



Д КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА



5'2013

- БИОХИМИЯ
- КОАГУЛОЛОГИЯ
- ИММУНОЛОГИЯ
- ЗАОЧНАЯ АКАДЕМИЯ
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ
- МИКРОБИОЛОГИЯ

www.medlit.ru

стику инфекций, вызываемых ВЛЗН и ВКЭ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонов В.А., Смоленский В.Ю., Путинцева Е.В. и др. Проблемы особо опасных инфекций. 2012; 1: 17–21.
2. Москвитина Н.С., Романенко В.Н., Терновой В.А. и др. Паразитология. 2008; 3(42): 210–25.
3. МУ 1.3.2569-09. Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2009.
4. МУ 3.1.3.2600-106. Мероприятия по борьбе с лихорадкой Западного Нила на территории Российской Федерации. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2010.
5. Путинцева Е.В., Литвицкий А.В., Алексеев В.В. и др. Проблемы особо опасных инфекций. 2011; 1: 38–42.
6. Опиценко Г.Г., ред. Сборник материалов по вспышке лихорадки Западного Нила в Российской Федерации в 2010 г. Волгоград: Волга-Паблицер; 2011.
7. Guerrero-Sánchez S., Cuevas-Romero S., Nemeth N.M. et al. J. Emerg. Infect. Dis. 2011; 12(17): 2245–52.
8. Hogrefe W.R., Moore R., Lape-Nixon M. et al. J. Clin. Microbiol. 2004; 10(42): 4641–8.
9. Holbrook M.R., Shope R.E., Barret A.D.T. J. Clin. Microbiol. 2004; 9(42): 4106–10.
10. Martin D.A., Biggerstaff B.J., Allen B. et al. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2002; 3(9): 544–9.
11. Martin D.A., Noga A., Kosoy O. et al. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2004; 6(11): 1130–3.
12. Larsen J., Schonheyder H.C., Singh K.V. et al. J. Emerg. Infect. Dis. 2011; 12(17): 2397–9.

Поступила 04.07.12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 616.157-078:543.544.45.08

Д.А. Попов, С.Т. Овсенко, Г.А. Осипов, Т.Ю. Вострикова

УСКОРЕННЫЙ СПОСОБ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БАКТЕРИЕМИЙ С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДА ГАЗОВОЙ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, Москва, Россия

*Проведена сравнительная оценка эффективности родовой идентификации гемокультур методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) путем сопоставления с данными традиционного культурального метода. Содержимое флаконов с положительной гемокультурой анализировали традиционными микробиологическими методами и методом ГХ-МС с детекцией маркеров наиболее распространенных возбудителей нозокомиальных бактериемий: микроорганизмов родов *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas*, *Candida*. Определена возможность применения метода ГХ-МС для родовой экспресс-идентификации возбудителей бактериемий. Выявлено полное совпадение результатов, полученных методом ГХ-МС, с данными классического бактериологического метода. Показано сокращение времени анализа при родовой идентификации гемокультур методом ГХ-МС до 3 и менее против 1,5–2 сут при традиционном подходе, что может способствовать более раннему началу этиотропной терапии при тяжелых инфекциях.*

Ключевые слова: бактериемия, нозокомиальные инфекции, газовая хромато-масс-спектрометрия

D.A. Popov, S.T. Ovseyenko, G.A. Osipov, T.Yu. Vostrikova

THE EXPRESS MODE OF IDENTIFICATION OF AGENTS OF BACTERIEMIAS USING THE TECHNIQUE OF GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY

The A.N. Bakulev National center of cardio-vascular surgery of the Russian academy of medical sciences, Moscow, Russia

*The comparative evaluation was carried out concerning the effectiveness of generic identification of hemocultures using the technique of gas chromatography-mass spectrometry by comparison with data of common cultural method. The content of vials with positive hemoculture was analyzed using both the common microbiologic methods and the technique of gas chromatography-mass spectrometry with detection of markers of the most widespread agents of nosocomial bacteriemias: microorganisms of genus *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas*, *Candida*. The possibility of applying the technique of gas chromatography-mass spectrometry for generic express-identification of agents of bacteriemias was established. The full concurrence of results obtained by gas chromatography-mass spectrometry with the results of common bacteriologic method was revealed. The time saving of analysis during generic identification of hemocultures using gas chromatography-mass spectrometry up to three and less hours against 1.5-2 days in case of common approach. The established information can input into earlier start of etiotropic therapy under severe infections.*

Key words: bacteraemia, nosocomial infection, gas chromatography-mass spectrometry

Для корреспонденции:

Попов Дмитрий Александрович, канд. мед. наук, рук. лаб. клин. микробиологии и антимикробной терапии
Адрес: 121552, Москва, Рублевское ш., 135
Телефон: (495) 414-79-14
E-mail: DAPopov@heart-house.ru

Введение. Несмотря на использование современных методов лечения, проблема инфекционных осложнений у больных, находящихся в отделениях интенсивной терапии, остается актуальной. Задержка с назначением антимикробных препаратов при тяжелых инфекциях неизбежно приводит к прогрессиру-

ванию заболевания вплоть до развития септического шока и полиорганной недостаточности, что отрицательно влияет на результаты лечения [8, 10]. При этом каждый час промедления свыше 6-часового терапевтического окна снижает вероятность благоприятного исхода при септическом шоке на 7,6% [7].

Методы классической микробиологии, подразумевающие культивирование микроорганизмов с последующей их идентификацией по культуральным, морфологическим, тинктариальным, биохимическим, антигенным признакам, занимают лидирующее место по использованию в клинической практике. Существенным недостатком данных методов является длительное время до получения результата (обычно не менее 18–24 ч), что обусловлено физиологией микроорганизмов, требующих времени для своего роста. Отрицательный результат посева крови обычно выдается лишь через 5–7 сут, что в ряде случаев является критичным.

С целью сокращения времени идентификации возбудителей бактериемии применяются методы молекулярной диагностики, основанные на принципе полимеразной цепной реакции (ПЦР) – за первичным посевом гемокультуры следует выделение ДНК, ее амплификация, затем детекция продуктов ПЦР, в частности, методом микрочипов [13]. Данные методы позволяют значительно сократить временной интервал между взятием образца крови больного и определением вида возбудителя, при этом спектр детектируемых возбудителей охватывает порядка 90% клинически значимых микроорганизмов. Различные модификации метода отличаются друг от друга спектром определяемых патогенов, временем до получения результата (в среднем от 6 ч до 1 сут), методами детекции продуктов ПЦР и соответственно набором необходимого оборудования.

Особое место занимает метод мультиплексного ПЦР-анализа в режиме реального времени, минуя стадию первичного посева гемокультуры с идентификацией продуктов, с использованием в качестве субстрата цельной крови пациента с подозрением на бактериемию [14]. Этот метод был апробирован для диагностики бактериемий у кардиохирургических больных [5], при этом время анализа от взятия пробы крови у пациента составляло около 8 ч.

К недостаткам технологий на основе ПЦР следует отнести ограниченный перечень идентифицируемых патогенов, риск контаминации образцов во время пробоподготовки, ведущий к получению ложноположительных результатов, необходимость наличия сложного и дорогостоящего оборудования. В связи с тем что ПЦР может быть ингибирована гепарином, существуют серьезные ограничения по применению методов на ее основе у больных, получающих данный препарат, рутинно используемый в интенсивной терапии [3].

В последнее время в практику начинают внедряться физико-химические методы идентификации микроорганизмов, обладающие превосходными временными характеристиками и высокой специфичностью. Так, метод матричной лазерной десорбционной ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS) позволяет

сокращать время идентификации чистых культур до нескольких минут [12].

Одним из способов идентификации микроорганизмов является метод газовой хроматографии (ГХ). Он основан на качественном и количественном определении жирных кислот и альдегидов, а также их производных, входящих в состав клеточных стенок бактерий. Первоначально этот метод применялся для изучения микробных сообществ в экологии и биотехнологии [6]. Серии работ посвящены хемодифференциации клинически важных микроорганизмов как методом ГХ, так и его комбинацией с масс-спектрометрией – ГХ-МС [1, 9]. Разработана и широко используется коммерческая система для рутинного бактериологического анализа [11]. Параллельно метод ГХ-МС нашел применение в медицине для анализа состава микробных сообществ организма человека [4]. В его клиническом варианте присутствие тех или иных возбудителей выявляется благодаря математической реконструкции микробного сообщества по микробным маркерам и профилям в рамках технологии масс-спектрометрии микробных маркеров (МСММ) [2]. В упрощенном варианте, например при анализе клинических изолятов, в которых обычно присутствуют один – два вида микроорганизмов, эти маркеры могут быть использованы для их идентификации, минуя алгоритм МСММ. Метод экономичен и не требует дорогостоящих расходных материалов.

Цель настоящей работы – оценить эффективность родовой идентификации гемокультур с применением метода ГХ-МС в сравнении с традиционными культуральными методами.

Материалы и методы. В проспективное исследование включены 93 гемокультуры, полученные от 84 взрослых кардиохирургических пациентов с подозрением на бактериемию в раннем послеоперационном периоде, находящихся в отделении реанимации и интенсивной терапии. Работа выполнялась с использованием образцов, направляемых в лабораторию по рутинным назначениям лечащих врачей, и не предполагала дополнительных интервенционных вмешательств.

Для исследования на стерильность образцы крови объемом 5–10 мл, взятые из периферической вены, помещали в стандартные аэробные флаконы с обогащенной питательной средой, содержащие сорбенты для антибиотиков (активированный уголь). Инкубация гемокультур осуществлялась с помощью прибора ВАСТАAlert 3D (Biomerieux, Франция). При выявлении роста микроорганизмов проводили высев содержимого флакона на плотные питательные среды с последующей идентификацией и исследованием чувствительности к антибиотикам с помощью автоматического анализатора Vitek 2 compact (Biomerieux, Франция). Параллельно с традиционными методами содержимое "проросших" флаконов исследовано методом ГХ-МС. Для контроля были взяты 9 отрицательных гемокультур.

Для определения маркеров микроорганизмов методом ГХ-МС образец жидкой питательной среды «проросшего» флакона в объеме 1,5 мл центрифугировали при 4000 об/мин в течение 10 мин, осадок, содержащий клетки микроорганизмов, высушивали

подвергали кислоте метанолизу в 1,2N HCl в метаноле (1 ч, 80°C). Далее реакционную смесь дважды экстрагировали *n*-гексаном, объединенный экстракт высушивали, после чего обрабатывали 20 мкл N,O-бис(триметилсилил) трифторацетамида и выдерживали при 80°C в течение 15 мин. Полученный триметилсилилзамещенный продукт растворяли в 80 мкл *n*-гексана и исследовали методом ГХ-МС в режиме полного сканирования с использованием газового хроматографа Agilent Technologies 6890, оснащенного масс-спектрометрическим детектором Agilent Technologies 5973. Хроматографическое разделение компонентов происходило на кварцевой капиллярной колонке HP5 диаметром 0,2 мм, длиной 25 м, с толщиной слоя 0,33 мкм. Газ-носитель гелий, скорость потока 24 мл/мин, скорость потока через колонку 1,2 мл/мин. Температурный режим во время анализа: температура испарителя 280°C, начальная температура термостата колонки 80°C, время выдержки 4 мин, далее нагрев до 240°C со скоростью 7°C/мин, до 320°C со скоростью 15°C/мин, затем термостатирование при 320°C до конца анализа. Объем анализируемой пробы 1,5 мл, общее время анализа 35 мин, время задержки работы детектора 4 мин.

Обработка хроматограммы производилась следующим образом: находился пик триметилсилильного производного стандарта – C₁₃CD₃ кислоты, время выхода (RT) = 8,39, определялась его площадь, затем находился пик *i*-го компонента смеси по пику основного иона, подтвержденному пиком дополнительного иона с тем же временем удерживания, определялась его площадь (по основному иону). Количественный расчет содержания *i*-го компонента производился по формуле:

$$c_i = \frac{S_i \cdot m_{st}}{S_{ST} \cdot M_{r_{st}} \cdot V_s}$$

где c_i – концентрация *i*-го компонента (в нг/мл), m_{st} – масса вводимого стандарта (300 нг), S_{st} – площадь пика стандарта, $M_{r_{st}}$ – молекулярная масса стандарта (231,3), V_s – объем образца (1,5 мл).

Интерпретация результатов исследования методом ГХ-МС производилась с использованием данных соответствия маркерных веществ клинически значимым микроорганизмам (табл. 1) [1, 4].

Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха.

Результаты и обсуждение. Традиционным бактериологическим методом в исследованных 93 гемокультурах было выделено 14 видов микроорганизмов, в том числе 4 – в ассоциации (табл. 2).

В ходе исследования методом ГХ-МС выявлено значительное (в десятки-сотни раз) превыше-

Таблица 1

Химические маркеры микроорганизмов

Род микроорганизмов	Химическое название кислоты (маркера)	Сокращенное обозначение
Staphylococcus	Изо- и антеизопентадекановая, изо- и антеизогептадекановая, антеизонадекановая	i15, a15; i17, a17, a19
Acinetobacter	3-Гидрокси- и 2-гидроксидодекановая	3h12 и 2h12
Klebsiella	Δ-Цис-9,10-метилгексадекановая и 3-гидрокситетрадекановая	17cyc, 3h14 и 2h14
Candida	Гептадеценная	17:1
Enterococcus	Δ-Цис-11,12-метиленоктадекановая, циклононадекановый альдегид	19cyc, 19cyc a
Serratia	3-Гидрокситетрадекановая, Δ-цис-9,10-метилгексадекановая, 2-окситетрадекановая, Δ-цис-11,12-метиленоктадекановая	3h14, 2h14 17cyc, 19cyc
Pseudomonas	2-Гидрокси- и 3-гидроксидодекановая Δ-цис-9,10-метилгексадекановая	2h12, 3h12, 17cyc
Escherichia	3-Гидрокситетрадекановая, Δ-цис-9,10-метиленгексадекановая 2-Окситетрадекановая, Δ-11,12-метиленоктадекановая	3h14, 17cyc 2h14, 19cyc
Stenotrophomonas maltophilia	Изо-3-гидрокситридекановая и 2-гидроксидодекановая	3hi13, 3h12

ние интенсивностей сигналов микробных маркеров по сравнению с их фоновой концентрацией в отрицательной гемокультуре (табл. 3). Так, медианы концентраций 3-гидроксидодекановой (3h12) и 2-гидроксидодекановой (2h12) кислот, специфичных для ацинетобактера, в соответствующих образцах составляли 334,1 и 465,3 мкг/мл, тогда как в отрицательной гемокультуре ($n = 9$) эти значения равны соответственно 1,1 и 0 мкг/мл. Медианы метилгекса-

Таблица 2

Видовой состав исследованных гемокультур ($n = 93$)

Вид микроорганизмов	Абс.	%
A. baumannii	16	17,2
S. haemolyticus	16	17,2
K. pneumoniae	14	15,1
C. parapsilosis	10	10,8
S. epidermidis	9	9,7
S. aureus	6	6,5
E. faecium	5	5,4
E. faecalis	4	4,3
S. hominis	3	3,2
P. aeruginosa	2	2,2
E. coli	1	1,1
S. maltophilia	1	1,1
S. marcescens	1	1,1
C. albicans	1	1,1
A. baumannii + E. faecium	1	1,1
K. pneumoniae + S. epidermidis	1	1,1
K. pneumoniae + P. aeruginosa	1	1,1
K. pneumoniae + A. baumannii	1	1,1

Таблица 3

Содержание микробных маркеров в исследуемых образцах (медиана, интерквартильный размах, мкг/мл)

Статистический показатель	3h12	2h12	i15	a15	3hi13	16:1d7	3h14	2h14	i17	a17	17:1d9	17сус	a19	19сус
Роста нет														
Me	1,1	0	35,8	57,9	0	39,8	5	2,3	236,9	142,7	10,3	0	16,6	0
25th	0	0	19,3	18,6	0	20,5	1,9	1,3	165,5	86,4	5,6	0	6,4	0
75 th	4,2	0,7	51,9	80,6	0	59,3	5,9	2,8	320,9	177,4	22,7	0	21,4	0
Acinetobacter														
Me	334,1	465,3	20,6	28,4	0	63,1	37,8	2,1	86,4	42,8	13,8	0	8,8	0,8
25th	98,2	135,8	9,2	12,4	0	37,7	11,7	1,2	26,9	16,3	6,1	0	3,1	0
75 th	425,1	656,7	159,1	479,7	0	115,3	108,9	7,2	280,6	232,1	26	0	34	1,4
Klebsiella														
Me	14,3	19,6	25,1	35,6	0	86,1	1319,2	145	120,8	85,4	16,5	1445	15,1	754,3
25th	7,8	5,8	20,3	30,3	0	68,6	556,2	36,4	69,5	48,7	11,1	451,9	6,5	372,6
75 th	42,2	154,4	40,4	47,8	0	116,5	2939,3	371,3	215,2	119,2	38,3	2153,1	18,7	1198,5
Pseudomonas aeruginosa														
Me	124,7	2238	25,3	33,6	0	78,2	6	4,5	183,3	117,3	18,5	80,5	10,3	356,3
25th	67,7	1309	20	28,4	0	45,1	4,3	0	138,1	56,6	16,5	68,5	6,3	175
75 th	865,8	2597	39	40,4	1,4	118,3	924,6	7	213,9	124,3	22,5	881,9	14,2	612,1
Staphylococcus aureus														
Me	0,7	0	5595,2	19274	0	88,1	4,3	2,8	2178,5	4249,1	14,8	0	1584,6	0
25th	0	0	3835,4	16901,3	0	53,6	2,5	2	1643,6	3213	13	0	1260,3	0
75 th	1,7	0	6826,6	26263,4	0	158,7	13,9	3,8	2907	5082,9	26,8	0	2316,6	0
Staphylococcus CoN														
Me	1,2	0	2735,3	8479	0,3	65,7	8	2,1	1095,7	1872,3	14,6	0	600,7	0
25th	0	0	1343,9	4574,3	0	36,8	2,6	1,1	844,2	1123	7,5	0	364	0
75 th	4,7	0,3	4267,1	12798,6	0	94,2	13,4	3,5	2166,8	3342,3	21,1	0	1169,6	1,5
Enterococcus														
Me	1,2	0,1	48	65,4	0	50,5	11,9	2,8	158,9	108,4	12	40,1	14,2	358,3
25th	0,7	0	30,1	57,4	0	34	8,2	1,4	54,9	39,6	10,5	15,9	9,3	201,6
75 th	19,1	0,6	176,4	91	2,3	76	22,2	3,8	363,5	185,6	16,2	92,2	21,8	604,4
Candida														
Me	2	1	24,1	62,9	0	91	4,1	2,8	130,3	78,4	32,7	0	14,1	0
25th	1,1	0	13,5	17,9	0	51,9	3,8	1,5	59,8	67,7	18,2	0	11,6	0
75 th	3,8	2,2	62,2	129,1	0	101,9	21,1	3,7	180,6	101	47,7	0	22,9	2,3

Примечание. Жирным шрифтом выделены маркерные вещества, специфичные для микроорганизмов соответствующих родов.

декановой (17сус) и β-гидроксимиристиновой (3h14) кислот, которые в паре друг с другом специфичны для клебсиеллы – 1445 и 1319,2 мкг/мл, в контрольных образцах 0 и 5 мкг/мл. Сходная картина наблюдалась для синегнойной палочки – в этом случае пару кислот, присущих ацинетобактеру (3h12 и 2h12), с медианами 124,7 и 2238 мкг/мл дополняет еще один маркер – 17сус (80,5 мкг/мл). Следует отметить, что соотношение изомеров 2h12:3h12 (медианы) составляло порядка 1,4:1 в случае ацинетобактера и 17,9:1 для синегнойной палочки. Концентрация маркера энтерококка – 11,12-метиленоктадекановой кислоты (19сус) достигала в соответствующих пробах 358,3 мкг/мл против 0 мкг/мл в отрицательной гемокультуре. Избыток изо-3-

гидрокситридекановой кислоты (3hi13) в количестве, равном 257,2 мкг/мл, и 2-гидроксидекановой кислоты (146,3 мкг/мл) был выявлен в пробах, соответствующих *Stenotrophomonas*. В образцах гемокультур *Serratia* был выявлен набор маркеров, специфичных для данного рода: 3- и 2-гидрокситетрадекановые кислоты (3h14 – 1875,5 мкг/мл и 2h14 – 675,9 мкг/мл) вместе с 9,10-метиленгексадекановой (17сус – 2512,5 мкг/мл) и 11,12-метиленоктадекановой кислотами (19сус – 1097,7 мкг/мл). Для стафилококков характерна комбинация изомерных пар: изо- и антеизопентадекановые (i15 и a15), изо- и антеизогептадекановые (i17 и a17), изо- и антеизононадекановые кислоты – i19 и a19. Маркером грибов рода *Candida* является

гептадеценная кислота (17:1d9), уровень которой в соответствующих пробах составлял 32,7 мкг/мл по сравнению с 10,3 мкг/мл в отрицательной гемокультуре.

Метод ГХ-МС позволяет проводить родовую идентификацию как монокультур, так и ассоциаций: так, в четырех исследованных образцах одновременно определялись маркеры нескольких микроорганизмов (*Acinetobacter* spp. + *Enterococcus* spp., *Klebsiella* spp. + *Staphylococcus* spp., *Klebsiella* spp. + *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp. + *Acinetobacter* spp.), что совпало с данными, полученными бактериологическим методом. Данные пробы содержали набор маркеров, специфичных для микроорганизмов, входящих в ассоциацию.

Анализ и обобщение полученных результатов показали совпадение данных метода ГХ-МС с данными бактериологического метода. При идентификации гемокультур методом ГХ-МС результаты получены в среднем через 3 ч после начала анализа, тогда как при проведении традиционного микробиологического исследования – через 1,5–2 сут.

На настоящем этапе метод ГХ-МС позволяет проводить только родовую идентификацию возбудителей бактериемий. Тем не менее в ряде случаев этого бывает достаточно для назначения адекватной антибиотикотерапии. Однако имеются потенциальные возможности в некоторых случаях провести и видовую идентификацию. После набора статистических данных, возможно, удастся идентифицировать виды стафилококков и клебсиелл, а также расширить родовой список определяемых микроорганизмов.

Заключение. Метод ГХ-МС дает возможность существенно ускорить родовую идентификацию микроорганизмов в положительной гемокультуре, что является важным моментом для оптимизации эмпирического назначения антибиотиков. Однако это не снижает ценность методов традиционной бактериологии, так как на сегодняшний день только с их помощью возможно получение данных о чувствительности выделенных микроорганизмов к антимикробным препаратам.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вейант Р., Мосс У., Холлис Д., Джордан Дж., Кук Э., Дейтивар М. Определитель нетривиальных патогенных грамотрицательных бактерий. М.: Мир; 1999: 612–783.
2. Годков М.А., Осипов Г.А., Федосова Н.Ф., Лядов К.В. Возможности масс-спектрометрии микробных маркеров в лабораторном мониторинге дисбиозов и инфекций. Справочник заведующего КДЛ. 2011; 7: 35–44.
3. Костюк С.А., Кулага О.К., Хворик Д.Ф. Новые аспекты клинического применения полимеразной цепной реакции. Медицинские новости. 2006; 5: 14–8.
4. Осипов Г.А. Хромато-масс-спектрометрическое исследование микроорганизмов и их сообществ: Дис. ... д-ра биол. наук. М.; 1995.
5. Попов Д.А., Вострикова Т.Ю. Первый опыт применения метода ПЦР в режиме реального времени для диагностики бактериемии в послеоперационном периоде у кардиохирургических больных. Клиническая лабораторная диагностика. 2011; 8: 49–52.
6. Goodfellow M., Minnikin D.E., eds. Chemical methods in bacterial systematics. - New York; London; 1985.
7. Kumar A., Roberts D., Wood K.E., Light B., Parrillo J.E., Sharma S. et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. Crit. Care Med. 2006; 34(6): 1589–96.
8. Levy M.M., Macias W.L., Vincent J.L. et al. Early changes in organ function predict eventual survival in severe sepsis. Crit. Care Med. 2005; 33: 2194–201.
9. Moss C.W., Dees S.R. Identification of microorganisms by gas chromatographic – mass spectrometric analysis of cellular fatty acids. J. Chromatogr. 1985; 12: 595–604.
10. Rivers E., Nguyen B., Havstad S. et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. N. Engl. J. Med. 2001; 345: 1368–77.
11. «Sherlock», Microbial identification system. Database on microbial cellular fatty acids. Delavare: MIDI Inc.; 1994.
12. Schmidt V., Jarosch A., März P., Sander C., Vacata V., Kalka-Moll W. Rapid identification of bacteria in positive blood culture by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2012; 31(3): 311–7.
13. Tissari P., Zumla A., Tarkka E., Mero S., Savolainen L., Vaara M. et al. Accurate and rapid identification of bacterial species from positive blood cultures with a DNA-based microarray platform: an observational study. Lancet. 2010; 375 (9710): 224–30.
14. Wallet F., Nseir S., Baumann L., Herwegh S., Sendid B., Boulo M. et al. Preliminary clinical study using a multiplex real-time PCR test for the detection of bacterial and fungal DNA directly in blood. Clin. Microbiol. Infect. 2010; 16(6): 774–9.

Поступила 08.11.12

Вниманию авторов!

С 1 апреля 2013 г. началась подписка на журнал
«Клиническая лабораторная диагностика»
на II полугодие 2013 г.
Индекс журнала для индивидуальных подписчиков – 71442,
для предприятий и организаций – 71443
в Каталоге агентства «Роспечать».