiratory Critical Care Medicine* 2002; 165(7):867-903.
73. Silva Filho L.V.R.F., Ferreira F.D.A., Reis F.J.C., Britto M.C.A.D., Levy C.E., Clark O., et al. *Pseudomonas aeruginosa* infection in patients with cystic fibrosis: scientific evidence regarding clinical impact, diagnosis, and treatment. *J Brasileiro de Pneumologia* 2013; 39(4):495-512.
74. Gallego M., Pomares X., Espasa M., Castaner E., Sole M., Suarez D., et al. *Pseudomonas aeruginosa* isolates in severe chronic obstructive pulmonary disease: characterization and risk factors. *BMC pulmonary medicine* 2014; 14(1):103.
75. Mansoor T., Musani M.A., Khalid G., Kamal M. *Pseudomonas aeruginosa* in chronic suppurative otitis media: sensitivity spectrum against various antibiotics in Karachi. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 2009; 21(2):120-3.
76. Nadel D.M., Lanza D.C., Kennedy D.W. Endoscopically guided cultures in chronic sinusitis. *Am J Rhinol* 1998; 12:233-41.
77. Hazlett L.D. Bacterial infections of the cornea (*Pseudomonas aeruginosa*). *Chem Immunol Allergy* 2007; 92:185-94.
78. Mittal R., Aggarwal S., Sharma S., Chhibber S., Harjai K. Urinary tract infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*: a minireview. *J Infect Public Health* 2009; 2(3):101-11.
79. Salmen P., Dwyer D.M., Vorse H., Kruse W. Whirlpool-associated *Pseudomonas aeruginosa* urinary tract infections. *JAMA* 1983; 250(15):2025-26.
80. Sharma S., Kaur R., Yadav V., Harjai K., Joshi K. Contribution of exotoxin A of *Pseudomonas aeruginosa* in acute and chronic experimental renal infection. *Jap J Infect Dis* 2004; 57(3):119-20.
81. Egan C.A., O'Reilly M.A., Meadows K.P. Relapsing Henoch-Schönlein purpura associated with *Pseudomonas aeruginosa* pyelonephritis. *J American Academy of Dermatology* 2000; 42(2):381-3.
82. Wagenlehner F.M., Pilatz A., Bschleipfer T., Diemer T., Linn T., Meinhardt A., et al. Bacterial prostatitis. *World J Urology* 2013; 31(4):711-6.
83. Kabiri M., Barkat A., El Ajaje H., Allali N., Dafiri R., Lamdouar-Bouazzaoui N. Neonatal epididymo-orchitis caused by *Pseudomonas aeruginosa*: a case report. *Cases Journal* 2010; 3(1):44.
84. Augustin P., Tran-Dinh A., Valin N., Desmard M., Crevecoeur M.A., Muller-Serieys C., et al. *Pseudomonas aeruginosa* post-operative peritonitis: clinical features, risk factors, and prognosis. *Surg Infect* 2013; 14(3):297-303.
85. Yaita K., Sameshima I., Takeyama H., Matsuyama S., Nagahara C., Hashiguchi R., et al. Liver abscess caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* treated with colistin; a case report and review of the literature. *Intern Medicine (Tokyo, Japan)* 2012; 52(12):1407-12.
86. Carek P.J., Dickerson L.M., Sack J.L. Diagnosis and management of osteomyelitis. *Am Fam Physician* 2001; 63(12):2413-20.
87. Фоминых С.Г. Раневые инфекции: значение микробиологического мониторинга при составлении больничного формуляра антимикробных препаратов. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2011; 13(4):368-75.
88. Андреева С.В., Бахарева Л.И., Нохрин Д.Ю. Видовой состав микрофлоры ожоговых ран пациентов Челябинского областного ожогового центра. *Вестник Челябинского государственного университета* 2013; 7:58-9.
89. Guggenheim M., Zbinden R., Handschin A.E., Gohritz A., Altintas M.A., Giovanoli P. Changes in bacterial isolates from burn wounds and their antibiograms: a 20-year study (1986-2005). *Burns* 2009; 35(4):553-60.
90. Calhoun J.H., Murray C.K., Manring M.M. Multidrug-resistant organisms in military wounds from Iraq and Afghanistan. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 2008; 466(6):1356-62.
91. Yu Y., Cheng A.S., Wang L., Dunne W.M., Bayliss S.J. Hot tub folliculitis or hot hand-foot syndrome caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *J American Academy of Dermatology* 2007; 57(4):596-600.
92. Wu D.C., Chan W.W., Metelitsa A.I., Fiorillo L., Lin A.N. *Pseudomonas* Skin Infection. *Amer J Clinical Dermatology* 2011; 12(3):157-69.
93. Lota A.S., Altaf F., Shetty R., Courtney S., Mckenna P., Iyer S. A case of necrotising fasciitis caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bone & Joint Surgery, British Volume* 2010; 92(2):284-5.
94. Müller S., Ebnöther M., Itin P. Green nail syndrome (*Pseudomonas aeruginosa* Nail Infection): two cases successfully treated with topical nadifloxacin, an acne medication. *Case reports in dermatology* 2014; 6(2):180.
95. Thomsen T.R., Aasholm M.S., Rudkjøbing V.B., Saunders A.M., Bjarnsholt T., Givskov M., et al. The bacteriology of chronic venous leg ulcer examined by culture-independent molecular methods. *Wound repair and regeneration* 2010; 18(1):38-49.
96. Adlard P.A., Kirov S.M., Sanderson K., Cox, G.E. *Pseudomonas aeruginosa* as a cause of infectious diarrhoea. *Epidemiology and Infection* 1998; 121(1):237-41.
97. Chuang C.H., Wang Y.H., Chang H.J., Chen H.L., Huang Y.C., Lin T.Y., et al. Shanghai fever: a distinct *Pseudomonas aeruginosa* enteric disease. *Gut* 2014; 63(5):736-43.

98. Bassetti M., Righi E., Viscoli C. *Pseudomonas aeruginosa* serious infections: mono or combination antimicrobial therapy? *Curr Med Chem* 2008; 14:517-22.
99. Wisplinghoff H., Bischoff T., Tallent S.M., Seifert H., Wenzel R.P., Edmond M.B. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* 2004; 39:309-17.
100. Hattemer A., Hauser A., Diaz M., Scheetz M., Shah N., Allen J.P., et al. Bacterial and clinical characteristics of health care-and community-acquired bloodstream infections due to *Pseudomonas aeruginosa* // *Antimicrob Ag Chemotherapy* 2013; 57(8):3969-75.
101. Pena C., Cabot G., Gomez-Zorrilla S., Zamorano L., Ocampo-Sosa A., Murillas J., et al. Influence of virulence genotype and resistance profile in the mortality of *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections. *Clin Infect Dis* 2014; doi: 10.1093/cid/cit666 [Epub ahead of print].
102. Dantas R.C., Ferreira M.L., Gontijo-Filho P.P., Ribas R.M. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: independent risk factors for mortality and impact of resistance on outcome. *J Medical Microbiology* 2014; jmm. 0.073262-0 [Epub ahead of print].
103. Kirschke D.L., Jones T.F., Craig A.S., Chu P.S., Mayernick G.G., Patel J.A., et al. *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens* contamination associated with a manufacturing defect in bronchoscopes. *New England J Medicine* 2003; 348(3):214-20.
104. Gibson J., Sood A., Hogan D.A. *Pseudomonas aeruginosa* – *Candida albicans* interactions: localization and fungal toxicity of a phenazine derivative. *Applied and environmental microbiology* 2009; 75(2):504-13.
105. Leclair L.W., Hogan D.A. Mixed bacterial-fungal infections in the CF respiratory tract. *Medical Mycology* 2010; 48(Suppl 1):125-32.
106. Hogan D.A., Kolter R. *Pseudomonas* – *Candida* interactions: an ecological role for virulence factors. *Science* 2002; 296(5576):2229-32.
107. Morales D.K., Grahl N., Okegbe C., Dietrich L.E., Jacobs N.J., Hogan D.A. Control of *Candida albicans* metabolism and biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* phenazines. *MBio* 2013; 4(1): e00526.
108. Trejo-Hernández A., Andrade-Domínguez A., Hernández M., Encarnación S. Interspecies competition triggers virulence and mutability in *Candida albicans*-*Pseudomonas aeruginosa* mixed biofilms. *The ISME journal* 2014; 8(10):1974-88.
109. Lindsay A.K., Morales D.K., Liu Z., Grahl N., Zhang A., Willger S.D., et al. Analysis of *Candida albicans* mutants defective in the Cdk8 module of mediator reveal links between metabolism and biofilm formation. *PLoS genetics* 2014; 10(10):1004567.
110. Маянский А.Н., Чеботарь И.В., Евтеева Н.И., Руднева Е.И. Межвидовое общение бактерий и образование смешанной (полимикробной) биоплёнки. *Журн микробиол* 2012; 1:93-101.
111. Aliaga L., Mediavilla J.D., Llosa J., Miranda C., Rosa-Fraile M. Clinical significance of polymicrobial versus monomicrobial bacteremia involving *Pseudomonas aeruginosa*. *Europ J Clinical Microbiol Infectious Dis* 2000; 19(11):871-4.
112. Pastar I., Nusbaum A.G., Gil J., Patel S.B., Chen J., Valdes J. et al. Interactions of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 and *Pseudomonas aeruginosa* in polymicrobial wound infection. *PloS one* 2013; 8(2):56846.
113. Hobbs R.D., Downing S.E., Andriole V.T. Four-valve polymicrobial endocarditis caused by *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens*. *American J Medicine* 1982; 72(1):164-8.
114. Qadri S.M.H., Khalil S.H. Polymicrobial septicemia due to *Shigella flexneri* and *Pseudomonas aeruginosa*: first report. *J National Medical Association* 1987; 79(12):128-1292.
115. Bovo R., Benatti A., Ciorba A., Libanore M., Borrelli M., Martini A. *Pseudomonas* and *Aspergillus* interaction in malignant external otitis: risk of treatment failure. *ACTA Otorhinolaryngologica Italica* 2012; 32(6):416-9.
116. Korman T.M., Grayson M.L., Turnidge J.D. Polymicrobial septicemia with *Pseudomonas aeruginosa* and *Streptococcus pyogenes* following traditional tattooing. *J Infection* 1997; 35(2):203.
117. Крыжановская О.А., Лазарева А.В., Пономаренко О.А., Катосова Л.К., Тепаев Р.Ф., Карасева О.В., Чеботарь И.В. Масс-спектрометрическая идентификация возбудителей инфекций кровотока: опыт в педиатрической практике. *Росс педиатрический журнал* 2014; 17(5):4-9.
118. Погорелов А.Г., Чеботарь И.В., Погорелова В.Н. Изучение микробной биопленки на внутренней поверхности катетера методом сканирующей электронной микроскопии. *Клеточные технологии в биологии и медицине* 2014; 2:133-6.
119. Marra A.R., Bearman G.M., Wenzel R.P., Edmond M.B. Comparison of the systemic inflammatory response syndrome between monomicrobial and polymicrobial *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial bloodstream infections. *BMC Infect Dis* 2005; 5(1):94.
120. Чеботарь И.В., Маянский А.Н., Кончакова Е.Д., Лазарева А.В., Чистякова В.П. Антибиотикорезистентность биоплёночных бактерий. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2012; 14(1):51-8.
121. Agodi A., Barchitta M., Ciproso R., Giaquinta L., Romeo M.A., Denaro C. *Pseudomonas aeruginosa* carriage, colonization, and infection in ICU patients. *Intens Care Med* 2007; 33(7):1155-61.
122. Traugott K.A., Echevarria K., Maxwell P., Green K., Lewis J.S. Monotherapy or combination therapy? The *Pseudomonas aeruginosa* conundrum. *Pharmacotherapy*. 2011; 31(6):598-608.
123. Paul M., Leibovici L. Combination antimicrobial treatment versus monotherapy: the contribution of meta-analyses. *Infect Dis Clin North Am* 2009; 23(2):277-93.
124. Bae Y., Lee G.M., Sim J.H., Lee S., Lee S.Y., Park Y.L. Green nail syndrome treated with the application of tobramycin eye drop. *Ann Dermatology* 2014; 26(4):514-16.