

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.10

Идентификация возбудителей инфекционных заболеваний при совместном использовании бактериологической диагностики и MALDI Biotyper*

Воропаева Н.М., Белькова Н.Л., Немченко У.М., Григорова Е.В., Кунгурцева Е.А.,
Носкова О.А., Чemezova Н.Н., Савилов Е.Д.

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Воропаева Наталья Михайловна, e-mail: n.m.shabanova@mail.ru

Резюме

В многопрофильных стационарах имеются условия, способствующие возникновению инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи: высокая концентрация лиц со сниженным иммунитетом на ограниченной территории, наличие значительного числа источников инфекции (больных и носителей), изменение биоценоза слизистых оболочек и кожных покровов у пациентов и медицинского персонала под влиянием широкого применения антибиотиков и цитостатиков.

Цель исследования состояла в сопоставлении стандартизированных бактериологических алгоритмов и системы MALDI Biotyper в микробиологической диагностике возбудителей инфекций на примере заболеваний, связанных с оказанием медицинской помощи.

Материалы и методы. Обследовано 78 пациентов детского многопрофильного стационара регионального уровня (г. Иркутск) в 2018–2019 гг. Возраст больных составил от 1 года до 15 лет. Материалом для исследования служили кровь, мокрота, смывы с трахеобронхиального дерева, зева, носа, раневое отделяемое, жидкость брюшной полости, ликвор и смывы с объектов окружающей среды. Идентификацию выделенных культур (78 штаммов бактерий) осуществляли общепринятыми бактериологическими методами, а также с использованием системы MALDI Biotyper.

Результаты и обсуждения. В структуре инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, лидирующие позиции занимал вид *Pseudomonas aeruginosa*. Стандартизированными бактериологическими методами удалось идентифицировать не все изоляты микроорганизмов. Более надёжной стала идентификация штаммов с характерными проявлениями физиолого-биохимических признаков. Трудности идентификации возникали при наличии атипичных свойств микроорганизмов, когда использование MALDI Biotyper имело решающее значение.

Заключение. Для проведения надёжной диагностики возбудителей инфекций необходимо применять комплексный подход, включающий стандартизированные бактериологические методы и методы идентификации микроорганизмов с помощью масс-спектрометрии на последующих этапах.

Ключевые слова: бактериологическая диагностика, масс-спектрометрия, инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, неферментирующие микроорганизмы, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Klebsiella pneumoniae*

Для цитирования: Воропаева Н.М., Белькова Н.Л., Немченко У.М., Григорова Е.В., Кунгурцева Е.А., Носкова О.А., Чemezova Н.Н., Савилов Е.Д. Идентификация возбудителей инфекционных заболеваний при совместном использовании бактериологической диагностики и MALDI Biotyper. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 88-94. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.10.

Identification of Infectious Diseases Patterns in the Combined Use of Bacteriological Diagnostics and MALDI Biotyper

Voropaeva N.M., Belkova N.L., Nemchenko U.M., Grigorova E.V., Kungurtseva E.A.,
Noskova O.A., Chemezova N.N., Savilov E.D.

Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryaseva str. 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Natalya M. Voropaeva, e-mail: n.m.shabanova@mail.ru

Abstract

In multidisciplinary hospitals, there are conditions conducive to the emergence of healthcare-associated infections: high concentration of people with reduced immunity in a limited area, the presence of a significant number of sources of contagion (patients and carriers), a change in the biocenosis of the mucous membranes and skin of patients and medical personnel under the influence of widespread use of antibiotics and cytostatics.

* Статья опубликована по материалам доклада на IV Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 16 октября 2020 года).

The aim of the research was in the intercomparison of the standardized bacteriological algorithms and the MALDI Biotyper system in the microbiological diagnosis of pathogens as illustrated by the healthcare-associated diseases.

Materials and methods. Seventy-eight patients of a multidisciplinary hospital of a regional level (Irkutsk) in 2018–2019 were examined. The age of patients ranged from 1 to 15 years. The material for the study was blood, sputum, swabs from the tracheobronchial tree, throat, nose, wound, abdominal fluid, cerebrospinal fluid, and swabs from environmental objects. Identification of the isolated cultures (78 bacterial strains) was carried out using generally accepted bacteriological methods, as well as using the MALDI Biotyper system.

Results and discussions. In the structure of healthcare-associated infections, *Pseudomonas aeruginosa* occupied a leading position. Not all isolates of microorganisms were identified by standardized bacteriological methods. The identification of strains with characteristic manifestations of physiological and biochemical characteristics was more reliable. Identification difficulties arose in the presence of atypical properties of microorganisms when the use of MALDI Biotyper would be crucial.

Conclusion. It is necessary to apply an integrated approach to conduct reliable diagnostics of pathogens. It includes standardized bacteriological methods and methods for identifying microorganisms using mass spectrometry in the subsequent stages.

Key words: bacteriological diagnostic, mass spectrometry, healthcare-associated infections, non-fermentative microorganisms, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Klebsiella pneumoniae*

For citation: Voropaeva N.M., Belkova N.L., Nemchenko U.M., Grigorova E.V., Kungurtseva E.A., Noskova O.A., Chemezova N.N., Savilov E.D. Identification of Infectious Diseases Patterns in the Combined Use of Bacteriological Diagnostics and MALDI Biotyper. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 88-94. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.10

ВВЕДЕНИЕ

Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), – одна из актуальных проблем здравоохранения, затрагивающая все страны вне зависимости от степени их экономического развития [1]. По результатам зарубежных исследований, ИСМП в среднем поражают от 5 до 15 % госпитализированных пациентов, а в отделениях высокого риска этот показатель достигает 40 % [2]. В Российской Федерации ежегодно регистрируется 24–30 тысяч случаев ИСМП (в среднем 0,8 на 1000 пациентов). Однако по данным выборочных исследований эти инфекции возникают у 6–8 % пациентов, и их истинное число составляет не менее двух миллионов в год, а риск летального исхода возрастает в 5–7 раз [3]. Результаты латентных исследований показали, что большинство госпитальных штаммов обладает способностью продуцировать биоплёнку. Это может способствовать их повышенной устойчивости и сопровождаться увеличением заболеваемости внутрибольничными инфекциями [4, 5, 6]. Основой эффективных лечебно-профилактических мероприятий является быстрая и качественная идентификация возбудителя.

Стандартизированная диагностика, используемая в клинических лабораториях, включает в себя фенотипические, бактериологические и биохимические методы, в том числе реализованные в виде автоматизированных систем. И хотя некоторые из этих методов успешно применяются для экспресс-диагностики, большинство из них зависит от скорости роста микроорганизмов, в частности, при исследовании их биохимических свойств [7]. Существующие алгоритмы микробиологической диагностики, основанные на культивировании микробов на питательных средах, достаточно информативны, но не всегда отвечают запросам современной клинической медицины и эпидемиологии. Серьёзным недостатком этих методов является длительность выполнения, что может приводить к несвоевременной постановке диагноза и задержке назначения антибактериальной терапии, тем самым увеличивая вероятность негативных исходов заболевания [8]. Возникает необходимость внедрения новых диагностических технологий, которые могли бы обеспечить высокую скорость (не более нескольких часов), большую производительность, достаточную чувствительность и экономическую доступность клинико-микробиологи-

ческого анализа. Основные технологии идентификации, отвечающие перечисленным требованиям, реализуются на основе нескольких подходов – иммунохимических реакций, гибридизации, секвенирования нового поколения, масс-спектрометрии (МС). Тем не менее, у каждого из перечисленных способов помимо своих преимуществ имеются и недостатки [9].

В современных бактериологических лабораториях для идентификации микроорганизмов используется система MALDI Biotyper. Это быстрый и рентабельный метод, реализованный на базе масс-спектрометра с времяпролетным (TOF) масс-анализатором и источником ионизации MALDI [7, 10]. Основным достижением МС-технологии является быстрота и надёжность идентификации большинства актуальных для медицины видов микроорганизмов, которая проводится не только для чистых культур, но и для мономикробного биологического материала. Перспективы МС связаны с разработкой и внедрением в практику внутривидового определения клинически/эпидемиологически значимых штаммов и оценки их свойств, включая вирулентность и резистентность. Главные проблемы микробиологической МС-технологии связаны с трудностями идентификации микроорганизмов в смешанных культурах (включая биологический материал) и с отсутствием стандартных критериев МС-оценки резистентности микробов [11].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сопоставление стандартизированных бактериологических алгоритмов и системы MALDI Biotyper в микробиологической диагностике возбудителей инфекций на примере заболеваний, связанных с оказанием медицинской помощи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материал и объекты исследования. Использованные в работе штаммы были получены от 78 пациентов с тяжёлыми инфекционными заболеваниями (сепсис, острый гематогенный остеомиелит, перитонит, пневмония), находившихся на лечении в отделении реанимации и интенсивной терапии детского многопрофильного стационара регионального уровня (г. Иркутск) в период с 2018 по 2019 гг. Возраст больных составил от 1 года до 15 лет. Материалом для исследования служили кровь

(7 образцов), мокрота (13) смывы с трахеобронхиального дерева (7), зева (23), носа (6), раневое отделяемое (3), жидкость брюшной полости (2), моча (6), вентрикулярный ликвор (2). Также были взяты смывы с объектов окружающей среды (9 образцов): отделение кардиологии – рабочий стол, кран, полка шкафа; онкологическое отделение – подушка в боксе, обеденный стол в боксе; соматическая палата – аппарат ИВЛ, стена у раковины; послеоперационная палата – край раковины; отделение нефрологии – диализная трубка. На идентификацию были взяты 78 штаммов, которые показали множественную устойчивость к антибактериальным препаратам.

Бактериологическую идентификацию выбранных штаммов осуществляли с использованием стандартизированных бактериологических алгоритмов, с учётом морфологических, культуральных и биохимических свойств. Дополнительно в некоторых случаях использовали автоматический бактериологический анализатор Vitek.

Идентификация культур с помощью масс-спектрометрии. После выделения чистой культуры изоляты выращивали 24 часа при температуре 37 °С. Экстракцию белков исследуемых бактерий проводили по стандартному операционному протоколу, рекомендованному компанией Bruker Daltonics для проведения MALDI-TOF прямого белкового профилирования неспорообразующих микроорганизмов. Масс-спектрометрический анализ проводили на приборе ultraflExtreme (Bruker Daltonics, Германия), оснащённом

Nd:YAG-лазером (355 нм) в линейном режиме в диапазоне от 2000 до 20 000 Th, детектировали положительно заряженные ионы, при следующих настройках ионного источника: напряжение на IS1 – 25 кВ, IS2 – 21,75 кВ. Сбор спектров осуществляли в ручном или автоматическом режиме. В качестве калибровочного стандарта использовали бактериальный калибровочный стандарт Bruker (BTS), содержащий типичный профиль пептидов и белков штамма *Escherichia coli* DH5α с дополнительными белками (PHКаза A [M+H]⁺13683.2 Da, Myoglobin [M+H]⁺16952.3).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам идентификации стандартизированным бактериологическим методом и с использованием системы MALDI Biotyper 78 изолятов были отнесены к 14 видам. Из всех исследованных образцов наиболее часто выделяли представителей семейства *Enterobacteriaceae* (39 изолятов), 34 изолята были отнесены к грамотрицательным неферментирующим бактериям, в единичных случаях высевали *Staphylococcus aureus* (2 изолята), *Lysinibacillus fusiformis* (1) и *Bacillus cereus* group (1) (табл. 1).

Среди представителей неферментирующих микроорганизмов доминировали *P. aeruginosa* (20 изолятов) с типичным фенотипом, которые были идентифицированы как бактериологическим методом, так и с помощью системы MALDI Biotyper. Идентификация большинства изолятов синегнойной палочки бактериологическими

Идентификация микроорганизмов, выделенных от пациентов с тяжёлыми инфекционными заболеваниями и с поверхностей внутрибольничных объектов бактериологическими методами и MALDI Biotyper
 Identification of microorganisms isolated from patients with severe infectious diseases and the surfaces of nosocomial objects by bacteriological methods and MALDI Biotyper

Результаты идентификации		Локус	Количество образцов
MALDI Biotyper	Бактериологические методы		
<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>	слизистая зева, мокрота, раневое отделяемое, ТБД, ликвор, моча, поверхности	20
<i>S. maltophilia</i>	<i>S. maltophilia</i>	слизистая зева, слизистая носа, мокрота, кровь	5
<i>S. maltophilia</i>	ННФ	слизистая зева, слизистая носа, мокрота, ТБД, поверхность	7
<i>A. baumannii</i>	<i>A. baumannii</i>	мокрота	1
Нет идентификации	<i>Acinetobacter</i> spp.	кровь	1
<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>	слизистая зева, мокрота, ТБД, кровь, моча, поверхности	17
<i>K. aerogenes</i>	<i>K. aerogenes</i>	слизистая зева, слизистая носа	2
<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	слизистая зева, ТБД, моча, брюшная полость	4
<i>S. marcescens</i>	лактозоотрицательные колонии	брюшная полость, мокрота, слизистая носа, поверхность	4
<i>E. cloacae</i>	лактозоотрицательные колонии	слизистая зева, слизистая носа, поверхность	7
<i>Enterobacter hormaechei</i>	лактозоотрицательные колонии	раневое отдел	1
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella</i> spp.	слизистая зева	2
<i>K. oxytoca</i>	<i>Klebsiella</i> spp.	ТБД	1
<i>C. amalonaticus</i>	лактозоотрицательные колонии	поверхность	1
<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	поверхность, слизистая носа	2
<i>L. fusiformis</i>	грамположительные бактерии	кровь	2
<i>B. cereus</i> group	грамположительные бактерии	кровь	1

Примечание. ННФ – неидентифицируемые неферментирующие микроорганизмы; ТБД – трахеобронхиальное дерево.

методами не составляет трудностей при присутствии таких свойств, как наличие пигмента, положительный тест на оксидазу, характерный земляничный запах, рост при температуре 42 °С и на цетримидном агаре. Трудности определения возникают в случаях выделения *P. aeruginosa* с атипичными свойствами – без запаха и пигмента.

Другой представитель неферментирующих бактерий – *S. maltophilia* – был идентифицирован в пяти случаях двумя методами, а в семи – только с помощью системы MALDI Biotyper. Согласно бактериологической идентификации штаммы были охарактеризованы как неидентифицированные неферментирующие микроорганизмы. Представителей рода *Acinetobacter* выделяли дважды, при этом для *A. baumannii* идентификация совпала обоими методами. В то же время штамм, изолированный из образца крови и охарактеризованный только до рода бактериологическими методами как *Acinetobacter* spp., определить с помощью системы MALDI Biotyper не удалось. Можно полагать, что данный вид не являлся клинически значимым и его белковый профиль отсутствует в базе данных MALDI Biotyper, либо в исследовании была получена смесь близких видов *Acinetobacter* spp., идентифицировать которую также затруднительно.

К представителям семейства *Enterobacteriaceae* отнесены 39 изолятов. Идентификация *K. pneumoniae* (17 изолятов), *K. aerogenes* (2) и *E. coli* (4) совпала двумя методами (16 изолятов), в то время как с определением таксономического положения 13 изолятов возникли трудности. Эти культуры были охарактеризованы только на уровне семейства *Enterobacteriaceae* как грамотрицательные лактозоотрицательные бактерии. После идентификации данных изолятов с использованием системы MALDI Biotyper они были определены как *S. marcescens* (4 изолята), *E. cloacae* (7), *E. hormaechei* (1), *C. amalonaticus* (1). Ещё три

изолята были охарактеризованы только определением родовой принадлежности и отнесены к *Klebsiella* spp. С использованием системы MALDI Biotyper данные изоляты были идентифицированы как *K. pneumoniae* (2 изолята) и *K. oxytoca* (1 изолят).

Структура грамположительных бактерий представлена пятью изолятами, два из которых были идентифицированы как *S. aureus*. Идентификация данного вида не составила труда, как при применении бактериологических методов, так и при использовании MALDI Biotyper. Штаммы *Lysinibacillus fusiformis* (2 изолята) и *Bacillus cereus* group (1 изолят) высеивали из крови. Идентифицировать данные виды удалось только при помощи системы MALDI Biotyper.

Таким образом, в структуре внутрибольничных инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи в детском многопрофильном стационаре регионального уровня, лидирующие позиции занимает *P. aeruginosa* (табл. 2). Идентификация данного вида не составляла трудностей ни в случае применения стандартизированных бактериологических методов, ни при использовании системы MALDI Biotyper.

P. aeruginosa – один из наиболее значимых возбудителей нозокомиальных инфекций [12]. Возможности терапии заболеваний, вызываемых этим патогеном, существенно ограничены из-за широкого спектра его природной резистентности, а также способности к формированию приобретённой устойчивости к антимикробным препаратам. Кроме того, их природную активность ограничивает наличие у *P. aeruginosa* механизма активного выведения липофильных антибиотиков из цитоплазмы – выброса (efflux pump). Инфекции, вызванные синегнойной палочкой, представляют серьёзную проблему для стационара любого профиля [13].

Другой представитель неферментирующих грамотрицательных бактерий, выделенный в качестве возбу-

Сравнение методов идентификации возбудителей инфекций

Таблица 2

Comparison of methods for pathogen identification

Table 2

Микроорганизм	Методы идентификации		Общее количество образцов
	Бактериологические	MALDI Biotyper	
<i>P. aeruginosa</i>	20 (100 %)	20 (100 %)	20
<i>S. maltophilia</i>	5 (41,7 %)	12 (100 %)	12
<i>A. baumannii</i>	1 (100 %)	1 (100 %)	1
<i>K. pneumoniae</i>	16 (88,9 %)	18 (100 %)	18
<i>K. oxytoca</i>	0	1 (100 %)	1
<i>K. aerogenes</i>	2 (100 %)	2 (100 %)	2
<i>E. coli</i>	4 (100 %)	4 (100 %)	4
<i>S. marcescens</i>	1 (25 %)	4 (100 %)	4
<i>E. cloacae</i>	0	7 (100 %)	7
<i>E. hormaechei</i>	0	1 (100 %)	1
<i>C. amalonaticus</i>	0	1 (100 %)	1
<i>S. aureus</i>	2 (100 %)	2 (100 %)	2
<i>L. fusiformis</i>	0	1 (100 %)	1
<i>L. sphaericus</i>	0	1 (100 %)	1
<i>B. cereus</i> group	0	1 (100 %)	1

дителя ИСМП, был *S. maltophilia*. Идентифицировать этот микроорганизм классическими бактериологическими методами удалось менее чем у 50 % изолятов. Данный вид патогена в 2017 г. был выделен в качестве этиологического агента наравне с другими классическими возбудителями, тогда как ранее он упоминался только как оппортунистический вид. *S. maltophilia* достаточно широко распространён в окружающей среде и у здоровых людей в составе микробиоты верхних дыхательных путей [7]. По-видимому, активное применение цефалоспоринов последних поколений и стало причиной появления множественной лекарственной устойчивости у этого вида, что способствовало его проявлению в качестве возбудителя ИСМП [14].

Бактерии семейства *Enterobacteriaceae* также часто регистрируются в качестве возбудителей внутрибольничных инфекций [15]. Второе место после *P. aeruginosa* занимает *K. pneumoniae*. Идентифицировать данный вид классическими бактериологическими методами удалось в 88,9 % случаев. В последние десятилетия отмечается значительный рост заболеваний, вызываемых условно-патогенными микроорганизмами, в т. ч. *K. pneumoniae*. Этот вид входит в группу наиболее распространённых патогенов с высоким уровнем устойчивости, которую IDSA (Infectious Diseases Society of America) обозначило как «ESKAPE-патогены» (*Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp.). Возбудители ESKAPE являются наиболее важными причинами кризиса антибиотикорезистентности. Именно поэтому *K. pneumoniae* отнесены ВОЗ к группе возбудителей с «критически высоким уровнем приоритетности» [16, 17]. Реальной проблемой в течение последних нескольких лет являются штаммы *K. pneumoniae*, вырабатывающие металло-бета-лактамазы (карбапенемазы) [18]. Карбапенемаза-продуцирующие штаммы *K. pneumoniae* устойчивы почти ко всем известным антибактериальным препаратам и в 40–61 % случаев приводят к летальному исходу [19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, стандартизированными бактериологическими методами удаётся надёжно идентифицировать изоляты с характерным проявлением физиолого-биохимических признаков. Трудности идентификации микроорганизмов возникают при наличии фенотипически атипичных свойств, и в этом случае использование MALDI Biotyper будет иметь решающее значение. Для проведения более точной диагностики возбудителей инфекций необходимо применять комплексный подход, включающий как классические бактериологические методы, так и методы идентификации микроорганизмов с помощью масс-спектрометрии на последующих этапах.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов

ЛИТЕРАТУРА

1. Всемирная организация здравоохранения, Департамент оповещения об эпидемиях и пандемиях и ответных мер, Неформальная сеть по профилактике инфекций и инфекционному контролю в здравоохранении. *Основные компоненты для программ профилактики инфекций и инфекционного контроля: второе совещание Неформальной сети по профилак-*

тике инфекций и инфекционному контролю в здравоохранении (26–27 июня 2008 г., Женева, Швейцария). Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2010. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/69982>.

2. Masud F, Vykoukal D. Preventing healthcare-associated infections in cardiac surgical patients as a hallmark of excellence. *Methodist Debakey Cardiovasc J*. 2011; 7(2): 48-50. doi: 10.14797/mdcj-7-2-48

3. Носкова О.А., Поталицина Н.Е., Савилов Е.Д. Анализ многолетней динамики заболеваемости инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи в Иркутской области. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 122-126. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.16

4. Савилов Е.Д., Маркова Ю.А., Немченко У.М., Носкова О.А., Чemezova Н.Н., Кунгурцева Е.А. и др. Способность к биоплёнкообразованию у возбудителей инфекций, выделенных от пациентов крупного многопрофильного детского стационара. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2020; 1: 32-35. doi: 10.34215/1609-1175-2020-1-32-35

5. O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Ann Rev Microbiol*. 2000; 54: 49-79. doi: 10.1146/annurev.micro.54.1.49

6. Yu W, Hallinen KM, Wood KB. Interplay between antibiotic efficacy and drug-induced lysis underlies enhanced biofilm formation at subinhibitory drug concentrations. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017; 62(1): e01603-17. doi: 10.1128/AAC.01603-17

7. Чернуха М.Ю., Шагинян И.А., Жуховицкий В.Г., Аветисян Л.Р., Кулястова Д.Г., Сиянова Е.А., и др. Применение системы MALDI Biotyper и алгоритма микробиологической диагностики для идентификации неферментирующих микроорганизмов, выделенных из дыхательных путей у больных муковисцидозом. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2017; 19(4): 327-334.

8. Hou TY, Chiang-Ni C, Teng SH. Current status of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical microbiology. *J Food Drug Anal*. 2019; 27(2): 404-414. doi: 10.1016/j.jfda.2019.01.001

9. Баранов А.А., Маянский А.Н., Чеботарь И.В., Маянский Н.А. Новая эпоха в медицинской микробиологии. *Вестник РАН*. 2015; 85(11): 1011-1018. doi: 10.7868/S086958731511002X

10. Hernández AP, Ballester-Téllez M, Galán-Sánchez F, Iglesias MR. Application of mass spectrometry to bacterial identification. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2016; 34 (Suppl 2): 8-18. doi: 10.1016/S0213-005X(16) 30185-9

11. Бочарова Ю.А., Чеботарь И.В., Маянский Н.А. Возможности, проблемы и перспективы масс-спектрометрических технологий в медицинской микробиологии (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61(4): 249-256. doi: 10.18821/0869-2084-2016-61-4-249-256

12. Эйдельштейн М.В., Сухорукова М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Микотина А.В., Шек Е.А., и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013–2014. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2017; 19(1): 37-41.

13. Лазарева А.В., Чеботарь И.В., Крыжановская О.А., Чеботарь В.И., Маянский Н.А. *Pseudomonas aeruginosa*: патогенность, патогенез и патология. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2015; 17(3): 170-186.

14. Останкова Ю.В., Семенов А.В., Зуева Е.В., Вашукова М.А., Тоголя А.А. Идентификация *Stenotrophomonas maltophilia* с использованием методов прямого секвенирования 16S PPHK и MALDI-TOF масс-спектрометрии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62(3): 165-170. doi: 10.18821/0869-2084-2017-62-3-165-170

15. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Микотина А.В., Дехнич А.В., и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Enterobacteriaceae* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013–2014. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2017; 19(1): 49-56.

16. Pendleton JN, Gorman SP, Gilmore BF. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2013; 11(3): 297-308. doi: 10.1586/eri.13.12
17. Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. *Int J Antimicrob Agents.* 2013; 41(1): 11-19. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2012.09.008
18. Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *J Antimicrob Chemother.* 2012; 67(7): 1597-1606. doi: 10.1093/jac/dks121
19. Morrill HJ, Pogue JM, Kaye KS, LaPlante KL. Treatment options for carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infections. *Open Forum Infect Dis.* 2015; 2(2): ofv050. doi: 10.1093/ofid/ofv050

REFERENCES

1. Informal Network on Infection Prevention and Control in Health Care, World Health Organization. *Core components for infection prevention and control programmes: Report of the second meeting, Informal Network on Infection Prevention and Control in Health Care (Geneva, Switzerland, 26-27 June 2008)*. Geneva: World Health Organization; 2009. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/69982>.
2. Masud F, Vykoukal D. Preventing healthcare-associated infections in cardiac surgical patients as a hallmark of excellence. *Methodist Debakey Cardiovasc J.* 2011; 7(2): 48-50. doi: 10.14797/mdcj-7-2-48
3. Noskova OA, Potalicina NE, Savilov ED. Analysis of long-term dynamics of incidence of healthcare-associated infections in the Irkutsk region. *Acta biomedica scientifica.* 2019; 4(3): 122-126. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.16. (In Russ.)
4. Savilov ED, Markova YA, Nemchenko UM, Noskova OA, Chemezova NN, Kungurtseva EA, et al. Ability to biofilm formation in infectious agents isolated from patients of a large general children's hospital. *Pacific Medical Journal.* 2020; (1): 32-35. doi: 10.34215/1609-1175-2020-1-32-35. (In Russ.)
5. O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Ann Rev Microbiol.* 2000; 54: 49-79. doi: 10.1146/annurev.micro.54.1.49
6. Yu W, Hallinen KM, Wood KB. Interplay between antibiotic efficacy and drug-induced lysis underlies enhanced biofilm formation at subinhibitory drug concentrations. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017; 62(1): e01603-17. doi: 10.1128/AAC.01603-17
7. Chernukha MYu, Shaginyan IA, Zhukhovitskiy VG, Avertisyan LR, Kulyastova DG, Siyanova EA, et al. Use of the MALDI Biotyper system and the microbiological diagnosis algorithm for identification of non-fermenting bacteria isolated from respiratory tract in cystic fibrosis patients. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya.* 2017; 19 (4): 327-334. (In Russ.)
8. Hou TY, Chiang-Ni C, Teng SH. Current status of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical microbiology. *J Food Drug Anal.* 2019; 27(2): 404-414. doi: 10.1016/j.jfda.2019.01.001
9. Baranov AA, Mayanskii AN, Tchebotar IV, Mayanskii NA. A new epoch in medical microbiology. *Herald of the Russian Academy of Sciences.* 2015; 85(6): 515-522. doi: 10.1134/S1019331615060015
10. Hernández ÁP, Ballester-Télez M, Galán-Sánchez F, Iglesias MR. Application of mass spectrometry to bacterial identification. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2016; 34 (Suppl 2): 8-18. doi: 10.1016/S0213-005X(16) 30185-9
11. Bocharova YuA, Tchebotar IV, Mayanskii NA. The possibilities, problems and perspectives of mass-spectrometry in medical microbiology: publications review. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics).* 2016; 61(4): 249-256. doi: 10.18821/0869-2084-2016-61-4-249-256. (In Russ.)
12. Edelstein MV, Sukhorukova MV, Skleenova EYu, Ivanchik NV, Mikotina AV, Sheck EA, et al. Antimicrobial resistance of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Russia: Results of multicenter epidemiological study 'MARATHON' 2013-2014. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya.* 2017; 19(1): 37-41. (In Russ.)
13. Lazareva AV, Tchebotar IV, Kryzhanovskaya OA, Tchebotar VI, Mayanskii NA. *Pseudomonas aeruginosa*: Pathogenicity, pathogenesis and diseases. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya.* 2015; 17(3): 170-186. (In Russ.)
14. Ostantkova YuV, Semenov AV, Zueva EV, Vashukova MA, Totolian AA. The identification of *Stenotrophomonas maltophilia* using the techniques of direct sequencing 16S rRNA and MALDI-TOF mass-spectrometry. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics).* 2017; 62(3): 165-170. doi: 10.34215/1609-1175-2020-1-32-35. (In Russ.)
15. Sukhorukova MV, Edelstein MV, Skleenova EYu, Ivanchik NV, Mikotina AV, Dekhnich AV, et al. Antimicrobial resistance of nosocomial *Enterobacteriaceae* isolates in Russia: Results of multicenter epidemiological study 'MARATHON' 2013-2014. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya.* 2017; 19(1): 49-56. (In Russ.)
16. Pendleton JN, Gorman SP, Gilmore BF. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2013; 11(3): 297-308. doi: 10.1586/eri.13.12
17. Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. *Int J Antimicrob Agents.* 2013; 41(1): 11-19. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2012.09.008
18. Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: The phantom menace. *J Antimicrob Chemother.* 2012; 67(7): 1597-1606. doi: 10.1093/jac/dks121
19. Morrill HJ, Pogue JM, Kaye KS, LaPlante KL. Treatment options for carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infections. *Open Forum Infect Dis.* 2015; 2(2): ofv050. doi: 10.1093/ofid/ofv050

Сведения об авторах

Воропаева Наталья Михайловна – младший научный сотрудник лаборатории микробиома и микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: n.m.shabanova@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7026-2522X>

Белькова Наталья Леонидовна – кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией микробиома и микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nbelkova@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Немченко Ульяна Михайловна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микробиома и микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: umnemch@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7656-342X>

Григорова Екатерина Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микробиома и микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: buxarowa.ekaterina@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6588-2591>

Кунгурцева Екатерина Александровна – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории микробиома и микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: ekaterina_kozlova_84@bk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4535-9397>

Носкова Ольга Александровна – заместитель главного врача по санитарно-эпидемиологической работе, ГБУЗ «Иркутская государственная областная детская клиническая больница»; младший научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально-значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: noskovaepid@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Чемезова Наталья Николаевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», <http://orcid.org/0000-0001-5375-7785>

Савилов Евгений Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой эпидемиологии и микробиологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; главный научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально-значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: savilov47@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-9217-6876>

Information about the authors

Natalia M. Voropaeva – Junior Research Officer at the Laboratory of Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: n.m.shabanova@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7026-2522X>

Natalia L. Belkova – Cand. Sc. (Biol.), Associate Professor, Leading Research Officer at the Laboratory of Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: e-mail: nlbelkova@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Uliana M. Nemchenko – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: umnemch@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7656-342X>

Ekaterina V. Grigороva – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: buxarowa.ekaterina@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6588-2591>

Ekaterina A. Kungurtseva – Cand. Sc. (Biol.), Junior Research Officer at the Laboratory of Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: ekaterina_kozlova_84@bk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4535-9397>

Olga A. Noskova – Deputy Chief Physician for Sanitary and Epidemiological Work, Irkutsk State Regional Children's Clinical Hospital; Junior Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Important Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: noskovaepid@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Natalia N. Chemezova – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Important Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, <http://orcid.org/0000-0001-5375-7785>

Evgeny D. Savilov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Epidemiology and Microbiology, Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education – Branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Chief Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Important Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: savilov47@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-9217-6876>

Вклад авторов

Воропаева Н.М. – концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста статьи, редактирование

Белькова Н.Л. – концепция и дизайн исследования, редактирование

Немченко У.М. – сбор и обработка материала, редактирование

Григорова Е.В. – сбор и обработка материала, редактирование

Кунгурцева Е.А. – сбор материала

Носкова О.А. – сбор и обработка материала, редактирование

Савилов Е.Д. – концепция и дизайн исследования, редактирование

Статья получена: 10.06.2020. Статья принята: 28.08.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 10.06.2020. Accepted: 28.08.2020. Published: 26.12.2020.