

ПРИМЕНЕНИЕ MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ В КЛИНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

Е.П. Баранцевич, Н.Е. Баранцевич

¹ ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова»

Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова

Баранцевич Елена Петровна — доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской терапии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. И.П. Павлова, заведующая НИЛ внутрибольничных инфекций ФМИЦ им. В.А. Алмазова; Баранцевич Наталья Евгеньевна — научный сотрудник НИЛ внутрибольничных инфекций ФМИЦ им. В.А. Алмазова.

Контактная информация: ФГБУ «Федеральный Медицинский Исследовательский Центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, Россия, 197341. E-mail: lenabara2003@inbox.ru (Баранцевич Елена Петровна).

Резюме

До недавнего времени микробиологическая идентификация микроорганизмов в клинических лабораториях в основном полагалась на фенотипические методы. «Золотой стандарт» идентификации микроорганизмов — анализ нуклеотидной последовательности генов «домашнего хозяйства», который был внедрен в клиническую практику с 2008 года, — не получил широкого распространения. Развитие времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS) революционно изменило подход к рутинной идентификации микроорганизмов в клинических микробиологических лабораториях. Этот метод отличают высокая производительность, эффективность и низкая цена. Использование стандартизированных методик MALDI-TOF MS позволяет точно идентифицировать до вида большинство клинически значимых бактерий. При применении этой технологии анализируются спектральные характеристики значительного числа белковых молекул, преимущественно рибосомальных белков, являющихся уникальным «отпечатком пальца» конкретного микроорганизма. Также надежна и рутинная идентификация дрожжей с использованием MALDI-TOF MS.

Ключевые слова: масс-спектрометрия, бактерии, грибы, идентификация.

MALDI-TOF MASS SPECTROMETRY IN CLINICAL MICROBIOLOGY

N.E. Barantsevich¹, E.P. Barantsevich^{1, 2}

¹ Federal Almazov Medical Research Centre, Saint-Petersburg, Russia

² I. P. Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University

Corresponding author: Federal Almazov Medical Research Centre, 2 Akkuratova str., St Petersburg, Russia. E-mail: lenabara2003@inbox.ru (Elena P. Barantsevich — DM, Professor, Department of Therapy, First Pavlov St. Petersburg State Medical University, head of the Research Laboratory of nosocomial infections or Federal Almazov Medical Research Centre).

Abstract

Identification of microorganisms in most clinical microbiology laboratories until recently was based predominantly on phenotypic methods. The “golden standard” of identification, which is sequencing of the “house-keeping” genes of microorganisms was introduced in practice in 2008, though still is not widespread. Development of the matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-

TOF MS) has dramatically changed the approach to the routine identification of microorganisms. The method is characterized by high output, effectiveness and low price. Use of standard MALDI-TOF MS procedures allows correct identification to the species level in most clinically important bacteria. This technology analyses spectral characteristics of significant number of proteins, mostly ribosomal, that present the unique “fingerprint” of a specific microorganism. MALDI-TOF routine yeast identification appeared to be also highly effective.

Key words: mass spectrometry, bacteria, fungi, identification.

Статья поступила в редакцию 06.05.14 и принята к печати 15.05.14.

Метод масс-спектрометрии широко использовался в научных исследованиях, преимущественно в области химических наук, много десятилетий, но только в 1975 г. группа авторов [1] впервые высказала предположение, что с использованием этой технологии можно получать масс-спектрометрические характеристики бактерий. Они отметили, что бактериальные экстракты различных родов и видов обладают уникальными спектрами. Появление и развитие в конце 1980-х годов [2] мягких ионизирующих технологий, таких как MALDI и электроспрей-ионизации (ESI), сделало возможным проведение масс-спектрометрического анализа крупных биологических молекул, в частности, белков. Holland и соавт. в 1996 г. впервые сообщили о возможности получения масс-спектрометрических «отпечатков пальцев» интактных бактериальных клеток с использованием MALDI-TOF [3]. С этого времени начался экспоненциальный рост числа публикаций по видовой идентификации бактерий с помощью этой технологии [4–7]. MALDI-TOF MS использовали также для характеристики грибов, бактерий и вирусов [8]. Способность MALDI-TOF к быстрой идентификации микроорганизмов обуславливает возможности использования метода в различных областях науки и практики: клинической микробиологической диагностике, исследованиях окружающей среды, контроле качества фармацевтических и пищевых продуктов. Крайне важные черты метода — высокая производительность и низкий уровень затрат — делают его перспективной альтернативой стандартным лабораторным биохимическим и молекулярным идентификационным системам [9].

В настоящее время MALDI-TOF MS рассматривается и как потенциально эффективный инструмент для эпидемиологических исследований и таксономической классификации. Однако это направление использования данного метода требует дальнейшего изучения и составления адекватных библиотек.

Одной из основных задач клинической микробиологии является точная идентификация микроорганизма, выделенного из биосубстрата.

Традиционная (фенотипическая) идентификация бактерий и грибов включает анализ морфологических характеристик, окрашивание, проведение биохимических тестов, которые сегодня можно выполнять с использованием автоматических панелей (Microscan, Siemens Healthcare Diagnostics; BD Phoenix Automated Microbiology System; VITEK, bioMeriex). Все автоматические бактериологические анализаторы, принцип действия которых основан на фенотипических методах диагностики, идентифицируют широкий спектр микроорганизмов, но требуют значительного времени для анализа (как правило, не менее 4–18 часов) и дорогих расходных материалов. Более того, исследователь зачастую должен обладать предварительной информацией о типе исследуемого микроорганизма (например, провести предварительную окраску по Граму с последующей микроскопией). Внедрение MALDI-TOF масс-спектрометрии в клиническую микробиологию оказало существенное влияние на алгоритм работы, позволяя точно, быстро и без существенных затрат проводить видовую идентификацию бактерий и дрожжевых грибов. Современные приложения, используемые для этих целей, сочетают мощные возможности масс-спектрометрии и биоинформатики [10, 11].

MALDI-TOF масс-спектрометр состоит из трех функциональных частей:

- 1) лазер, под воздействием которого происходит десорбция/ионизация;
- 2) анализатор масс, который делит ионы согласно их соотношению масса/заряд (m/z) по времени пролета в вакууме;
- 3) детектор — устройство для определения разделенных ионов.

При использовании MALDI-анализа в клинической микробиологии исследуемые образцы культур микроорганизмов смешивают с матрицей, которая обладает оптической абсорбцией в диапазоне используемых длин волн [12]. Состав матрицы может меняться в зависимости от анализируемых биомолекул и типа используемого лазера [13]. Наиболее часто используемые матрицы — это α -циано-4-гидроксикоричная кислота и 2,4-гидроксифенил

бензойная кислота : α -циано-4-гидроксикоричная кислота показала высокую эффективность для детекции биомаркеров протеинов [13–15], 2,4-гидрокси-фенил бензойная кислота показала преимущества при детекции гликопептидов и гликопротеинов [8, 9].

Процессинг интактных микроорганизмов в MALDI-TOF может проходить без предварительной подготовки, поскольку большинство бактерий лизируется после контакта с водой, органическим растворителем и/или сильной кислотой в матрице. При идентификации устойчивых микроорганизмов, таких как споры бактерий, некоторые вирусы, клетки дрожжей, с использованием MALDI при подготовительных процедурах обычно добавляют сильные органические кислоты и/или спирт. При исследовании некоторых родов бактерий, таких как *Aspergillus*, может быть целесообразным проведение предварительной экстракции белка [16].

Размер и интенсивность пиков обнаруженных молекул зависят от выбранной для эксперимента матрицы. При использовании различных матриц наблюдают выраженные различия маркеров «отпечатков пальцев» биоаналитов [9, 17]. Это свидетельствует о том, что для гарантии точной идентификации микроорганизмов необходимо соблюдение стандартизированных преаналитических и аналитических процедур, выработанных для определенной базы данных. Любая модификация процедуры должна соответствовать рекомендациям производителя. В противном случае исследователь столкнется с необходимостью создания новой базы данных для использования модифицированного протокола.

В рутинной практике микробиологический образец смешивается с матрицей на металлической проводящей пластине. Смесь может быть помещена на металлическую основу, или, альтернативно, микробный образец помещается и высушивается на основе перед добавлением матрицы. После кристаллизации матрицы и вещества обработанный биологический образец на металлической пластине помещается в масс-спектрометр, где бомбардируется короткими импульсами, как правило, азотного лазера [9]. Матрица обращает лазерную энергию в энергию возбуждения и помогает в десорбции (вапоризации) и ионизации белков микроорганизмов, преимущественно рибосомальных, характеризующихся высокой консервативностью. Эта матрично-ассоциированная десорбция и ионизация аналитов приводит к формированию преимущественно ионов, несущих один заряд. Десорбированные и ионизированные молекулы белка ускоряются в электрическом

поле, а затем поступают в полетную трубу, где разделяются по их индивидуальному соотношению масса/заряд. Ионы с меньшей массой пролетают расстояние до детектора быстрее, чем более крупные. Время пролета зависит от массы (m) и заряда (z) биоаналитов и пропорционально квадратному корню m/z . При этом на детекторе формируется уникальный спектр, который несет характеристики, аналогичные «отпечатку пальца» исследуемого образца [17].

Использование MALDI-TOF масс-спектрометрии в клинической микробиологической лаборатории простейшим образом можно представить при анализе рабочего протокола. На чашке с первичным посевом выбирается колония для идентификации, которая целиком, или частично переносится на участок пластины MALDI-TOF масс-спектрометра, сделанной, как правило, из нержавеющей стали, на которой есть определенное число участков для тестирования (24, 48, 96 и т. д.). Микроорганизм на пластине покрывается небольшим количеством матрицы (например, 1–2 μ л α -циано-гидроксикоричной кислоты, растворенной в 50 % ацетонитриле и 2,5 % трифторуксусной кислоте), затем пластина высушивается (не более 5 минут). Идентификация микроорганизма, контроль контаминации и калибровка проходят на отдельных участках пластины. Пластина затем помещается в камеру MALDI-TOF масс-спектрометра. Процесс (генерирование и сравнение с референтной базой данных масс-спектра тестируемого изолята) после калибровки аппарата автоматизирован. Родство спектра тестируемого штамма с известными спектрами, хранящимися в системной библиотеке, определяется с использованием программного обеспечения [18]. В результате микробиолог получает результат видовой идентификации с выраженным в баллах или процентах соответствием исследуемого микроорганизма референтной базе данных, что отражает степень достоверности идентификации. Во всех используемых базах данных представлены сведения о тысячах масс-спектров различных штаммов микроорганизмов, относящихся к сотням клинически значимых видов микроорганизмов. Эти базы данных, включающие бактерии и грибы, постоянно обновляются.

Крайне низкое потребление расходных материалов и реагентов при наличии многоразовых пластин делает технологию MALDI-TOF масс-спектрометрии не только экономически обоснованной, но и экологичной, особенно в сравнении с традиционными автоматическими бактериологическими анализаторами, работающими на принципах фенотипической диагностики [17].

Значительное число исследований посвящено оценке качества идентификации клинически значимых микроорганизмов с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии [19]. Так, в клинике Мэйо (США) сравнили эффективность автоматической, основанной на биохимических свойствах микроорганизмов, системы идентификации и масс-спектрометрическую систему. Если первая точно определила 363 (83 %) и 330 (75 %) изолятов из 439 исследованных грамотрицательных бактерий, выделенных из клинического материала, до рода и вида, то масс-спектрометрия — 408 (93 %) и 360 (82 %) штаммов соответственно. Среди 298 клинических изолятов стафилококков, стрептококков и родственных родов MALDI-TOF масс-спектрометрическая система точно определила 284 (95 %) и 207 (69 %) изолятов до рода и вида соответственно [12]. При масс-спектрометрической идентификации 138 изолятов дрожжевых грибов в условиях рутинной практики и 103 музейных штаммов дрожжей точно определены до вида были 96 % и 85 % культур соответственно [12]. По другим данным, точность видовой идентификации до вида в рутинной клинической практике составляет 85–97% для бактерий и дрожжевых грибов [20–23]. При исследовании 171 культуры дерматофитов правильно до вида с использованием MALDI-TOF масс-спектрометрии определили только 60 % изолятов [12].

В настоящее время масс-спектрометрия используется не только для детекции эндогенных белков для идентификации микроорганизмов. Уже разработаны методические подходы, созданы и постоянно расширяются базы данных для выявления специфической резистентности, а также факторов вирулентности [17, 24].

Получены многочисленные данные о возможности дифференцирования метициллинрезистентных *S. aureus* (MRSA) и метициллинчувствительных *S. aureus* (MSSA) [25, 26]. Представляется также перспективным определение резистентности к β-лактамам, в первую очередь карбапенемам, грамотрицательных микроорганизмов. Эта методика основывается на детекции деградации β-лактамов антибиотиков [26–28]. Метод обладает высокой чувствительностью и специфичностью (97 % и 98 % соответственно), а результаты доступны уже через 3 часа [26, 28–30]. Недавно была показана возможность детекции *groB* мутации у *Brucella* spp. [31], а также других механизмов резистентности, включая пориновые дефекты и экспрессию систем эффлюкса с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии [32]. Быстрое и точное определение резистентности к широко используемым при тяжелых инфекциях антибактериальным препаратам, обусловленной

различными механизмами воздействия микробной клетки на антибиотик, в ближайшие годы может иметь революционное значение для клинической микробиологии.

Различия в спектрах бактериальных штаммов одного вида позволяют в некоторых случаях выявлять факторы вирулентности микроорганизмов, характерные для развития тяжелых форм инфекций. Так, появились сообщения о возможности при проведении MALDI-TOF масс-спектрометрии определения пика, специфического для лейкоцидин-продуцирующих *S. aureus* [33], хотя эти данные требуют дальнейшего изучения и проверки [34].

Таким образом, MALDI-TOF масс-спектрометрия представляет собой уникальный высокоэффективный, точный и вместе с тем низкочастотный метод, получивший в последние годы широкое распространение в клинической микробиологии [35–37]. Простота использования позволяет применять методику в рутинных исследованиях. Появление новых приложений, позволяющих усовершенствовать диагностику инфекций и определить резистентность возбудителей к антибиотикам, делает эту методику особенно привлекательной для многопрофильных стационаров [38–42].

Литература:

1. Anhalt J.P., Fenselau C. Identification of bacteria using mass spectrometry // *Anal. Chem.* — 1975. — Vol. 47. — P. 219–225.
2. Tanaka K., Fenn J.B., Wüthrich K. The Nobel Prize in Chemistry 2002 // [Nobel Media AB 2014]. 2002. — URL: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2002/popular.html (дата обращения: 16.07.2014)
3. Holland R.D., Wilkes H.G., Rafii F. et al. Rapid identification of intact whole bacteria based on spectral patterns using matrix-assisted laser desorption/ionization with time-of-flight mass spectrometry // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* — 1996. — Vol. 10. — P. 1227–1232.
4. Claydon M.A., Davey S.N., Edwards-Jones V. et al. The rapid identification of intact microorganisms using mass spectrometry // *Nat. Biotechnol.* — 1996. — Vol. 14. — P. 1584–1586.
5. Haag A.M., Taylor S.N., Johnston K.H. et al. Rapid identification and speciation of *Haemophilus* bacteria by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry // *J. Mass Spectrom.* — 1998. — Vol. 33. — P. 750–756.
6. Vargha M., Takats Z., Koponka A. et al. Optimization of MALDI-TOF MS for strain level differentiation of *Arthrobacter* isolates // *J. Microbiol. Methods.* — 2006. — Vol. 66. — P. 399–409.
7. Nagy E., Maier T., Urban E. et al. Species identification of clinical isolates of *Bacteroides* by matrix-assisted laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry // *Clin. Microbiol. Infect.* — 2009. — Vol. 15. — P. 796–802.

8. Giebel R., Worden C., Rust S. M. et al. Microbial fingerprinting using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) applications and challenges // *Adv. Appl. Microbiol.* — 2010. — Vol. 71. — P. 149–184.
9. Croxatto A., Prod'homme G., Greub G. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology // *FEMS Microbiol. Rev.* — 2012. — Vol. 36. — P. 380–407.
10. Knot P.D., Fisher M.A. Mass Spectrometry in Clinical Microbiology Laboratory // *Clinical Microbiology Newsletter.* — 2012. — Vol. 34, № 17. — P. 135–140.
11. Mimica M.J., Valle Martino M.D., Pasternak J. MALDI-TOF MS in the clinical microbiology laboratory // *J. Bras. Patol. Med. Lab.* — 2013. — Vol. 49, № 4. — P. 256–259.
12. Patel R. MALDI-TOF Mass Spectrometry: Transformative Proteomics for Clinical Microbiology // *Clin. Chem.* — 2013. — Vol. 59, № 2. — P. 340–342.
13. Fenselau C., Demirev P.A. Characterization of intact microorganisms by MALDI mass spectrometry // *Mass Spectrom. Rev.* — 2001. — Vol. 20. — P. 157–171.
14. Vaidyanathan S., Winder C.L., Wade S.C. et al. Sample preparation in matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of whole bacterial cells and the detection of high mass (> 20 kDa) proteins // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* — 2002. — Vol. 16. — P. 1276–1286.
15. Williams T.L., Andrzejewski D., Lay J.O. et al. Experimental factors affecting the quality and reproducibility of MALDI TOF mass spectra obtained from whole bacteria cells // *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* — 2003. — Vol. 14. — P. 342–351.
16. Bizzini A., Jaton K., Romo B. et al. Matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry as an alternative to 16S rRNA gene sequencing for identification of difficult-to-identify bacterial strains // *J. Clin. Microbiol.* — 2011. — Vol. 49. — P. 693–696.
17. Lavigne J.-P., Espinal P., Dunyach-Remy C. et al. Mass spectrometry: a revolution in clinical microbiology? // *Clin. Chem. Lab Med.* — 2013. — Vol. 51, № 2. — P. 257–270.
18. Clark A.E., Kaleta E.J., Arora A., Wolk D.M. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry: a Fundamental Shift in the Routine Practice of Clinical Microbiology // *Clin. Microbiol. Rev.* — 2013. — Vol. 26, № 3. — P. 547–603.
19. De Carolis E., Vella A., Vaccaro L. et al. Development and Validation of an In-House Database for Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry-Based Yeast Identification Using a Fast Protein Extraction Procedure // *J. Clin. Microbiol.* — 2014. — Vol. 52, № 5. — P. 1453–1458.
20. Bizzini A., Durussel C., Bille J. et al. Performance of matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry for identification of bacterial strains routinely isolated in a clinical microbiology laboratory // *J. Clin. Microbiol.* — 2010. — Vol. 48. — P. 1549–1554.
21. Bessède E., Agla-Gre M., Delagarde Y. et al. Matrix-assisted laser-desorption/ionization biotyper: experience in the routine of a University hospital // *Clin. Microbiol. Infect.* — 2011. — Vol. 17. — P. 533–538.
22. Sogawa K., Watanabe M., Sato K. et al. Use of the MALDI BioTyper system with MALDI-TOF mass spectrometry for rapid identification of microorganisms // *Anal. Bioanal. Chem.* — 2011. — Vol. 400. — P. 1905–1911.
23. Neville S. A., Lecordier A., Ziochos H. et al. Utility of matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry following introduction for routine laboratory bacterial identification // *J. Clin. Microbiol.* — 2011. — Vol. 49. — P. 2980–2984.
24. Kostrzewa M., Sparbier K., Maier T., Schubert S. MALDI-TOF MS: an upcoming tool for rapid detection of antibiotic resistance in microorganisms // *Proteomics Clin. Appl.* — 2013. — Vol. 7, № 11–12. — P. 767–778.
25. Edwards-Jones V., Claydon M.A., Evanson D.J. et al. Rapid discrimination between methicillin-sensitive and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* by intact cell mass spectrometry // *J. Med. Microbiol.* — 2000. — Vol. 49. — P. 295–300.
26. Burckhardt I., Zimmermann S. Using matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry to detect carbapenem resistance within 1 to 2.5 hours // *J. Clin. Microbiol.* — 2011. — Vol. 49. — P. 3321–3324.
27. Hooff G.P., van Kampen J.J., Meesters R.J. et al. Characterization of β -lactamase enzyme activity in bacterial lysates using MALDI-mass spectrometry // *J. Proteome Res.* — 2012. — Vol. 11:79. — P. 84.
28. Hrabak J., Walkova R., Studentova V. et al. Carbapenemase activity detection by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry // *J. Clin. Microbiol.* — 2011. — Vol. 49. — P. 3222–3227.
29. Camara J.E., Hays F.A. Discrimination between wild-type and ampicillin-resistant *Escherichia coli* by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry // *Anal. Bioanal. Chem.* — 2007. — Vol. 389. — P. 1633–1638.
30. Wýbo I., De Bel A., Soetens O. et al. Differentiation of *cfiA*-negative and *cfiA*-positive *Bacteroides fragilis* isolates by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry // *J. Clin. Microbiol.* — 2011. — Vol. 49. — P. 1961–1964.
31. Sandalakis V., Psaroulaki A., De Bock P.J. et al. Investigation of rifampicin resistance mechanisms in *Brucella abortus* using MS-driven comparative proteomics // *J. Proteome Res.* — 2012. — Vol. 11. — P. 2374–2385.
32. Cai J. C., Hu Y.Y., Zhang R. et al. Detection of *OmpK36* porin loss in *Klebsiella* spp. by Matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry // *J. Clin. Microbiol.* — 2012. — Vol. 50. — P. 2179–2182.
33. Bittar F., Ouchenane Z., Smati F. et al. MALDI-TOF-MS for rapid detection of staphylococcal Pantone-Valentine leukocidin // *Int. J. Antimicrob. Agents.* — 2009. — Vol. 34. — P. 467–470.
34. Szabados F., Becker K., von Eiff C. et al. The matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)-based protein peaks of 4448 and 5302 Da are not associated with the presence

of Panton-Valentine leukocidin // *Int. J. Med. Microbiol.* — 2011. — Vol. 301. — P. 58–63.

35. *Hrabak J., Chudackova E., Walkova R.* Matrix-assisted laser desorption ionization time-of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry for detection of antibiotic resistance mechanisms: from research to routine diagnosis // *Clin. Microbiol. Rev.* — 2013. — Vol. 26, № 1. — P. 103–114.

36. *Huang A.M., Newton D., Kunapuli A. et al.* Impact of rapid organism identification via matrix-assisted laser desorption ionization time-of flight combined with antimicrobial stewardship team intervention in adult patients with bacteremia and candidemia // *Clin. Infect. Dis.* — 2013. — Vol. 57, № 9. — P. 1237–1245.

37. *Kiehntopf M., Schmerler D., Brunkhorst F.M. et al.* Mass spectrometry-based protein patterns in the diagnosis of sepsis / systemic inflammatory response syndrome // *Shock.* — 2011. — Vol. 36. — P. 560–569.

38. *Van Belkum A., Welker M., Erhard M. et al.* Biomedical mass spectrometry in today's and tomorrow's clinical microbiology laboratory // *J. Clin. Microbiol.* — 2012. — Vol. 50. — P. 1513–1517.

39. *Kempf M., Bakour S., Flaudrops C. et al.* Rapid detection of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry // *PLoS One.* — 2012. — Vol. 7. — P. e31676.

40. *Sparbier K., Schubert S., Weller U. et al.* Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry-based functional assay for rapid detection of resistance against β -lactam antibiotics // *J. Clin. Microbiol.* — 2012. — Vol. 50. — P. 927–937.

41. *Han X., Hu Q., Ding S. et al.* Identification and immunological characteristics of chaperonin GroEL in *Riemerella anatipestifer* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* — 2012. — Vol. 93. — P. 1197–1205.

42. *Kothari A., Morgan M., Haake D.A.* Emerging technologies for rapid identification of pathogens // *Clin. Infect. Dis.* — 2014. — Vol. 59, № 2. — P. 272–278.