

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-1-14-23>

Эпидемиологический надзор за хроническими инфекциями легких, вызванными бактериями *Burkholderia cepacia complex*, бактериями рода *Achromobacter*, *Pseudomonas aeruginosa* и метициллинрезистентным *Staphylococcus aureus*, у больных муковисцидозом

Л. Р. Аветисян*¹, И. А. Шагинян¹, М. Ю. Чернуха¹, Е. М. Бурмистров¹,
О. С. Медведева¹, Е. В. Русакова¹, Е. А. Сиянова¹, Е. И. Кондратьева²,
А. Г. Чучалин³, А. Л. Гинцбург¹

¹ ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва

² ФГБНУ «Медико-генетический научный центр» РАН, Москва

³ ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Резюме

Актуальность. Отсутствие системы эпидемиологического надзора за хронической инфекцией легких (ХИЛ) у больных муковисцидозом (МВ) сделало бесконтрольным распространение возбудителей ХИЛ среди больных МВ в стационарах, о чем свидетельствовали многочисленные случаи инфицирования больных МВ, лечившихся в различных клиниках России. **Цель исследования** – определить направления эпидемиологического надзора (ЭН) за ХИЛ у больных муковисцидозом и профилактических мероприятий, необходимых для противодействия перекрестному инфицированию больных МВ и распространению доминирующих возбудителей хронической инфекции легких в стационаре. **Материалы и методы.** В статье проанализированы данные, полученные нами в результате исследований эпидемиологических и микробиологических особенностей ХИЛ у больных муковисцидозом. Использовали эпидемиологические, бактериологические и молекулярно-генетические (ПЦР, мультилокусное секвенирование, секвенирование полного генома) методы исследования. **Результаты и обсуждение.** Основываясь на результатах исследований эпидемиологических и микробиологических особенностей инфекций, вызванных вышеуказанными возбудителями, были определены направления ЭН и профилактических мероприятий при МВ. Обоснованы задачи информационно-аналитического блока, включающего мониторинг заболеваемости и микробиологический мониторинг. Установлено, что в рамках микробиологического мониторинга необходимо проводить бактериологическое исследование биоматериала из дыхательных путей больных МВ не реже чем 1 раз в квартал, а также при каждом амбулаторном посещении и госпитализации. Показана необходимость: исследования фенотипических свойств возбудителей, способствующих длительной персистенции в организме больного МВ; определения и мониторинга антибиотикочувствительности микроорганизмов, выделенных от больного в динамике; исследования гипермутабельности. Одной из основных задач мониторинга является молекулярно-генетический анализ возбудителей методом ПЦР с целью внутривидовой идентификации, типирования возбудителей и выявления эпидемических маркеров и клонов (в том числе и международных), идентификации генов детерминант антибиотикорезистентности. **Выводы.** Внедрение ЭН за хронической инфекцией легких позволит улучшить качество этиологической диагностики, своевременно выявлять источники инфекций и предупреждать распространение возбудителей ХИЛ среди больных МВ как в стационарах, так и во вне госпитальных условий, а также оптимизировать тактику антимикробной терапии ХИЛ. Основными направлениями предупреждения распространения возбудителей ХИЛ должны быть разделение потоков больных с разными инфекциями при амбулаторном обследовании и госпитализации.

Ключевые слова: муковисцидоз, хроническая инфекция легких, эпидемиологический надзор, микробиологический мониторинг, профилактические мероприятия

Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Аветисян Л. Р., Шагинян И. А., Чернуха М. Ю. и др. Эпидемиологический надзор за хроническими инфекциями легких, вызванными бактериями *Burkholderia cepacia complex*, бактериями рода *Achromobacter*, *Pseudomonas aeruginosa* и метициллинрезистентным *Staphylococcus aureus*, у больных муковисцидозом. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2020; 19 (1): 14–23. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-1-14-23>.

* Для переписки: Аветисян Лусине Ремуальдовна, к. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии госпитальных инфекций Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи, 123098 Москва, ул. Гамалеи 18. +7 903 1231611, lusavr@mail.ru. ©Аветисян Л. Р. и др.

Directions of Epidemiological Surveillance of Chronic Lung Infections Caused by *Burkholderia cepacia* Complex, *Achromobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa* and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Patients with Cystic Fibrosis

LR Avetisyan^{**1}, IA Shaginyan¹, MYu Chernukha¹, EM Burmistrov¹, OS Medvedeva¹, EV Rusakova¹, EA Siyanova¹, EI Kondrateva², AG Chuchlin³, AL Ginzburg¹

¹ National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russian Federation

² Research Centre of Medical Genetics, Moscow, Russian Federation

³ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Abstract

Relevance. The absence of a system of epidemiological surveillance of chronic lung infection (CLI) in patients with cystic fibrosis (CF) led to the spread of *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* complex and *Achromobacter* spp. among patients with CF during hospitalizations, that is proved by numerous cases of infection in patients with CF treated in various Russian clinics. **Aims.** Determine the directions of epidemiological surveillance (ES) for CLI in patients with CF and preventive measures necessary to counteract the cross-infections among patients with CF and the spread of the dominant pathogens of CLI in the hospital.

Materials and methods. A complex of epidemiological, microbiological and molecular genetic methods was used. Results and discussion. Based on the results of studies of the epidemiological and microbiological features of infections caused by the above-mentioned pathogens, the directions of ES and preventive measures for CF were determined. The tasks of the information-analytical unit, including the monitoring of morbidity and microbiological monitoring, are substantiated. It has been established that in the framework of microbiological monitoring, it is necessary to conduct bacteriological examination of biomaterial from the respiratory tract of patients with CF not less than 1 time per quarter, as well as at each outpatient visit and at hospitalization. The necessity of studying the phenotypic properties of pathogens contributing to long-term persistence in the patient's body of the CF, the definition and monitoring of the antibiotic sensitivity of microorganisms isolated from the patient over time, and the study of hypermutability was shown. One of the main tasks of monitoring is molecular genetic analysis of pathogens by PCR for the purpose of intraspecies identification, typing of pathogens and detection of epidemic markers and clones (including international ones), identification of genetic determinants of antibiotic resistance. **Conclusion.** The introduction of ES for chronic lung infection will improve the quality of etiological diagnosis, will contribute early identification of the sources of infections and prevent the spread of CLI pathogens among patients with CF in hospitals and in non-hospital conditions, as well as optimize the tactics of CLI antimicrobial therapy. The main directions of preventing the spread of CLI pathogens should be the separation of patients with various infections during outpatient examination and isolation during hospitalization.

Key words: cystic fibrosis, chronic lung infection, epidemiological surveillance, microbiological monitoring, preventive measures
No conflict of interest to declare.

For citation: Avetisyan LR, Shaginyan IA, Chernukha MYu et al. Directions of Epidemiological Surveillance of Chronic Lung Infections Caused by *Burkholderia cepacia* complex, *Achromobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa* and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Patients with Cystic Fibrosis. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2020; 19 (1): 14–23 (In Russ.). [https://doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-1-14-23](https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-1-14-23).

Введение

Муковисцидоз (МВ) – самое распространенное наследственное заболевание. Это мультисистемное заболевание, поражающее дыхательные пути, желудочно-кишечный тракт, печень, поджелудочную железу, слюнные, потовые железы, репродуктивную систему.

Продолжительность и качество жизни больных МВ, в первую очередь зависит от тяжести поражений органов дыхания, среди которых ведущее место принадлежит хронической инфекции легких

(ХИЛ), основными возбудителями которой являются *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, бактерии комплекса *Burkholderia cepacia* (Всс) и бактерии рода *Achromobacter* [1]. Множественная резистентность к антибиотикам большинства этих этиологических агентов, их гетерогенность и изменчивость обуславливают трудности лечения вызываемых ими инфекций [2]. Схемы терапии больных муковисцидозом в России из-за отсутствия необходимых препаратов полностью не выполняются. Из-за низкого уровня оказания помощи пациентам

**** For correspondence:** Lusine R. Avetisyan, Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher at Laboratory of Molecular Epidemiology of Nosocomial Infections, of National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya. 18, Gamalei st., Moscow, 123098 Russian Federation +7-903-1231611, lusavr@mail.ru, ©Avetisyan LR et al.

до взрослого возраста доживает только 25% больных. Отсутствие вакцинных препаратов для профилактики ХИЛ у больных МВ, вызванных доминирующими возбудителями, подразумевает ведущую роль неспецифических методов профилактики. Поэтому не вызывает сомнения, что одним из важнейших условий более благоприятного течения заболевания является его ранняя диагностика и проведение мероприятий, направленных на предупреждение колонизации легочной ткани возбудителями ХИЛ. Выполнение этих условий может способствовать увеличению продолжительности и качества жизни больных МВ.

Одной из эпидемиологических особенностей ХИЛ разной этиологии является то, что эти инфекции могут иметь как госпитальное, так и внегоспитальное происхождение. В связи с этим для предупреждения распространения бактерий *Bcc*, *Achromobacter* spp., *P. aeruginosa* и метициллин-резистентный золотистый стафилококк (MRSA) среди больных МВ как в стационарах, так и во внегоспитальных условиях, необходимо внедрить постоянный эпидемиологический надзор (ЭН), который позволил бы управлять эпидемическим процессом инфекций, вызванных этими бактериями.

Контроль за МВ на территории РФ начал осуществляться с 2011 г. с выходом ежегодного Регистра больных МВ, включающего, данные, касающиеся возрастно-половой структуры больных МВ, показателей смертности и ее причин, диагностики и генетики МВ, терапии и трансплантации при МВ, а также легочных и внелегочных осложнений. В Регистре отсутствовали данные об основных источниках возбудителей ХИЛ и путях их передачи, о распространенности эпидемических клонов доминирующих возбудителей среди больных МВ в России, о биологических свойствах эпидемически значимых клонов доминирующих возбудителей ХИЛ. То есть в России фактически не были изучены эпидемиологические и микробиологические особенности ХИЛ разной этиологии. Из-за чего до настоящего времени отсутствовала система ЭН за хронической инфекцией легких у больных МВ, которая позволила бы управлять эпидемическим процессом и предупреждать распространение доминирующих возбудителей ХИЛ среди больных МВ. Существующие требования, предусмотренные нормативной документацией относительно иммунокомпрометированных больных, в том числе и больных МВ, не обеспечивали профилактику перекрестного инфицирования больных МВ такими бактериями как *Bcc* и *Achromobacter* spp., о чем свидетельствовали многочисленные случаи инфицирования больных МВ, лечившихся в различных стационарах России.

Цель – определить направления эпидемиологического надзора за хронической инфекцией легких у больных муковисцидозом и профилактических мероприятий, необходимых для противодействия

перекрестному инфицированию больных МВ и распространению доминирующих возбудителей ХИЛ в стационаре.

Материалы и методы

Проведен анализ данных, полученные нами ранее в исследованиях эпидемиологических и микробиологических особенностей возникновения и течения хронических заболеваний легких у больных муковисцидозом. В исследованиях использовались эпидемиологические, бактериологические и молекулярно-генетические (ПЦР, мультилокусное секвенирование, секвенирование полного генома) методы [3–5].

Результаты и обсуждение

Эпидемиологический надзор

Целью эпидемиологического надзора при МВ является получение данных, на основе которых можно будет оценивать эпидемическую ситуацию в отношении вышеуказанных инфекций, разрабатывать, внедрять и характеризовать направления профилактических мероприятий для предупреждения распространения *Bcc*, *Achromobacter* spp., *P. aeruginosa* и MRSA среди больных МВ, а также для предупреждения инфицирования других госпитализированных иммунокомпрометированных пациентов мультирезистентными клонами вышеуказанных бактерий. Для этого обязательным является создание референс-лаборатории (для РФ и федеральных округов или субъектов).

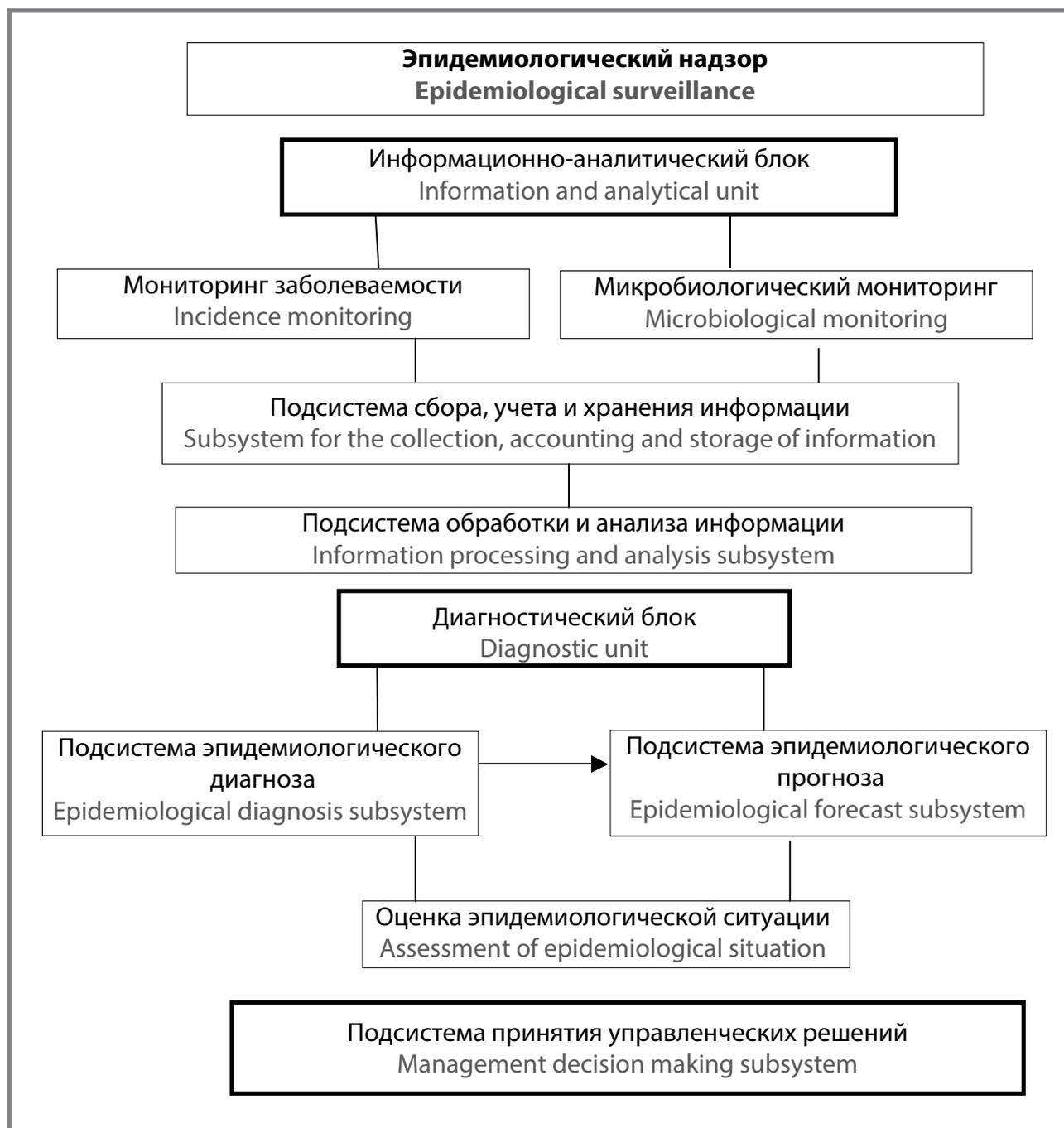
В системе ЭН за ХИЛ у больных МВ, как и при других инфекционных заболеваниях предполагается существование трех основных блоков: информационно-аналитического, диагностического и управленческого (принятие решений по профилактике и противодействию распространения возбудителей ХИЛ в стационарах, а также внебольничных условиях и среди больных МВ, рис. 1) [3].

Выявленные в процессе исследований эпидемиологические и микробиологические аспекты ХИЛ [4,5] определили направления ЭН при муковисцидозе, которые в основном касаются первого блока.

Задачи первого блока:

- 1) мониторинг заболеваемости муковисцидозом:
 - регистрация всех случаев МВ и его исходов
 - регистрация всех случаев хронической инфекции легких и их характеристика у больных МВ разного возраста;
 - оценка продолжительности жизни больных МВ и ее изменения с учетом усовершенствования тактики лечебных и профилактических мероприятий в отношении МВ;
 - оценка распространенности инфекций, вызванных *Bcc*, *Achromobacter* spp., *P. aeruginosa* и MRSA среди больных МВ в каждом субъекте РФ;
- 2) микробиологический мониторинг хронической инфекции, вызванной *Bcc*, *Achromobacter* spp., *P. aeruginosa* и MRSA.

Рисунок 1. Схема эпидемиологического надзора за хронической инфекцией легких у больных муковисцидозом
Figure 1. The scheme of epidemiological surveillance of chronic lung infection in patients with cystic fibrosis



В рамках информационно-аналитической подсистемы ЭН предусматривается выявление, учет, регистрация всех случаев хронической инфекции легких у больных МВ, вызванных *Bcc*, *Achromobacter spp.*, *P. aeruginosa* и MRSA, в локальных лабораториях и передача информации в референс-лабораторию. В референс-лаборатории должны проводить обработку и анализ данных из региональных центров муковисцидоза и медицинских организаций (МО) различных регионов, где госпитализируются больные МВ, и собирать информацию, касающуюся каждого больного (о нутритивном, клиническом, микробиологическом статусах).

В настоящее время в России единственным инструментом анализа информации, касающейся

больных МВ, является Регистр больных МВ, в котором отражены данные из регионов с функционирующими центрами МВ о пациентах, которые наблюдаются в этих центрах.

В Регистр 2016 г. включены данные 3049 больных МВ из 81 региона России, среди которых мужчины составляют 51,5%. Согласно Регистру распространенность *S. aureus* среди больных МВ составляет 58,0% (MRSA – 4,0%), *P. aeruginosa* – 31,6%, *Bcc* – 6,0%, *Achromobacter spp.* – 4,4%, *S. maltophilia* – 3,5%, нетуберкулезными микобактериями – 0,7%. При этом наблюдаются выраженные колебания распространенности *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Bcc*, *Achromobacter spp.* и *S. maltophilia* по регионам

Original Articles

страны. Высокая распространенность *Bcc* была в тех субъектах РФ, в которых больные были госпитализированы в одну из федеральных клиник (Центральный, Северо-западный, Приволжский федеральные округа). Такую же закономерность наблюдали и при анализе распространенности *Achromobacter spp.* Эти данные могут свидетельствовать о госпитальном характере инфекций, вызванных *Bcc* и *Achromobacter spp.*

Анализ данных НИИ пульмонологии, касающихся распространенности *Bcc* среди взрослых больных МВ в России, показал рост доли взрослых среди больных с *Bcc* инфекцией от 0% (2000 г.) до 23,9–24,3% (2009–2011 гг.). Далее наблюдалась тенденция к снижению до 16% к 2016 г. [6]. Благодаря ретроспективному анализу нам удалось объяснить, что такой пик был обусловлен вспышкой госпитальной инфекции, вызванной *Bcc* в Российской детской клинической больнице (РДКБ), начавшейся в 2006 г. Дальнейшая тенденция к снижению в первую очередь объясняется большей смертностью среди больных, инфицированных *Bcc*, а также внедрением в практику жестких мер инфекционного контроля.

Согласно Регистру, начиная с 2011 г. по 2016 г., частота выделения *S. aureus*, *P. aeruginosa* и *Bcc* от больных МВ в динамике была практически на одинаковом уровне [7].

Для своевременного выявления вышеуказанных возбудителей необходим постоянный микробиологический мониторинг хронической инфекции легких, в основе которого лежит точная лабораторная диагностика. У больных МВ диагностика ХИЛ затруднена в силу множественности возбудителей, их атипичных фенотипических свойств [8,9] и схожестью фенотипа ряда неферментирующих грамотрицательных микроорганизмов (НФМО) [10,11]. Все это стало предпосылкой для создания алгоритма микробиологической диагностики ХИЛ у больных МВ [12]. В дальнейшем данный алгоритм был дополнен бактериологическими и молекулярно-генетическими методами для выявления эпидемически значимых клонов, что необходимо для осуществления эпидемиологического надзора за ХИЛ у больных МВ. В связи с этим разработанный алгоритм диагностики в настоящее время включает два основных этапа исследований: 1. выделение чистой культуры и этиологическая диагностика; 2. выявление эпидемически значимых клонов для эпидемиологических исследований (рис. 2).

Изменчивость микрофлоры больных МВ [2,4,5] обосновывает необходимость в рамках микробиологического мониторинга проводить бактериологическое исследование биоматериала из дыхательных путей больных МВ не реже чем 1 раз в квартал, а также при каждом амбулаторном посещении и при госпитализациях, что позволит назначить адекватную антибиотикотерапию, а также разделить потоки больных с инфекциями разной этиологии при амбулаторном обследовании и при госпитализациях.

Своевременной организации профилактических мероприятий будет способствовать внедрение скрининговых экспресс методов (экспресс выявление в мокроте больного доминирующих возбудителей методом мультиплексной ПЦР или секвенирования 16s rDNA).

В связи с тем, что ХИЛ у больных МВ может быть вызван длительной циркуляцией одного клона, или реинфекцией возбудителем другого генотипа того же вида или другого вида микробиологический мониторинг хронической инфекции легких должен включать этиологическую расшифровку хронической инфекции и обострения, выявлять новых возбудителей, проводить их внутривидовое типирование.

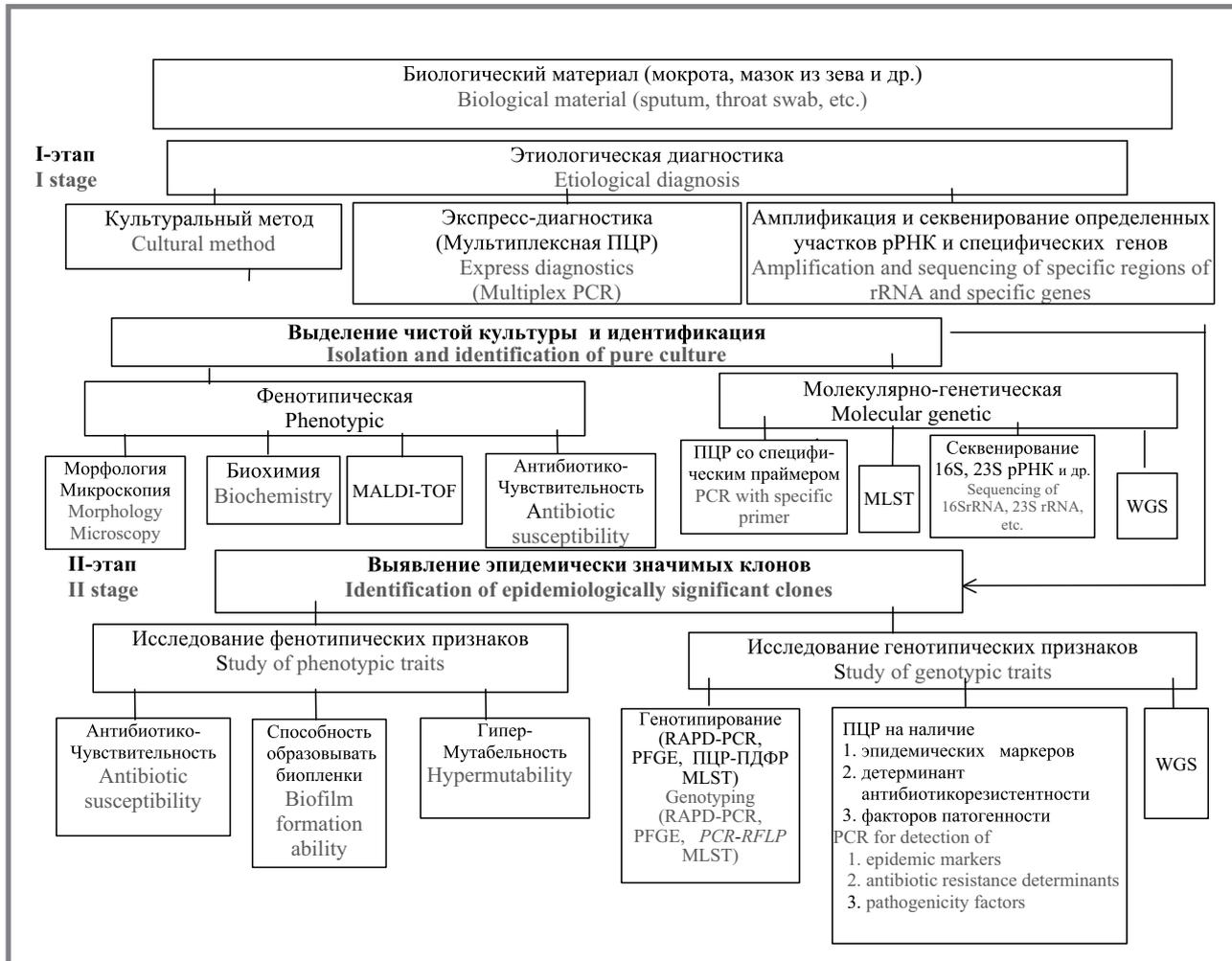
Установленная нами изменчивость чувствительности к антибиотикам является клинически и эпидемиологически значимой и указывает на необходимость мониторинга антибиотикорезистентности как в популяции конкретного вида микроорганизма, так и у клональных изолятов, выделяемых в динамике от одного пациента. При этом фенотипическая и генотипическая гетерогенность популяций возбудителей указывает на необходимость определения спектра устойчивости возбудителей к антибактериальным препаратам с учетом всех морфологических вариантов, выделенных из биоматериала больного МВ. Изменчивость бактерий при персистенции в легких больных МВ, выявленная нами с помощью секвенирования полного генома изолятов, выделенных в динамике от больных МВ, указывает на необходимость молекулярно-генетического мониторинга, который позволит: исследовать микроразвитие процессов; следить за изменчивостью возбудителей; обнаружить возникновение новых эпидемических клонов, а также клонов с высокой вирулентностью и новых антибиотикорезистентных клонов.

Для установления эпидемической значимости возбудителей в рамках мониторинга необходимо также исследовать штаммы фенотипическими и молекулярно-генетическими методами для выявления эпидемических маркеров.

При первичном обнаружении у больного МВ бактерий *Bcc*, *Achromobacter spp.*, мультирезистентного *P. aeruginosa* и MRSA, а также нового генотипа необходимо проводить эпидемиологическое расследование с целью выявления источников инфекции, факторов и путей передачи возбудителей. Для этого потребуются собрать эпидемиологический анамнез, обследовать контактных лиц (другие больные МВ, медицинский персонал, родственники), а также провести бактериологическое исследование объектов окружающей среды в стационаре и провести внутривидовое типирование выделенных микроорганизмов. При этом штаммы *Bcc*, *Achromobacter spp.*, *P. aeruginosa* и MRSA, выделенные от источника инфекции, с объектов среды, являющихся факторами передачи, и от обследуемого больного МВ должны быть идентичными по генотипическим свойствам. Типирование по фенотипическим свойствам имеет

Рисунок 2. Алгоритм исследования биологического материала при хронической инфекции легких у больных муковисцидозом

Figure 2. The algorithm of analysis of biological material from cystic fibrosis patients with chronic lung infection



низкую дискриминационную способность с одной стороны из-за схожести этих свойств между отдельными клонами бактерий, с другой стороны, как показали наши исследования, из-за наличия фенотипической гетерогенности между представителями одного клона. Поэтому, например, антибиотикотипирование не может быть использовано в качестве единственного метода при исследовании эпидемического распространения этих возбудителей. В связи с этим более информативным являются молекулярно-генетические методы типирования. Для оперативного анализа и выявления источника необходимо использовать быстрые и относительно дешевые методы, основанные на ПЦР (например, RAPD-ПЦР, ПЦР-ПДФР). Генетическое типирование на данном этапе могут выполнять как лаборатории стационаров, использующие в своей практике ПЦР, так и референс-лаборатории.

При невозможности внутривидового типирования в обычной микробиологической лаборатории, штаммы *Bcc* и *Achromobacter spp.* необходимо отправлять в референс-лабораторию, где проводят типирование и исследуют фенотипические свойства штаммов с целью выявления их эпидемической значимости.

В референс-лабораторию необходимо отправлять:

- все изоляты *Bcc*, *Achromobacter spp.*, мультирезистентных *P. aeruginosa* и *MRSA*, впервые выделенные от каждого пациента;
- по крайней мере, по одному изоляту *Bcc*, *Achromobacter spp.*, мультирезистентного *P. aeruginosa* и *MRSA* в год от каждого пациента;
- любой изолят, подозрительный на возможную связь со вспышкой или с групповыми заболеваниями больных;
- граммотрицательные колистинрезистентные микроорганизмы, которые не были идентифицированы окончательно после рутинного анализа или при сомнительных результатах.

Из наиболее распространенных среди больных МВ клонов необходимо формировать репрезентативную выборку и проводить типирование методами, основанными на секвенировании, имеющими высокую разрешающую способность и высокую межлабораторную воспроизводимость результатов (мультилокусное или однолокусное секвенирование). Это даст возможность осуществлять слежение за динамикой распространения среди

Таблица 1. Основные направления исследования доминирующих возбудителей у больных МВ для эпидемиологического надзора**Table 1. The main directions for the research on dominant pathogens in patients with CF for epidemiological surveillance**

Возбудитель Pathogen	Направления исследования возбудителя Pathogen research directions
<i>B. cepacia complex</i>	Мультирезистентность, мониторинг антибиотикочувствительности, способность образовывать биопленки; гипермутабельность, генотипирование методом RAPD-ПЦР и MLST, выявление BCESM, ген <i>cbl</i> , наличие МГЭ с помощью ПЦР, WGS Multi-resistance, monitoring of antibiotic susceptibility, biofilm formation ability, hypermutability, RAPD-PCR genotyping, MLST, detection of BCESM, <i>cbl</i> gene, MGE by PCR, WGS
<i>P. aeruginosa</i>	Мультирезистентность, мониторинг антибиотикочувствительности, способность образовывать биопленки, гипермутабельность, генотипирование методом RAPD-ПЦР и MLST скрининг на наличие металло-β-лактамазы, выявление МГЭ, WGS Multi-resistance, monitoring of antibiotic susceptibility, biofilm formation ability, hypermutability, RAPD-PCR genotyping, MLST, screening of metallo-β-lactamase, detection of MGE by PCR, WGS
<i>S. aureus</i>	Мультирезистентность, мониторинг антибиотикочувствительности, способность образовывать биопленки, генотипирование методом RAPD-ПЦР, ПЦР-ПДРФ коагулазного гена и MLST, Sccmec типирование MRSA, spa-типирование, ПЦР для обнаружения <i>mecA</i> , <i>mecC</i> , лейкоцидина Пантона-Валентайна, выявление МГЭ, WGS Multi-resistance, monitoring of antibiotic susceptibility, biofilm formation ability, hypermutability, RAPD-PCR genotyping, PCR-RFLP analysis of the coagulase gene and MLST, SCCmec typing of MRSA, spa-typing, detection of <i>mecA</i> , <i>mecC</i> , Panton-Valentine leukocidin and MGE by PCR WGS
<i>Achromobacter spp.</i>	Мультирезистентность, мониторинг антибиотикочувствительности, способность образовать биопленки, гипермутабельность, генотипирование методом RAPD-ПЦР и MLST, выявление МГЭ, WGS Multi-resistance, monitoring of antibiotic susceptibility, biofilm formation ability, hypermutability, RAPD-PCR genotyping and MLST, detection of MGE by PCR, WGS

Примечание: BCESM (*Burkholderia cepacia epidemic strain marker*) – маркер эпидемических штаммов бактерий комплекса *B. cepacia*; *cbl* – ген, ответственный за продукцию пилей *Cbl*, маркер эпидемических штаммов *Bcc*; МГЭ – мобильный генетический элемент; WGS (*whole genome sequencing*) – секвенирование полного генома.

Note: BCESM – *Burkholderia cepacia epidemic strain marker*; *cbl* – gene responsible for the production of *Cbl* pili, marker of epidemic strains of *Bcc*; MGE – mobile genetic element; WGS – whole genome sequencing.

больных МВ клонов, имеющих эпидемическое значение, а также оценить циркуляцию международных эпидемических клонов. С целью слежения за микроэволюцией возбудителей в процессе хронической инфекции проводят секвенирование полного генома.

Таким образом, при исследовании доминирующих возбудителей, выделенных от больных МВ, в референс-лаборатории должно проводиться:

1. подтверждение принадлежности штаммов к *Bcc*, *Achromobacter spp.*, *P. aeruginosa* и MRSA с помощью матрично-активированной лазерной десорбция/ионизация (МАЛДИ) масс-спектрометрии или молекулярно-генетическим методом;
2. исследование фенотипических свойств возбудителей, способствующих длительной персистенции в организме больного МВ: определение и мониторинг антибиотикочувствительности, способности образовывать биопленки, гипермутабельности;
3. молекулярно-генетический анализ генома методом ПЦР с целью внутривидовой идентификации, типирования возбудителей (RAPD – случайно амплифицируемая полиморфная ДНК, MLST – типирование на основе мультилокусных последовательностей) и выявления эпидемических маркеров и клонов (в том числе и международных), идентификации генов детерминант антибиотикорезистентности;
4. молекулярно-генетический мониторинг за популяцией возбудителя (секвенирование геномов возбудителей).

5. создание и ведение баз данных эпидемически значимых возбудителей ХИЛ.

В таблице 1 приведены основные направления исследования доминирующих возбудителей у больных МВ для эпидемиологического надзора.

Качественная, реализация информационной подсистемы эпиднадзора возможна только при автоматизированной системе сбора, учета, анализа и хранения эпидемиологической информации, включающей данные лабораторных исследований, о каждом больном МВ,

В настоящее время в дополнение к существующему национальному Регистру МВ нами совместно с врачами Медико-генетического научного центра разработана и зарегистрирована «Программа для контроля микробиологического пейзажа дыхательных путей больных муковисцидозом РФ и чувствительности к антибактериальным препаратам (ПКМПДП)», которая позволяет лечащим врачам получать информацию о результатах бактериологических исследований из лаборатории в режиме онлайн, проводить мониторинг микрофлоры дыхательных путей больных МВ, быстро реагировать на изменения микрофлоры, особенно при получении сведений о первом высеве *Bcc*, *Achromobacter spp.*, *P. aeruginosa* или MRSA, а также дает возможность формирования отчетов по когорте пациентов, например, в зависимости от возраста и пола; следить за изменением антибиотикорезистентности возбудителя хронической инфекции легких; оценивать эффективность схем

терапии. ПКМПДП будет в дальнейшем расширена новыми функциональными возможностями.

В рамках информационно-аналитической подсистемы также необходимо следить за качеством и эффективностью проводимых противоэпидемических и профилактических мероприятий.

Задачей второго блока должен быть эпиданализ (ретроспективный и оперативный) полученных данных, позволяющий выявить существующие проблемы, характеризовать особенности эпидемического процесса изучаемых инфекций в настоящее время и сформулировать эпидемический диагноз, необходимый для обоснования управленческих решений.

При проведении эпиданализа мы установили, что к хронической инфекции легких, вызванной *Bcc*, *Achromobacter spp.*, *P. aeruginosa* и MRSA, восприимчивы все больные МВ. Антибиотикотерапия не всегда приводит к эрадикации бактерий, в связи с чем формируется ХИЛ, обусловленная персистенцией мультирезистентных клонов бактерий, и больные МВ, являясь источником таких бактерий, представляют опасность для контактных лиц.

Исследование случай-контроль показало, что группой риска инфицирования *Bcc*, *Achromobacter spp.* и MRSA являются госпитализированные больные. При этом основным условием, поддерживающим эпидемический процесс, была госпитализация детей в общие палаты и контакт с инфицированными больными МВ детьми, что способствовало перекрестному инфицированию.

Результаты молекулярно-генетического типирования подтвердили внутрибольничный характер инфицирования бактериями *Bcc*, рода *Achromobacter* и MRSA. Доказательством госпитального инфицирования была генетическая идентичность возбудителей, выделенных от больных МВ детей, госпитализированных в соответствующие стационары одновременно или на протяжении нескольких месяцев. Генетическая идентичность является признаком клонального распространения возбудителей и свидетельствует об их происхождении из одного источника (очага – стационара) и цепочке последующих заражений.

В результате проведенного эпиданализа мы установили, что стационарами с риском инфицирования бактериями *Bcc* являлись РДКБ (Москва), где с 2006 г. по 2013 г. были инфицированы более 100 больных МВ детей, СДГКБ № 1 (г. Самара) – более 10 детей (2011–2012 гг.), ДГБ Святой Ольги (Санкт-Петербург) – 3 больных детей (2016 г.), КОКБ (г. Кемерово) – более 20 (2017 г.) и бактериями *Achromobacter spp.* – РДКБ (Москва) – более 15 больных МВ детей (2006–2013 гг.).

После госпитального инфицирования детей больных МВ *Bcc* обострение легочной инфекции возникало через 2 и более месяца (до 9 месяцев). Длительность инкубационного периода может зависеть от многих факторов, в том числе от проводимой антибиотикотерапии инфекций, вызванных другими возбудителями.

Таким образом, была расшифрована этиология возникших на разных территориях вспышек инфекций у больных МВ: вспышка в РДКБ была вызвана *B. cenocepacia* ST709 и *A. ruhlandii* ST36, в СДГКБ № 1 – *B. cenocepacia* ST208, в ДГБ Святой Ольги – *B. cenocepacia* ST1083. Вышеуказанные генотипы возбудителей можно считать эпидемически значимыми для хронической инфекции легких у больных МВ в России.

По результатам молекулярно-генетического типирования было оценено генетическое разнообразие доминирующих возбудителей, циркулирующих среди больных МВ России: кроме *Bcc*, все виды характеризовались высоким генетическим разнообразием, что свидетельствовало о множественности источников инфекции. Это означает, что ХИЛ у больных МВ в России, вызванная бактериями *Bcc*, является преимущественно госпитальной инфекцией, а инфекции, вызванные *Achromobacter spp.*, *P. aeruginosa* и MRSA – госпитальными и внегоспитальными.

Для больных МВ эпидемически значимыми являются сиквенс-типы ST709 и ST208 *B. cenocepacia*, которыми инфицированы 79,5% и 8,5% пациентов с *Bcc* инфекцией соответственно, ST36 *A. ruhlandii*, который был обнаружен у 33,3% пациентов нашей выборки, инфицированных *Achromobacter spp.* и ST8 и ST1 MRSA, которым были инфицированы соответственно 29,4% и 9,8% пациентов с MRSA-инфекцией.

Заражение *Bcc*, *Achromobacter spp.* и *P. aeruginosa* и MRSA происходит преимущественно воздушно-капельным путем, и источником при этом являются другие больные МВ. Возможна также передача возбудителя между пациентами через загрязненные при кашле руки. Пациенты, выделяющие бактерии *Bcc*, *Achromobacter spp.*, *P. aeruginosa* и MRSA, могут также ими контаминировать больничные помещения и оборудование для респираторной терапии. Бактерии *Bcc* были выделены из воздуха в комнатах, где находились инфицированные пациенты [13]. Поэтому вероятна косвенная передача рассматриваемых бактерий, которые могут выживать в течение долгого времени в капельках аэрозоля в воздухе и на различных поверхностях.

Анализ эпидемиологической информации показал, что причиной распространения *Bcc* и *Achromobacter spp.* среди больных МВ в России являлась недостаточно эффективная система профилактики: отсутствие разделения по микрофлоре (в амбулаторных условиях и при обследовании; при госпитализации в совместные палаты); отсутствие надзора за инфекциями, вызванными эпидемически значимыми микроорганизмами; низкий уровень микробиологической диагностики в лабораториях; отсутствие у больных знаний о правилах поведения; организация совместных мероприятий для пациентов. Соблюдение правил профилактики может привести к снижению

Original Articles

инфицирования больных МВ эпидемически значимыми возбудителями.

Управленческие решения (третий блок) в системе ЭН за хронической инфекцией легких у больных МВ включают планирование мероприятий по профилактике инфицирования больных МВ бактериями *Bcc*, *P. aeruginosa*, MRSA и *Achromobacter* spp., и распространения вызываемых этими возбудителями инфекций как в стационарах, так и во внегоспитальных условиях, а также контроль за исполнением этих планов и их коррекцию.

При этом надо учитывать, что основные профилактические мероприятия должны проводиться как в стационарах, так и при организации амбулаторной помощи больным МВ. В существующих нормативных документах (СанПин 2.1.3.2630-10 и СП 3.1/3.2.3146-13) не учитывается особенности ведения больных МВ. В связи с этим нами были предложены дополнительные требования, необходимые для максимального уменьшения распространения возбудителей ХИЛ от больных МВ.

Основные требования при организации амбулаторной помощи в специализированных центрах муковисцидоза пациенты с МВ:

1. должны быть разделены на потоки по дням приема в зависимости от результатов бактериологического исследования биоматериала из дыхательных путей;
2. не должны иметь контактов в зонах ожидания (в регистратуре, палатах, отделениях аптеки и рентгенологии);
3. при нахождении в одном помещении они должны держаться на расстоянии не менее 2 м друг от друга;
4. соблюдать основные меры профилактики (носить маски).

Основные требования при организации стационарного лечения включают:

1. перед госпитализацией пациенты должны пройти бактериологическое обследование (не позднее, чем за 1 месяц);
2. больные должны находиться в одноместных палатах (боксы) согласно данным о микрофлоре дыхательного тракта;
3. госпитализация пациентов с *Bcc* должна осуществляться в лечебные учреждения, имеющие специализированные для данной инфекции боксы;
4. больные, инфицированные бактериями *Bcc*, MRSA, *Achromobacter* spp., мультирезистентными штаммами *P. aeruginosa*, нетуберкулезными микобактериями, должны находиться

в отдельной палате/боксе с душем и туалетом, желательно с отдельным входом;

5. госпитализация больных с резистентной флорой ведется в приемном отделении для инфекционных больных, и больные должны проходить в палаты (боксы) через отдельный вход;
6. для каждого пациента с МВ должно быть отдельное медицинское оборудование (например, индивидуальный спирометр, фонендоскоп, пульсоксиметр, глюкометр, тонометр).

Выводы

1. Определено, что для борьбы с хронической инфекцией легких у больных МВ необходимо предусмотреть не только контроль за развитием инфекционного процесса, но и управление эпидемическим процессом, а также изучение микрорезволюционных процессов в микроорганизмах, персистирующих в легких у больных МВ.
2. Установлены эпидемиологические особенности хронической инфекции легких у больных МВ, в том числе выявлены источники и факторы риска инфицирования, расшифрована этиология вспышек инфекций, вызванных *Bcc* и *Achromobacter* spp., определены стационары риска инфицирования данными возбудителями, выявлены эпидемически значимые сиквенс-типы доминирующих возбудителей ХИЛ.
3. Определены основные направления системы эпидемиологического надзора за хронической инфекцией легких у больных МВ, вызванной бактериями *Bcc*, *Achromobacter* spp., *P. aeruginosa* и MRSA на основе результатов исследования и с учетом особенностей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.
4. Показано, что реализация системы эпидемиологического надзора за хронической инфекцией легких позволило: улучшить качество этиологической диагностики; своевременно выявлять источники инфекций и пути передачи возбудителей ХИЛ; предупреждать их распространение среди больных МВ как в стационарах, так и во внегоспитальных условиях, а также оптимизировать тактику антимикробной терапии ХИЛ.
5. Для эффективной реализации эпидемиологического надзора за инфекциями, вызванными *Bcc*, *Achromobacter* spp., *P. aeruginosa* и MRSA, необходимо наличие референс-лаборатории, которая должна осуществлять не только сбор и анализ информации, но и хранение выделенных штаммов вышеуказанных возбудителей для их последующего изучения.

Литература

1. Чернуха М. Ю., Шагинян И. А. Микробиология хронической инфекции легких у больных муковисцидозом. // В книге «Муковисцидоз». МЕДПРАКТИКА – М. Москва. 2014; Глава 4.2. с. 116–148.
2. Аветисян Л. Р., Чернуха М. Ю., Шагинян И. А. и др. Антибиотикоустойчивость *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и бактерий *Burkholderia cerasia* complex, персистирующих в легких больных муковисцидозом. // Журнал эпидемиологии, микробиологии и иммунологии. 2015, № 6, С. 3–10.
3. Покровский В. И., Пак С. Г., Брико Н. И. и др. Инфекционные болезни и эпидемиология. // Учебник, 2-е изд. - М.: ГЭОТАР-Медиа. 2007, 816 с.
4. Шагинян И. А., Чернуха М. Ю., Аветисян Л. Р. и др. Эпидемиологические особенности хронической инфекции легких у больных муковисцидозом // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2017; 6 (97): 5–13.

- Чернуха М. Ю., Аветисян Л. Р., Шагинян И. А. и др. Фенотипические и генотипические особенности штаммов бактерий *Burkholderia cepacia* complex, выделенных от больных муковисцидозом. // Педиатрия. 2014; 93 (4): 24–31.
- Красовский С. А., Амелина Е. Л., Кондратьева Е. И. и др. Респираторная инфекция нижних дыхательных путей у больных муковисцидозом в Российской Федерации по данным Национального регистра (2014) // Пульмонология. 2016; Т. 28, № 4, С. 421–435.
- Кондратьева Е. И., Красовский С. А., Воронкова А. Ю. и др., ред. Регистр больных муковисцидозом в Российской Федерации. М.: ИД «МЕДПРАКТИКА-М»; 2016.
- Bittar F, Riche H, Dubus JC et al. Molecular detection of multiple emerging pathogens in sputa from cystic fibrosis patients. // PLoS ONE. 2008, Vol. 3, N. 8, P. e2908. doi: 10.1371/journal.pone.0002908.
- Kahl B, Herrmann M, Everding AS et al. Persistent infection with small colony variant strains of *Staphylococcus aureus* in patients with cystic fibrosis. // J Infect Dis. 1998, Vol. 177, P. 1023–1029. DOI: 10.1086/515238.
- Miller MB, Gilligan PH. Laboratory aspects of management of chronic pulmonary infections in patients with cystic fibrosis. // J Clin Microbiol. 2003, Vol. 41, P. 4009–4015.
- Kidd TJ, Ramsay KA, Hu H et al. Low rates of *Pseudomonas aeruginosa* misidentification in isolates from cystic fibrosis patients. // J Clin Microbiol. 2009, Vol. 47, P.1503–1509. DOI: 10.1128/JCM.00014-09.
- Чернуха М. Ю., Аветисян Л. Р., Шагинян И. А. и др. Алгоритм микробиологической диагностики хронической инфекции легких у больных муковисцидозом. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2014; 16 (4): 312–324.
- Humphreys H, Peckham D, Patel P et al. Airborne dissemination of *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia* from adult patients with cystic fibrosis. *Thorax*. 1994, Vol.49, P.1157. doi: 10.1136/thx.49.11.1157.

References

- Chernukha MYu, Shaginyan IA. Microbiology of chronic lung infection in patients with cystic fibrosis. In book *Cystic Fibrosis (Mucoviscidosis)*. MEDPRACTIKA-M, 2014; Chapter 4.2: 116–48 (In Russ.).
- Avetisyan LR, Chernukha MYu, Shaginyan IA et al. Antibiotics sensitivity of *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia* complex, persisting in lungs of patients with in cystic fibrosis. *Journal of microbiology epidemiology and immunobiology*. 2015; 6: 3–10 (In Russ.).
- Pokrovsky VI, Pak SG, Briko NI et al. *Infectious Diseases and Epidemiology: A Textbook for High Schools*, V. 2. Moscow: GEOTAR Media. 2007: 816 (In Russ.).
- Shaginyan IA, Chernukha MYu, Avetisyan LR et al. Epidemiological Features of Chronic Lung Infection in Patients with Cystic Fibrosis. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2017; 16 (6): 5–13 (In Russ.).
- Chernukha MYu, Avetisyan LR, Shaginyan IA et al. Phenotypic and genotypic characteristics of strains of the bacterium *Burkholderia cepacia* complex isolated from cystic fibrosis patients. *Pediatrjia*. 2014; 93 (4): 24–31 (In Russ.).
- Krasovskiy SA, Amelina EL, Kondrat'eva EI et al. Lower respiratory infection in patients with cystic fibrosis in Russian Federation according to the National Register, 2014. *Russian Pulmonology*. 2016; 26 (4): 421–435 (In Russ.).
- Kondrat'eva EI, Krasovskiy SA, Voronkova AYU et al. The Russian Federation Cystic Fibrosis Patient Registry for 2017, ed. Moscow: «MEDPRACTIKA-M». 2016: 72 (In Russ.).
- Bittar F, Riche H, Dubus JC et al. Molecular detection of multiple emerging pathogens in sputa from cystic fibrosis patients. *PLoS ONE*. 2008; 3 (8): e2908. doi: 10.1371/journal.pone.0002908.
- Kahl B, Herrmann M, Everding AS et al. Persistent infection with small colony variant strains of *Staphylococcus aureus* in patients with cystic fibrosis. *J Infect Dis*. 1998; 177: 1023–1029. DOI: 10.1086/515238.
- Miller MB, Gilligan PH. Laboratory aspects of management of chronic pulmonary infections in patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol*. 2003, Vol.41, P.4009–4015. DOI: 10.1128/jcm.41.9.4009-4015.2003.
- Kidd TJ, Ramsay KA, Hu H et al. Low rates of *Pseudomonas aeruginosa* misidentification in isolates from cystic fibrosis patients. *J Clin Microbiol*. 2009; 47: 1503–1509. DOI: 10.1128/JCM.00014-09.
- Chernukha MYu, Avetisyan LR, Shaginyan IA et al. Microbiological Diagnosis Algorithm for Chronic Lung Infection in Patients with Cystic Fibrosis. *Journal of clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy*. 2014; 16 (4): 312–324. (In Russ.).
- Humphreys H, Peckham D, Patel P et al. Airborne dissemination of *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia* from adult patients with cystic fibrosis. *Thorax*. 1994; 49: 1157. doi: 10.1136/thx.49.11.1157.

Об авторах

- Лусине Ремуальдовна Аветисян** – к. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии госпитальных инфекций Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи. 123098 Москва, ул. Гамалеи 18. +7(903)1231611, lusavr@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-9053-2515>.
- Игорь Андроникович Шагинян** – д. м. н., заведующий лабораторией молекулярной эпидемиологии госпитальных инфекций Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи, 123098 Москва, ул. Гамалеи 18, +7(499)1936117, shaginyan@gamaleya.org. <https://orcid.org/0000-0003-2951-1755>.
- Марина Юрьевна Чернуха** – д. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии госпитальных инфекций Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи, 123098 Москва, ул. Гамалеи 18. +7(499)1935594, chernukha@gamaleya.org. <https://orcid.org/0000-0002-2349-8556>.
- Егор Михайлович Бурмистров** – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии госпитальных инфекций Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи, 123098 Москва, ул. Гамалеи 18. +7(499)1935594, chetusha2006@gmail.com.
- Ольга Сергеевна Медведева** – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии госпитальных инфекций Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи, 123098 Москва, ул. Гамалеи 18. +7(499)1935594, olgamedw@rambler.ru.
- Екатерина Владимировна Русакова** – д. м. н., профессор, ведущий научный сотрудник научно-организационного отдела Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи, 123098 Москва, ул. Гамалеи 18. +7 (903) 2519610, rusakovaev5@yandex.ru. <http://orcid.org/0000-0002-3561-1499>.
- Екатерина Алексеевна Сиянова** – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии госпитальных инфекций Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи, 123098 Москва, ул. Гамалеи 18. +7(499)1935594, hal-katy@yandex.ru.
- Елена Ивановна Кондратьева** – д. м. н., профессор, руководитель научно-консультативного отдела муковисцидоза Медико-генетического научного центра, 115478 Москва, Москворечье, стр. 1, +7(495) 111-03-03, elenafpk@mail.ru. <http://orcid.org/0000-0001-6395-0407>.
- Александр Григорьевич Чучалин** – д. м. н., академик РАН, заведующий кафедрой госпитальной терапии РНИМУ им. Н. И. Пирогова, 117997 Москва, ул. Островитянова, д. 1. +7 (495) 434-36-90, rsmu@rsmu.ru.
- Александр Леонидович Гинцбург** – д. б. н., академик РАН, директор Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи, 123098 Москва ул. Гамалеи 18, +7 (499) 1933001, gintsburg@gamaleya.org. <http://orcid.org/0000-0002-6182-3866>.

Поступила: 28.06.2019. Принята к печати: 22.01.2020.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- Lusine R. Avetisyan** – Cand. Sci. (Med.), leading researcher of Laboratory of Molecular Epidemiology of Nosocomial Infections of National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician NF Gamaleya, Gamaleya st. 18, Moscow, Russian Federation 123098. +7(903) 1231611, lusavr@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0002-9053-2515>.
- Marina Yu. Chernukha** – Dr. Sci. (Med.), leading researcher at Laboratory of Molecular Epidemiology of Nosocomial Infections, of National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician NF Gamaleya, Gamaleya st. 18, Moscow, Russian Federation 123098. +7 (499)193-55-94, chernukha@gamaleya.org.
- Igor A. Shaginyan** – Dr. Sci. (Med.), head of Laboratory of Molecular Epidemiology of Nosocomial Infections of National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician NF Gamaleya, Gamaleya st. 18, Moscow, Russian Federation 123098.+7(499)193-61-17, shaginyan@gamaleya.org.
- Egor M. Burmistrov** – junior researcher of Laboratory of Molecular Epidemiology of Nosocomial Infections of National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician NF Gamaleya, Gamaleya st. 18, Moscow, Russian Federation 123098.+7(499)193-55-94, chetusha2006@gmail.com.
- Olga S. Medvedeva** – junior researcher at Laboratory of Molecular Epidemiology of Nosocomial Infections of National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician NF Gamaleya, Gamaleya st. 18, Moscow, Russian Federation 123098.+7(499)193-55-94, olgamedw@rambler.ru.
- Ekaterina V. Rusakova** – Dr. Sci. (Med.), professor, leading researcher of Scientific and Department of National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician NF Gamaleya, Gamaleya st. 18, Moscow, Russian Federation 123098.+7(903)2519610, rusakovaev5@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3561-1499>.
- Ekaterina A. Siyanova** – junior researcher at Laboratory of Molecular Epidemiology of Nosocomial Infections of National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician NF Gamaleya, Gamaleya st. 18, Moscow, Russian Federation 123098.+7(499)1935594, hal-katy@yandex.ru.
- Elena I. Kondrat'eva** – Dr. Sci. (Med.), professor, head of Scientific Department of Cystic Fibrosis of Medical Genetic Scientific Center, Russian Federation 115478 Moscow, 1 Moskvorechie. +7(499)1370197, elenafpk@mail.ru. <http://orcid.org/0000-0001-6395-0407>.
- Alexandr G. Chuchalin** – Dr. Sci. (Med.), Academic of RAS, head of department of Hospital Therapy of Pirogov Russian National Research Medical University, Ostrovitianov str. 1, Moscow 117997 Russian Federation. +7 (495) 434-36-90, rsmu@rsmu.ru.
- Alexandr L. Gintzburg** – Dr. Sci. (Biol.), Academic of RAS, head of National Research Center of Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya; Gamaleya st. 18, Moscow, 123098 Russian Federation. +7 (499) 1933001, gintsburg@gamaleya.org. <http://orcid.org/0000-0002-6182-3866>

Received: 28.06.2019. Accepted: 22.01.2020.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.