

Методы лабораторной диагностики возбудителей сепсиса

Т. В. ЧЁРНЕНЬКАЯ

НИИ скорой помощи им. Н. В. Склифосовского, Москва

Methods for Laboratory Diagnosis of Sepsis Pathogens

T. V. CHERNENKAYA

N. V. Sklifovskiy Research Institute of Emergency Medical Service, Moscow

В последние годы активно разрабатываются и внедряются в клиническую практику новые методы диагностики и лечения инфекционно-воспалительных заболеваний. Однако количество случаев сепсиса остается значительным и даже увеличивается. Так, по данным G. S. Martin и соавт. [1] число случаев сепсиса в США за период с 1979 по 2000 гг. увеличилось в 3 раза (со 100 до 300 на 100000 населения). Частота развития сепсиса в последние годы у больных стационаров, по данным разных авторов, составляет от 11 до 44 на 1000 госпитализированных [2, 3]. Среди пациентов реанимационных отделений частота развития сепсиса составляет 26,2—37 случаев на 100 поступивших в реанимационные отделения больных с сепсисом превышает более чем в 2 раза пребывание пациентов без сепсиса [5]. Стоимость лечения пациента с сепсисом и тяжёлым сепсисом составляет в среднем 20000 и 30000\$ соответственно, а смертность среди пациентов с сепсисом выше, чем среди других пациентов, на 30% [6].

Решающим фактором для выживания пациентов с сепсисом является раннее назначение целенаправленной антибактериальной терапии. Общепринятый подход — это назначение антибиотиков резерва с широким спектром действия, преимущественно карбапенемов, при появлении первых симптомов сепсиса. Но в ряде случаев такая тактика является неэффективной. Это связано с тем, что в последние годы все чаще появляются новые возбудители инфекционно-воспалительных заболеваний и отмечается рост устойчивости к антибиотикам известных микроорганизмов. Для назначения пациенту адекватной противомикробной терапии необходимо проведение лабораторных исследований, позволяющих точно установить возбудителя заболевания и его чувствительность к антибиотикам. С этой целью выполняются классические (общепринятые) микробиологические исследования, и помимо этого в настоящее время ведется поиск но-

вых некультуральных методов лабораторной диагностики, которые могли бы ускорить процесс идентификации возбудителей сепсиса.

Некультуральные методы диагностики

К этим методам относятся: определение в крови иммунологически активных компонентов микробных клеток, ДНК возбудителей и биомаркеров иммунного ответа организма пациента на инфекционный процесс. Среди этой группы методов лабораторной диагностики интерес, с точки зрения идентификации возбудителей, представляют определение прокальцитонина, липополисахарида грамотрицательных бактерий, маннана и галактоманнана грибов, молекулярная диагностика.

Определение уровня прокальцитонина в сыворотке крови пациентов. Прокальцитонин (РСТ) — прогормон кальцитонина. Доказано, что уровень прокальцитонина в сыворотке крови значительно увеличивается при тяжёлой генерализованной бактериальной или грибковой инфекции с наличием системных проявлений. При вирусных инфекциях и воспалительных реакциях неинфекционного происхождения РСТ не увеличивается. Локальные бактериальные инфекции без системных проявлений также вызывают лишь небольшое повышение РСТ. У пациентов с микробиологически доказанной бактериемией РСТ в сыворотке крови достоверно выше, чем у пациентов с клиническими проявлениями системной воспалительной реакции, но без bacteriemia [7, 8].

Отмечается чёткая корреляция пика РСТ в крови с тяжестью заболевания. Кроме того, показано, что уровень прокальцитонина в сыворотке крови достоверно выше в случае bacteriemia, вызванной грамотрицательными патогенами по сравнению с грамположительными. Если у пациента уровень РСТ выше 16,0 нг/мл, то можно предположить, что возбудителем сепсиса являются грамотрицательные бактерии [9]. Так как информация об уровне РСТ может быть получена в течение нескольких часов, то лечащий врач имеет возможность быстро принять решение о выборе группы антибактериальных препаратов с преимущественной активностью против

© Т. В. Черненкокая, 2010

Адрес для корреспонденции: 129090, Москва, Большая Сухаревская пл., 3. НИИ скорой помощи им. Н. В. Склифосовского

грамотрицательных патогенов. Однако в условиях широкого распространения штаммов микроорганизмов с полирезистентностью к современным противомикробным средствам, антибактериальная терапия все равно будет оставаться эмпирической. Тем не менее, определение уровня РСТ в комплексе диагностики сепсиса необходимо для дифференциального диагноза инфекционной и неинфекционной этиологии лихорадки неясного генеза, для мониторинга эффективности проводимого лечения и оценки прогноза для данного больного.

Определение липополисахарида грамотрицательных бактерий. Липополисахариды (эндотоксины) являются структурными компонентами наружной мембраны клеточных стенок грамотрицательных бактерий. В последние годы разрабатываются и внедряются в клиническую практику методы определения уровня липополисахаридов в сыворотке крови септических больных. Повышение уровня эндотоксинов свидетельствует о развитии инфекционного процесса, вызванного грамотрицательными бактериями [10]. В ряде исследований показано, что уровень эндотоксинов может повышаться в крови и при локальных бактериальных инфекциях, возбудителями которых являются грамотрицательные бактерии [11]. Определение липополисахаридов в сыворотке крови может применяться в комплексе диагностических тестов для установления этиологии сепсиса.

Определение маннана и галактоманнана грибов. Микробиологическая диагностика системных грибковых инфекций занимает длительное время. В качестве быстрой диагностики микозов в настоящее время применяются определение антигена маннана при глубоком кандидозе и антигена галактоманнана при аспергиллёзе. Для выявления маннана и галактоманнана разработаны тест-системы при проведении латексной агглютинации (ЛА): Pastorex^R Candida Ag и Aspergillus Ag (Bio-Rad) и иммуноферментного анализа (ИФА): Platelia^R Candida Ag и Aspergillus Ag (Bio-Rad). Специфичность обоих методов сходная, однако чувствительность ИФА выше, чем ЛА [12, 13].

Тест-системы ЛА и ИФА по определению антигена маннана разработаны только для нескольких видов грибов рода *Candida*: *C.albicans*, *C.tropicalis*, *C.pseudotropicalis*, *C.glabrata*, *C.parapsilosis* и *C.guilliemondii*. Таким образом, данные тест-системы определяют не все виды кандид, которые вызывают системные микозы. Большую проблему в лечении представляют микозы, вызванные *C.krusei*, в связи с полирезистентностью данного патогена к противогрибковым препаратам. Быстрая диагностика микозов, вызванных *C.krusei*, в настоящее время не проводится.

При проведении исследований на антиген маннан возможно получение большего числа ложноположительных результатов. [14] Это, оче-

видно, связано с достаточно распространённой, часто массивной, колонизацией слизистых оболочек пациентов грибами рода *Candida*.

Обнаружение галактоманнана является надёжным методом ранней диагностики аспергиллёза. Часто его можно определить еще до развития выраженных клинических симптомов заболевания. [15] Выявление галактоманнана в сыворотке иммунокомпрометированных пациентов и пациентов групп риска служит основанием для назначения противогрибковой терапии, так как доказана связь между выявлением галактоманнана, клинически установленным диагнозом аспергиллёза и эффективностью своевременно начатого лечения. Необходимо отметить, что возможны ложноположительные результаты теста на галактоманнан. Это может быть связано с его попаданием в кровоток из пищи через повреждённые барьеры желудочно-кишечного тракта [16] Для повышения диагностической значимости данного теста необходимо исследовать серию образцов материала от одного пациента. Диагноз инвазивного аспергиллёза можно считать подтверждённым при получении двух и более положительных результатов.

Методы определения маннана и галактоманнана в биологических жидкостях позволяют быстро получить результат, достаточно надёжны и удобны в рутинной работе. Но они не заменяют, а только дополняют классическое микробиологическое исследование при подозрении на системные микозы. Это связано с тем, что противогрибковая терапия часто зависит от точной идентификации вида гриба, так как имеются различия в природной чувствительности различных видов грибов к антифунгальным препаратам.

Методы молекулярной диагностики. Значительный интерес в установлении этиологии инфекционно-воспалительных заболеваний представляют методы молекулярной диагностики. Использование полимеразной цепной реакции (ПЦР) позволяет быстро идентифицировать возбудителей заболевания и облегчает выделение труднокультивируемых микроорганизмов.

По данным N. Wellinghausen и соавт. [17], применение real-time PCR в диагностике кандидемии позволяет на 3 суток сократить срок установления этиологического диагноза. L. E. Lehmann и соавт. [18] показал, что применение методов ПЦР позволило на 24% улучшить этиологическую диагностику сепсиса по сравнению с посевом крови и повысить эффективность антибактериальной терапии.

В 2006 году был зарегистрирован для клинического применения тест «LightCycler SeptiFast» (Roche Diagnostics), разработанный на основе ПЦР. Он позволяет диагностировать 25 возбудителей сепсиса, включая грамположительные, грамотрицательные бактерии и грибы в одной пробе крови. В клинических исследованиях, сравнива-

ющих применение данного теста и классический посев крови, показано несомненное преимущество данного теста в скорости получения результата (несколько часов против 2—3 суток) [19, 20]. Однако частота выделения возбудителей при данном методе и при посеве крови сопоставима. При исследовании 258 образцов крови от 52 пациентов положительная гемокультура была получена в 32 случаях (12,4%), а положительный результат «LightCycler SeptiFast» — в 33 (12,8%) [19]. Значительные различия получены в частоте выделения коагулазонегативных стафилококков. Так, при посеве крови они были выявлены в 10 (31,3%) случаях, а при использовании «LightCycler SeptiFast» — в 20 (62,5%) случаях. Очевидно, что «LightCycler SeptiFast» как более чувствительный метод выявляет даже минимальную контаминацию образца крови при получении пробы.

Методы молекулярной диагностики основаны на обнаружении ДНК микробных клеток в исследуемом образце. В этой связи при получении положительного результата исследования крови пациента возникает вопрос о наличии жизнеспособных бактерий в тестируемом образце. В ряде исследований показано, что возможна транслокация ДНК микробов из кишечника и обнаружение ДНК нежизнеспособных бактерий, находящихся в фагоцитах [21]. Кроме того, так же как и при классическом микробиологическом исследовании, актуальным является вопрос контаминации отбираемой пробы бактериями с кожи пациента [19]. Отрицательный результат исследования крови с помощью «LightCycler SeptiFast» возможен в том случае, если возбудителем сепсиса является микроорганизм, не входящий в число 25 тестируемых этим набором патогенов.

В ряде случаев методами молекулярной диагностики возможно не только обнаружить наличие патогенов, но и определить их устойчивость к антибиотикам. Определение устойчивости основано на поиске гена резистентности к определенным препаратам. Так, возможно определение в пробе гена *tesA* (детекция метициллинорезистентных стафилококков) и генов *vanA* и *vanB* (определение ванкомицинорезистентных энтерококков). К сожалению, определение устойчивости грамотрицательных патогенов к антибиотикам с помощью методов молекулярной диагностики в настоящее время не проводится. Это связано с большим количеством факторов, влияющих на развитие резистентности грамотрицательных бактерий к одному и тому же препарату.

Методы молекулярной диагностики позволяют быстро, в течение нескольких часов, определить наличие в крови основных возбудителей сепсиса, а в ряде случаев и определить наличие полирезистентности у грамположительных микроорганизмов. Применение ПЦР возможно в ка-

честве экспресс-диагностики этиологии сепсиса. Выбор антибактериальных препаратов при установленном возбудителе может проводиться на основании локальных данных об уровне устойчивости возбудителей к антибиотикам, полученных при проведении классического микробиологического исследования.

Микробиологическая диагностика

За последние 20 лет в микробиологической диагностике произошли значительные изменения в сторону сокращения сроков проведения исследований и повышения их достоверности. В современных лабораториях посев крови проводится с использованием автоматических анализаторов гемокультур серий ВАСТЕС или ВаСТ/Alert. Эти приборы позволяют сократить сроки проведения и повысить качество микробиологического исследования. Данные о наличии у больного бактериемии могут быть получены в первые 24 часа от начала исследования в 90% случаев, а в течение 72 часов — в 99% [22]. Высеваемость микроорганизмов, особенно труднокультивируемых, значительно выше при использовании анализаторов гемокультур [23]. Использование систем латекс-агглютинации и различных хром-агаров позволяет после определения наличия роста в крови микроорганизмов быстро и качественно провести идентификацию патогенов, а в случае выделения стафилококков определить наличие метициллинорезистентных штаммов [24—26].

При проведении посева крови имеются объективные технические сложности и трудности с интерпретацией полученных результатов. Концентрация микроорганизмов в крови взрослых пациентов составляет обычно, даже при сепсисе, менее 10 колониобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл [27]. Поэтому очень важно отбирать большой объем крови на посев. Одномоментный посев 10 мл крови считается оптимальным у взрослых пациентов. Кроме того, рекомендуется забирать на посев одновременно несколько образцов крови для исключения ложных результатов исследования. При проведении исследования одной пробы крови вероятность ошибки составляет 20—30%. [28] Ложноотрицательные результаты возможны, если в отобранную пробу крови не попали жизнеспособные микроорганизмы. А ложноположительные результаты связаны с контаминацией образца исследуемой крови вследствие попадания микроорганизмов с кожи пациента или с рук медперсонала во время венепункции.

Использование математической модели позволило выработать правила интерпретации положительной гемокультуры:

- если на исследование доставлен всего один образец крови и в нём получен рост микроорганизмов — результат промежуточный, необходимо повторить исследование;

Таблица 1. Частота выделения микроорганизмов из крови больных с сепсисом

Автор	Страна	Год публикации	Выделенные микроорганизмы	Частота выделения, %
Orrett F. A., Changoor E. [32]	Индия	2007	<i>Staphylococcus aureus</i>	23,9
			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15,5
			<i>Klebsiella</i> spp.	12,5
			<i>Enterobacter</i> sp.	11,1
Falagas M. E. et al. [33]	Греция	2006	<i>Staphylococcus aureus</i>	18,2
			CoNS*	35,9
			<i>Escherichia coli</i>	29
			Всего грамположительных, в т. ч.:	65
Wisplinghoff H. et al. [34]	США	2004	<i>S. aureus</i>	20
			CoNS	31
			<i>Enterococcus</i> spp.	9
			Всего грамотрицательных	25
			Грибы	9,5
			Всего грамположительных, в т. ч.	68,7
			<i>Staphylococcus</i> spp.	57
			Всего грамотрицательные, в т. ч.	26,5
Ozturk F. et al. [35]	Турция	2008	<i>E. coli</i>	9,5
			Грибы	4,7
			<i>S. aureus</i>	16,4—11,7
			CoNS	22,9—28,2
			<i>Enterococcus</i> spp.	3,3—8,2
			<i>Streptococcus agalactiae</i>	4,9—2,1
Hufnagel M. et al. [36]	Германия	2008	<i>Haemophilus influenzae</i>	7,3—0,7
			<i>Neisseria meningitidis</i>	1,9—0,5
			<i>S. aureus</i>	18,3
			<i>S. pneumoniae</i>	45,2
			<i>E. coli</i>	9,7
Hill P. C. et al. [37]	Замбия	2007	<i>Salmonella</i> sp.	8,6
			<i>P. aeruginosa</i>	38
			<i>S. aureus</i>	18,3
			<i>S. pneumoniae</i>	45,2
Saghir S. et al. [38]	Пакистан	2009	<i>E. coli</i>	9,7
			<i>Salmonella</i> sp.	8,6
			<i>P. aeruginosa</i>	38
			<i>S. aureus</i>	18,3

Примечание. * — CoNS — коагулазонегативные стафилококки.

- если в одном из двух отобранных образцов получен рост патогенов — бактериемия маловероятна, скорее всего, произошла контаминация;
- если два из двух или два-три из трёх образцов положительные и выделен один и тот же микроорганизм — у пациента зафиксирована бактериемия [29].

Данные правила были разработаны для интерпретации клинической значимости выделенных из крови коагулазонегативных стафилококков. В настоящее время рекомендуется придерживаться данных подходов при оценке этиологической значимости и других бактерий.

Соблюдение стандартных операционных процедур обработки кожи перед получением пробы крови на посев позволяет избежать контаминации образца [30,31].

По данным различных авторов, набор патогенов, выделяемых из крови, частота их встречаемости и чувствительность к антибиотикам различаются. В табл. 1 представлены данные о частоте выделения микроорганизмов из крови больных сепсисом.

Грамположительные бактерии выделяются из крови более чем в 50% случаев. Ведущими из грамположительных микроорганизмов являются коагулазонегативные стафилококки (22,9—35,9%). Золотистый стафилококк высевается из крови больных сепсисом с частотой 11,7—23,9%. Значительно реже выделяются энтерококки — 3,3—9%.

Грамотрицательные патогены выделяются в 25—39% случаев. Среди них преобладают представители сем. Enterobacteriaceae (11,1—29%) и *P. aeruginosa* (15,5—38%).

Дрожжеподобные грибы высеваются из крови с частотой 4,7—9,5%.

Различия в наборе патогенов и частоте их встречаемости связаны с клиническими различиями обследованных пациентов, территориальными особенностями и временным интервалом проведения исследований.

В работе М. Hufnagel и соавт. [36] представлена частота выделения грамположительных микроорганизмов из крови госпитализированных детей за периоды 1985—1995 гг. и 1997—2000 гг. Как видно из представленных данных (см. табл. 1), за указанный период произошло снижение частоты выделения из крови *S. aureus*, *S. agalactiae*, *H. influenzae*, *N. meningitidis*; незначительное увеличение частоты встречаемости CoNS и увеличение частоты встречаемости *Enterococcus* spp. более чем в два раза.

Значительные трудности в лечении представляют случаи сепсиса, вызванные полирезистентными микроорганизмами. Так, смертность пациентов с сепсисом выше, если заболевание вызвано устойчивыми штаммами бактерий [39, 40]. Кроме того, в случае заболевания, вызванного полирезистентной микрофлорой, общая стоимость лечения пациентов увеличивается в несколько раз за счёт большей длительности

Таблица 2. Частота выделения из крови больных с сепсисом устойчивых к антибиотикам микроорганизмов

Автор, ссылка	Страна	Год публикации	Проблемные устойчивые микроорганизмы	Частота выделения, %
Reynolds R. et al. [42]	Англия	2004	<i>S.aureus</i> (MRS*)	42
			CoNS (MRS)	76
			<i>K.pneumoniae</i> (БЛРС**)	5
			<i>E.coli</i> (БЛРС)	2
			<i>E.faecalis</i> (Van-R***)	3
			<i>E.faecium</i> (Van-R)	20
Falagas M. E. et al. [33]	Греция	2006	<i>S.aureus</i> (MRS)	17,2
			<i>P.aeruginosa</i> (Imp-R****)	3,4
Wisplinghoff H. et al. [34]	США	2004	<i>S.aureus</i> (MRS)	57
			<i>E.faecalis</i> (Van-R)	2
			<i>E.faecium</i> (Van-R)	60
Ozturk F. et al. [35]	Турция	2008	<i>S.aureus</i> (MRS)	61,6
			CoNS* (MRS)	68,1
			<i>K.pneumoniae</i> (БЛРС)	47
			<i>E.coli</i> (БЛРС)	64
Brink A. et al. [43]	ЮАР	2007	<i>S.aureus</i> (MRS)	36
			<i>P.aeruginosa</i> (Imp-R)	45
			<i>Acinetobacter</i> spp. (Imp-R)	33
			<i>K.pneumoniae</i> (БЛРС)	26
			<i>E.coli</i> (БЛРС)	5
			<i>K.pneumoniae</i> (БЛРС)	49
Koksal F. et al. [44]	Турция	2009	<i>E.coli</i> (БЛРС)	40
			<i>P.aeruginosa</i> (Imp-R)	13
Saghir S. et al. [38]	Пакистан	2009	<i>S.aureus</i> (MRS)	11,3
Orrett F. A., Changoor E. [32]	Индия	2007		

Примечание. * — метициллинорезистентные штаммы (MRS); ** — штаммы — продуценты бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС); *** — ванкомициноустойчивые штаммы (Van-R); **** — штаммы, устойчивые к карбапенемам (Imp-R).

пребывания больного в реанимации, использования дорогостоящих антибиотиков и длительности их применения, а также увеличения числа диагностических и других лечебных процедур [41].

В настоящее время к проблемным госпитальным микроорганизмам относятся метициллинорезистентные стафилококки, устойчивые к ванкомицину энтерококки; энтеробактерии — продуценты бета-лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС) и неферментирующие грамотрицательные бактерии, устойчивые к карбапенемам.

В табл. 2 представлены данные о частоте выделения из крови больных сепсисом проблемных полирезистентных микроорганизмов.

Частота выделения метициллинорезистентных *S.aureus*, по данным разных авторов, составляет от 11,3 до 61,6%. Причём, за последние годы число устойчивых штаммов значительно увеличилось. Так, по данным Н. Wisplinghoff и соавт. [34] в США в 1995 году выделялось из крови 22% метициллинорезистентных *S.aureus*, а в 2001 году их число возросло до 57%. Среди коагулазонегативных стафилококков количество устойчивых штаммов еще выше и составляет 68,1—76%.

По данным микробиологического мониторинга, среди *Enterococcus faecalis* доля штаммов, устойчивых к ванкомицину, составляет 2—3%, а среди *Enterococcus faecium* достигает 60%.

Распространение устойчивости к карбапенемам среди *P.aeruginosa* составляет от 3,4 до 45%, а среди штаммов *Acinetobacter* spp. достигает 33%. Случаи сепсиса, вызванные такими возбудителя-

ми, представляют значительные трудности в лечении. Это связано с тем, что, как правило, устойчивые к карбапенемам штаммы являются панрезистентными. Лечение пациентов в таких случаях проводится применением комбинаций нескольких препаратов в максимальных терапевтических дозах. При этом смертность пациентов с синегнойным сепсисом в несколько раз выше, чем среди пациентов с сепсисом другой этиологии. В исследовании F. A. Orrett, E. Changoor [32] смертность детей от сепсиса в целом составила 15,1%, а в группе пациентов, у которых сепсис был вызван *P.aeruginosa*, она составила 39,4%.

В последние годы в стационарах широкое распространение получили штаммы энтеробактерий, продуцирующие БЛРС. Так, среди выделяемых из крови больных сепсисом, вызванным *E.coli*, доля таких штаммов колеблется в пределах от 2 до 64%, а при *Klebsiella* spp. — 5—49%.

Как видно из представленных данных, частота встречаемости основных возбудителей сепсиса и их чувствительность к антибактериальным препаратам значительно различаются. В связи с этим для лечения септических пациентов необходимо иметь локальные данные по конкретному стационару.

Использование в микробиологической лаборатории автоматизированных систем и современных расходных материалов позволяет значительно сократить сроки проведения исследования. Информация о наличии у больного бактериемии может быть получена в течение суток от начала исследования. Данные по идентификации возбудителя и ре-

зультаты определения его чувствительности к антибиотикам доступны на 2—3 сутки от начала исследования. Посев крови, хотя и выполняется дольше

других лабораторных методов, позволяет получить наиболее полную информацию, необходимую для эффективной терапии пациентов с сепсисом.

ЛИТЕРАТУРА

- Martin G. S., Mannino D. M., Eaton S., Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003; 348: 1546—1554.
- Esteban A., Frutos-Vivar F., Ferguson N. D. et al. Sepsis incidence and outcome: contrasting the intensive care unit with the hospital ward. *Crit Care Med* 2007; 35: 1284—1289.
- Sundararajan V., Macisaac C. M., Presneill J. J. et al. Epidemiology of sepsis in Victoria, Australia. *Ibid* 2005; 33: 71—80.
- Vincent J. L., Sakr Y., Sprung C. L. et al. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Ibid* 2006; 34: 344—353.
- Alberti C., Brun-Bisson C., Burchardi H. et al. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicenter cohort study. *Intensive Care Med* 2002; 28: 108—121.
- Angus D. C., Linde-Zwirble W. T., Lidicker J. et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001; 29: 1303—1310.
- Jongwutives U., Suitharak K., Tiengrim S., Thamlikitkul V. Serum procalcitonin in diagnosis of bacteriemia. *J Med Assoc Thai* 2009; 92: Suppl 2: S79—87.
- Venkatesh B., Kennedy P., Kruger P. S. et al. Changes in serum procalcitonin and C-reactive protein following antimicrobial therapy as a guide to antibiotic duration in the critically ill: a prospective evaluation. *Anaesth Intensive Care* 2009; 37: 1: 20—26.
- Charles P. E., Ladoire S., Aho S. et al. Serum procalcitonin elevation in critically ill patients at the onset of bacteriemia caused by either Gram negative or Gram positive bacteria. *BMC Infect Dis* 2008; 8: 38.
- Venet C., Zeni F., Viallon A. et al. Endotoxaemia in patients with severe sepsis or septic shock. *Intensive Care Med* 2000; 5: 538—544.
- Cohen J. The detection and interpretation of endotoxaemia. *Intensive Care Med* 2000; 26: Suppl 1: S51—56.
- Sendid B., Tabouret M., Poirot J. et al. New enzyme immunoassays for sensitive detection of circulating *Candida albicans* mannan and anti-mannan antibodies: useful combined test for diagnosis of systemic candidiasis. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 5: 1510—1517.
- Denning D. Invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 781—805.
- Munoz P., Burillo A., Bouza E. Environmental surveillance and other control measures in the prevention of nosocomial fungal infections. *Clin Microbiol Infect Dis*. 2001; 7 Suppl 2: 38—45.
- Bretagne S., Marmorat-Khuong A., Kuentz M. Aspergillus galactomannan antigen testing by sandwich ELISA: practical use in neutropenic patients. *J Infect*. 1997; 35: 7—15.
- Maertens J., Verhaegen J., Lagrou K. et al. Screening for circulating galactomannan as a noninvasive diagnostic tool for invasive aspergillosis in prolonged neutropenic patients and stem cell transplantation recipients: a prospective validation. *Blood* 2001; 97: 6: 1604—1610.
- Wellinghausen N., Siegel D., Winter J., Gebert S. Rapid diagnosis of candidaemia by real-time PCR detection of *Candida* DNA in blood samples. *J Med Microbiol*. 2009; 58: 8: 1106—1111.
- Lehmann L. E., Alvarez J., Hunfeld K. P. et al. Potential clinical utility of polymerase chain reaction in microbiological testing for sepsis. *Crit Care Med* 2009; 37: 12: 3085—3090.
- Lodes U., Meyer F., Konig B., Lippert H. Microbiological sepsis screening in surgical ICU patients with the LightCycler Septifast test — a pilot study. *Zentralbl Chir* 2009; 134: 3: 249—253.
- Dierkes C., Ehrenstein B., Siebig S. Clinical impact of a commercially available multiplex PCR system for rapid detection of pathogens in patients with presumed sepsis. *BMC Infect Dis* 2009; 9: 126.
- Kane T. D., Alexander J. W., Johannigan J. A. The detection of microbial DNA in the blood: a sensitive method for diagnosing bacteriemia and/or bacterial translocation in surgical patients. *Ann Surg* 1998; 227: 1—9.
- Ziegler R., Johnscher I., Martus P. Controlled clinical laboratory comparison of two supplemented aerobic and anaerobic media used in automated blood culture systems to detect bloodstream infections. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 657—661.
- Vigano E. F., Vasconi E., Agrappi C., Clerici P. Use of simulated blood cultures for time to detection comparison between BacT/ALERT and BACTEC 9240 blood culture systems. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2002; 44: 235—240.
- Speers D. J., Olma T. R., Gilbert G. L. Evaluation of four methods for rapid identification of *Staphylococcus aureus* from blood cultures. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 4: 1032—1034.
- Tan G. L., Peterson E. M. CHROMagar *Candida* medium for direct susceptibility testing of yeast from blood cultures. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 4: 1727—1731.
- Chihara S., Hayden M. K., Minogue-Corbett E., Singh K. Shortened time to identify *Staphylococcus* species from blood cultures and methicillin resistance testing using CHROMagar. *Int J Microbiol* 2009; 2009: 636—502.
- Yagupsky P., Nolte F. S. Quantitative aspects of septicemia. *Clin Microbiol Rev* 1990; 3: 269—279.
- Rohner P., Auckenthaler R. Review on evaluations of currently available blood culture systems. *Clin Microbiol Infect* 1999; 5: 513—529.
- Tokars J. Predictive value of blood cultures positive for coagulase-negative staphylococci: implications for patient care and health care quality assurance. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 334—341.
- Hall K. K., Lyman J. A. Updated review of blood culture contamination. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19: 788—802.
- Madeo M., Jakson T., Williams C. Simple measures to reduce the rate of contamination of blood cultures in Accident and Emergency. *Emerg Med J* 2005; 22: 810—811.
- Orrett F. A., Changoor E. Bacteriemia in children at a regional hospital in Trinidad. *Int J Infect Dis* 2007; 11: 2: 145—151.
- Falagas M. E., Bakossi A., Pappas V. D. Secular trends of blood isolates in patients from a rural area population hospitalized in a tertiary center in a small city in Greece. *BMC Microbiol* 2006; 6: 41.
- Wisplinghoff H., Bischoff T., Tallent S. M. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 3: 309—317.
- Ozturk F., Gundes S., Isik C. Prospective evaluation of the risk factors, etiology and the antimicrobial susceptibilities of the isolates in nosocomial bacteriemic patients. *Mikrobiyol Bul* 2008; 42: 1: 17—27.
- Hufnagel M., Burger A., Bartelt S. Secular trends in pediatric bloodstream infections over a 20-year period at a tertiary care hospital in Germany. *Eur J Pediatr* 2008; 167: 10: 1149—1159.
- Hill P. C., Onyeama C. O., Ikumapayi U. N. Bacteriemia in patients admitted to an urban hospital in West Africa. *BMC Infect Dis* 2007; 7: 2.
- Saghir S., Faiz M., Saleem M. Characterization and anti-microbial susceptibility of gram-negative bacteria isolated from bloodstream infections of cancer patients on chemotherapy in Pakistan. *Indian J Med Microbiol* 2009; 27: 4: 341—347.
- Superti S. V., Augusti G., Zavascki A. P. Risk factors for and mortality of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* nosocomial bloodstream infections. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2009; 51: 211—216.
- Lautenbach E., Synnestevedt M., Weiner M. G. Imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: emergence, epidemiology, and impact on clinical and economic outcomes. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010; 31: 1: 47—53.
- Rubio-Terres C., Garau J., Grau S., Martinez L. Cost of bacteriemia caused by methicillin-resistant vs. methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in Spain. *ESCMID 2008, Abstract P1730*.
- Reynolds R., Potz N., Colman M. Antimicrobial susceptibility of the pathogens of bacteriemia in the UK and Ireland in 2001—2002: the BSAC bacteriemia resistance surveillance programme. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53: 6: 1018—1032.
- Brink A., Moolman J., da Silva M. C., Botha M. Antimicrobial susceptibility profile of selected bacteriemic pathogens from private institutions in South Africa. *S Afr Med J* 2007; 97: 4: 273—279.
- Koksal F., Ak K., Kucukbasmaci O., Samasti M. Prevalence and antimicrobial resistance patterns of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from blood cultures in an Istanbul University Hospital. *Chemotherapy* 2009; 55: 4: 293—297.