

Дата поступления рукописи в редакцию: 10.02.2026 г.

DOI: 10.24412/2782-3849-2026-2-378-388

Дата принятия рукописи в печать: 12.03.2026 г.

ТРЕТЬЯКОВА Ирина Евгеньевна,

заведующая кафедрой микробиологии, д.м.н., доцент,
врач-исследователь, специалист в области иммунологии и микробиологии,
ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия»,
Россия, г. Владикавказ, ORCID ID: 0009-0006-8178-8857,
e-mail: irinatretiakova111@mail.ru

ПЛИЕВА Жанна Владимировна,

ассистент, старший лаборант кафедры микробиологии,
ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия»,
Россия, г. Владикавказ,
e-mail: mail@law-books.ru

ИМАМАЛИ МАХБУБ Назанин Насеровна,

студентка 3 курса лечебного факультета
ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия»
Россия, г. Владикавказ, ORCID ID: 0009-0006-6640-9214,
e-mail: naniwetsun752003@mail.ru

БЕКОВЕВА Диана Александровна,

студентка 3 курса лечебного факультета
ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия»
Россия, г. Владикавказ, ORCID ID: 0009-0005-6221-6610,
e-mail: bekoevadiana78@gmail.com

ОЦЕНКА ЭКСПРЕСС МЕТОДОВ ТЕСТИРОВАНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКРОБОВ К ПРЕПАРАТАМ НА ОСНОВЕ ОБРАЗЦОВ КРОВИ С БЫСТРОЙ ИДЕНТИФИКАЦИЕЙ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ

Аннотация. Инфекции кровотока (ИК) являются серьезной проблемой общественного здравоохранения, связанной с высокой смертностью. Рекомендации по лечению сепсиса (Surviving Sepsis Guidelines) предписывают назначение антибиотиков в течение трех часов после выявления сепсиса. Таким образом, мы стремились оптимизировать процедуру и сократить время, необходимое для идентификации возбудителя и определения его чувствительности к антимикробным препаратам. Методы: Мы провели проспективное исследование положительных результатов посева крови, выявленных в течение 8 часов с помощью системы BacT/Alert 3D в период с ноября 2023 года по июль 2024 года. Мы включили в исследование случаи единичной бактериальной инфекции кровотока, выявленные как с помощью окрашивания по Граму, так и по Лю, и провели быструю идентификацию возбудителя с использованием масс-спектрометрии с матрично-ассистированной лазерной десорбцией и ионизацией по времени пролета (MALDI-TOF MS) после 3-часовой инкубации на агаровой пластине. Для трех протоколов RAST, а именно нового краткосрочного метода культивирования на агаровых пластинах или в бульоне и интегрированного протокола RAST, объединяющего критерии CLSI и EUCAST, были выбраны соответствующие антибиотики в соответствии с идентификацией вида. Сначала была оценена степень согласованности между быстрой и стандартной идентификацией с помощью MALDI-TOF MS. Затем был проведен анализ категориального согласия (CA), а также показателей незначительного расхождения (mD), существенного расхождения (MD) и очень существенного расхождения (VMD) между быстрым тестированием чувствительности к антимикробным препаратам (RAST) и традиционными методами (например, автоматизированной системой Vitek 2). Результаты: Всего было проанализировано 112 образцов крови с положительным результатом на мономикробные инфекции. Метод быстрой идентификации патогена, сокращающий время выполнения примерно на 18 часов, показал степень согласованности 94,6% (95% ДИ, 88,8-97,5%). Грамотрицательные бактерии и грамположительные

кокки были точно идентифицированы до видового уровня в 95,7% (95% ДИ, 85,8-98,8%) и 93,8% (95% ДИ, 85,2-97,6%) случаев соответственно. В каждом методе было получено в общей сложности 595 диаметров зон ингибирования, включая 374 грамположительных кокка и 221 грамотрицательную бациллу. Два новых метода RAST достигли общей точности определения (CA) 95,5% (95% ДИ, 93,5-96,9%), при этом среднее отклонение (MD) и среднее отклонение (mD) были ниже 3%. Однако гибридный метод RAST, интегрирующий стандарты CLSI и EUCAST, продемонстрировал среднее отклонение 3,7% (95% ДИ, 2,5-5,5%). При анализе с точки зрения антибиотикопрофилактики, все перечисленные ниже антибиотики продемонстрировали 100% эффективность, включая пенициллин, цефокситин, линезолид и тетрациклин против грамположительных бактерий, а также ципрофлоксацин, ампициллин и азтреонам против грамотрицательных бактерий. Вывод: Мы успешно разработали и оптимизировали алгоритм быстрой идентификации и RAST-тестирования, обеспечивающий быстрое и надежное обнаружение патогенов, вызывающих инфекции кровотока.

Ключевые слова: Быстрая идентификация патогенов; MALDI-TOF MS; Быстрое тестирование чувствительности к антимикробным препаратам; Окрашивание по Граму; Окрашивание по Лю.

TRETYAKOVA Irina Evgenievna,

Head of the Microbiology Department, MD, PhD,
Associate Professor, PhD researcher,
and specialist in immunology and microbiology,
North Ossetian State Medical Academy,
Vladikavkaz, Russia.

PLIEVA Zhanna Vladimirovna,

Assistant, Senior Laboratory Assistant
in the Department of Microbiology,
North Ossetian State Medical Academy,
Vladikavkaz, Russia

IMAMALI MAKHBUB Nazanin Naserovna,

3rd year student of the Faculty of Medicine
of the "North Ossetian State Medical Academy",
Russia, Vladikavkaz

BEKOEVA Diana Aleksandrovna,

3rd year student of the Faculty of Medicine
of the "North Ossetian State Medical Academy",
Russia, Vladikavkaz

EVALUATION OF RAPID METHODS FOR TESTING THE SENSITIVITY OF MICROBES TO DRUGS BASED ON BLOOD SAMPLES WITH RAPID IDENTIFICATION OF PATHOGENS

Annotation. Bloodstream infections (BSIs) is a major public health concern associated with high mortality. The Surviving Sepsis Guidelines recommend administering antibiotics within three hours after sepsis identified, thus, we aimed to optimize the procedure and reduce the turnaround time for pathogen identification and antimicrobial susceptibility testing. Methods: We conducted a prospective study on positive blood culture flagged within 8 hours by the BacT/Alert 3D system between November 2023 and July 2024. We enrolled single bacterial bloodstream infection by both the Gram staining and Liu's staining and conducted a rapid pathogen identification by using Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) after a 3-hour incubation on agar plate. Appropriate antibiotics were chosen according to species identification for three RAST protocols, namely a novel short term agar plate or broth culture method and an integrated RAST protocol integrating CLSI and EUCAST criteria. First, the concordance rate between rapid and standard MALDI-TOF MS identification was evaluated. This was followed by an analysis of the categorical agreement (CA), along with minor discrepancy (mD), major discrepancy

◇ (MD), and very major discrepancy (VMD) rates, between rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) and the conventional methods (e.g., Vitek 2 automated system). Results: A total of 112 monomicrobial positive blood culture samples were analyzed. The rapid pathogen identification method, reducing turnaround time by approximately 18 hours, exhibited a concordance rate of 94.6% (95% CI, 88.8-97.5%). Gram-negative bacteria and Gram-positive cocci were accurately identified to the species level in 95.7% (95% CI, 85.8-98.8%) and 93.8% (95% CI, 85.2-97.6%) of cases, respectively. A total number of 595 inhibition zone diameters were generated in each method, including 374 Gram-positive cocci and 221 Gram-negative bacilli. Two novel RAST both achieved an overall CA of 95.5% (95% CI, 93.5-96.9%), with MD and mD below 3%. However, the hybrid RAST integrating CLSI and EUCAST standard demonstrated a MD of 3.7% (95% CI, 2.5-5.5%). When analyzed based on the antibiotic perspective, the below antibiotics all demonstrated 100% CA, including penicillin, cefoxitin, linezolid, and tetracycline against Gram-positive bacteria and ciprofloxacin, ampicillin and aztreonam against Gram-negative bacteria. Conclusion: We have successfully developed and optimized a rapid identification and RAST workflow enabling swift and reliable detection of pathogens causing bloodstream infections.

◇ **Key words:** Rapid pathogen identification; MALDI-TOF MS; Rapid antimicrobial susceptibility testing; Gram staining; Liu's staining.

Введение

Инфекция кровотока (ИК) определяется как проникновение патогенных бактерий в кровоток с последующим их размножением и обильным выделением токсинов и метаболитов. Этот процесс запускает цитокиновый ответ организма, потенциально приводящий к опасным для жизни состояниям, таким как тяжелый сепсис и септический шок [1][2]. ИК оказывает существенное влияние на заболеваемость и смертность, занимая место в числе семи ведущих причин смерти в Северной Америке и Европе [3]. Несколько исследований показали сокращение продолжительности пребывания в стационаре и смертности, связанное с ранним и адекватным применением антибиотиков [4]. Однако обычные микробиологические процедуры, включающие выделение патогенов, их идентификацию и тестирование чувствительности к антибиотикам (ТЧА), обычно занимают до 48 часов для получения профилей чувствительности к антибиотикам. Эта значительная задержка существенно увеличивает риск ненадлежащего применения антибиотиков в этот критический период, что приводит к росту заболеваемости и смертности среди пациентов с инфекциями кровотока, особенно среди тяжелобольных или больных сепсисом [5-7]. В ответ на острую необходимость сокращения времени получения результатов Европейский комитет по тестированию чувствительности к противомикробным препаратам (EUCAST) и Институт клинических и лабораторных стандартов (CLSI) разработали методики быстрого тестирования чувствительности к противомикробным препаратам (RAST) в 2020 и 2021 годах соответственно. Эти инициативы внедрились протоколы RAST и установили пороговые значения для интерпретации результатов для отдельных антибиотиков в отношении распространенных патогенов, тем самым сократив время, необходимое для получения

результатов определения чувствительности к лекарственным препаратам, как минимум на 24 часа [8]. Однако рекомендации демонстрируют существенные ограничения в охвате: документ CLSI M100 предоставляет лишь некоторые пороговые значения для антибиотиков, относящихся к энтеробактериям, *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*; хотя рекомендации EUCAST частично заполняют этот пробел, предоставляя пороговые значения для грамположительных кокков, таких как *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* и *Streptococcus pneumoniae*, остается критический пробел в стандартизации для других распространенных патогенов при бактериемии, таких как коагулазонегативные стафилококки (CoNS) [9, 10].

Кроме того, точная идентификация бактерий является необходимым условием для протоколов RAST. Обеспечивая быструю идентификацию бактерий, мы можем заблаговременно выбрать целевые антимикробные препараты и оптимизировать приготовление агаровых пластин. Хотя ранее публиковались работы по быстрой идентификации патогенов с помощью масс-спектрометрии с матрично-ассистированной лазерной десорбцией и времяпролетным анализом (MALDI-TOF MS), основной проблемой, с которой она сталкивалась, были полимикробные инфекции кровотока [11, 12]. Традиционно для подтверждения наличия бактерий/грибков и дифференциальной бактериальной дифференциации в культуре крови применялось окрашивание по Граму, однако этот метод часто сталкивается с трудностями в обнаружении грамотрицательных бактерий или ложноположительных образцов в клинической практике, что часто приводит к неправильной интерпретации.

Кроме того, период инкубации является ключевым фактором, влияющим на эффективность RAST; сообщается, что значительные

ошибки могут наблюдаться после 6-часовой инкубации, а увеличение времени культивирования до 8 часов может значительно улучшить результаты [13]. Несмотря на короткий 8-часовой период инкубации, 18,4% изолятов оставались в зоне технической неопределенности [14]. В данном исследовании мы оптимизировали традиционный рабочий процесс, обеспечивающий точную идентификацию инфекций кровотока, и внедрили две инновационные методики RAST, которые значительно сократили время выполнения анализа и обеспечили более широкий охват видов бактерий и антибиотиков у китайских пациентов с инфекциями кровотока.

Материалы и методы исследования

Образцы крови для посева. Разрешение этического комитета для данного исследования не требовалось, поскольку использовались только имеющиеся образцы, и оно было в основном сосредоточено на бактериях. Образцы крови засеивали в флаконы для посева крови и инкубировали в системе 3D-идентификации микроорганизмов BacT/ALERT (Vitek, bioMérieux, Marcyd'Etoile, Франция) для непрерывного мониторинга роста бактерий. При обнаружении положительного результата в течение 8 часов положительный результат посева крови подтверждался как мономикробная инфекция кровотока с помощью окрашивания по Граму и микроскопии с окрашиванием по Лю, после чего образцы включались в когорту исследования. Полимикробные и/или грибковые инфекции исключались с помощью стандартного морфологического анализа. В окончательный анализ включался только первый положительный изолят из культуры крови каждого пациента.

Быстрая идентификация патогенов путем 3-часового культивирования с использованием MALDI-TOF MS.

Для положительных образцов крови для посева брали четыре капли или 50 мкл культуральной жидкости для грамтрицательных бацилл и восемь капель или 100 мкл для грамположительных кокков с помощью иглы 20-го калибра или стерильного шприца. Образцы засеивали на чашки Петри с кровяным агаром и шоколадным кровяным агаром, которые инкубировали при $35\pm 2^\circ\text{C}$ с 5% CO_2 в течение 3 часов. Бактерии отбирали с чашек Петри с кровяным агаром с помощью пластиковой петли объемом 1 мкл и наносили на чашки Петри для анализа методом MALDI-TOF MS (VITEK MS, bioMérieux). На мазки наносили 1 мкл раствора матрицы (α -циано-4-гидроксикоричная кислота, VITEK MS CHCA), после чего мишени высушивали на воздухе при комнатной температуре. Затем чашки Петри загружали

в масс-спектрометр для быстрой идентификации патогенов методом MALDI-TOF MS (Vitek, bioMérieux, Marcyd'Etoile, Франция). Результаты идентификации, полученные с помощью быстрого метода MALDI-TOF MS, сравнивали со стандартными протоколами идентификации на основе 18-24-часового ночного культивирования. Внутренний контроль качества для MALDI-TOF MS проводили еженедельно с использованием следующих стандартных штаммов: ATCC 19433, ATCC 13048 и ATCC MYA-2950, при этом штамм 8739 служил внутренним контролем в каждом анализе для проверки.

Протокол RAST с использованием агаровой пластины в качестве бактериальной суспензии

Бактерии, выбранные для быстрой идентификации видов, использовались для приготовления бактериальной суспензии с концентрацией 0,5 Макфарланда. Затем суспензия равномерно наносилась на всю поверхность чашек Петри с агаром Мюллера-Хинтона (MHA) с помощью стерильных ватных тампонов — для *Streptococcus* spp. требовался кровяной агар Мюллера-Хинтона. Антимикробные диски выбирались для нанесения на поверхность засеянной чашки с агаром MHA в соответствии с результатами идентификации методом MALDI-TOF MS. В данном исследовании были использованы 8 широко применяемых противомикробных препаратов, включая пенициллин (P, 10 мкг), эритромицин (E, 15 мкг), тетрациклин (TE, 30 мкг), левофлоксацин (LEV, 5 мкг), ванкомицин (VA, 30 мкг) для борьбы с грамположительными кокками, а также имипенем (IPM, 10 мкг), цефтриаксон (CRO, 30 мкг), ампициллин (AMP, 10 мкг), цiproфлоксацин (CIP, 5 мкг). Для определения чувствительности к антимикробным препаратам использовали АК (30 мкг) и пиперацillin/тазобактам (ТЗП, 30/6 мкг). Антимикробные диски были заказаны у компании Oxoid (Thermo Fisher Scientific, Великобритания). Состав этих дисков соответствовал стандартам CLSI и EUCAST. Чашки Петри инкубировали при температуре $35\pm 2^\circ\text{C}$ в течение 16-18 часов, при этом чашки со стрептококками дополнительно обрабатывали 5% CO_2 , после чего измеряли диаметры зон ингибирования роста. *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Staphylococcus aureus* 25923 использовали в качестве контроля качества для теста на чувствительность к антимикробным препаратам каждую неделю. Для обеспечения надежности результатов мы проводили межэкспертное сравнение измерений диаметров зон и интерпретации морфологии окрашивания ежеквартально, что позволило достичь идеального совпадения (100%).

Протокол RAST с использованием кратковременной культуры в бульоне в качестве бактериальной суспензии.

Четыре капли (50 мкл) положительной культуральной среды для грамотрицательных бацилл и восемь капель (100 мкл) для грамположительных кокков были отобраны и помещены в одну стерильную пробирку, содержащую 2 мл триптического соевого бульона (TSB). Смесь инкубировали в центрифуге при 37°C со скоростью 250 об/мин в течение 3 часов. Затем 1 мл бактериальной суспензии переносили в пробирку EP, центрифугировали при 10 000 об/мин в течение 1 минуты, после чего осторожно удаляли надосадочную жидкость. Осадок промывали 1 мл стерильной дистиллированной воды, снова центрифугировали в тех же условиях, а надосадочную жидкость удаляли, получая чистый осадок. Этот осадок затем использовали для приготовления бактериальной суспензии стандарта Макфарланда 0,5. Стандартизированную суспензию равномерно засекали на чашку Петри с питательной средой MHA со стрептококками spp. Для культивирования использовали кровяной агар Мюллера-Хинтона, на который наносили соответствующие антибиотические диски. Затем чашки Петри инкубировали в аэробных условиях при температуре 35°C ± 2°C, дополнительно используя чашки с культурой *Streptococcus* spp., в которые добавляли 5% CO₂. Диаметры зон подавления роста измеряли после 16-18 часов инкубации. Контроль качества и межэкспертные сравнения при измерении диаметров зон и интерпретации морфологии окрашивания проводили, как описано выше.

Интегрированный протокол RAST, объединяющий рекомендации CLSI и EUCAST.

В соответствии с рекомендациями CLSI и EUCAST, положительные образцы крови, отмеченные автоматизированной системой BacT/Alert 3D в течение 8 часов, обрабатывались следующим образом: из флаконов с положительными образцами крови отбирали 50 мкл (эквивалентно четырем каплям) бульона для грамотрицательных бацилл и 100 мкл (восемь капель) для грамположительных кокков и наносили на чашки Петри с агаром Мюллера-Хинтона (MHA), при этом для *Streptococcus* spp. требовался кровяной агар Мюллера-Хинтона. Инокулят равномерно распределяли по всей поверхности агара стерильными тампонами. Затем наносили диски для определения чувствительности к антимикробным препаратам, и чашки Петри инкубировали при температуре 35±2°C в атмосферных условиях, при этом чашки Петри для *Streptococcus* spp. дополнительно обогащали 5% CO₂. Диаметры зон ингибирования измеряли через 16-18 часов инкубации. Контроль качества и межнаблюда-

тельные сравнения при измерении диаметра зоны и интерпретации морфологии окрашивания проводились, как описано выше.

Пороговые значения RAST, используемые для интерпретации результатов AST.

Критерии интерпретации антимикробной чувствительности были установлены в соответствии с пороговыми значениями RAST 16-18 ч, изложенными в CLSI и EUCAST. В случаях, когда специфические для RAST критерии интерпретации отсутствовали в соответствующих стандартах, в качестве эталонной методики использовалась традиционная дисковая диффузионная методика, описанная в документе CLSI M100 (2024). Конкретные детали были следующими: для грамотрицательных бацилл пороговые значения CRO, AMP и CIP для энтеробактерий, а также пороговые значения CIP для *Pseudomonas aeruginosa*, а также пороговые значения CRO и CIP для *Acinetobacter* spp. были определены с использованием критериев RAST, изложенных в CLSI 2024 M100. Пороговые значения IPM для *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, а также IPM и для *Acinetobacter baumannii* соответствовали критериям RAST в EUCAST 2024. Пороговые значения и IPM для энтеробактерий, отличных от *E. coli* и *K. pneumoniae*, соответствовали стандартным критериям диаметра зоны CLSI 2024 M100. Пороговые значения E и DA для *Streptococcus pneumoniae*, пороговые значения и VA для *Enterococcus faecium* были определены с использованием рекомендаций EUCAST 2024 RAST.

Анализ данных RAST

Результаты тестирования чувствительности к антимикробным препаратам сравнивались с результатами, полученными традиционным способом с помощью автоматизированной системы Vitek 2. Кроме того, бактериальные изоляты, диаметры зон которых находились в пределах зоны технической неопределенности в системе RAST, были отнесены к категории неопределенных из-за неубедительной классификации как чувствительных или резистентных. Проверка эффективности тестирования чувствительности к антимикробным препаратам проводилась в соответствии с рекомендациями CLSI M52 для каждого тестируемого антимикробного препарата, включая категориальное соответствие (CA), незначительное расхождение (mD), существенное расхождение (MD) и очень существенное расхождение (VMD) [15]. CA определялся как процент совпадения между коммерческим методом и методом RAST при классификации изолятов как чувствительных (S) или резистентных (R), VMD (RAST = S и система Vitek2 = R), MD (RAST = S и

система Vitek2 = R) и mD (RAST = S или R и система Vitek2 = I, RAST = I и система Vitek2 = S или R). В соответствии со стандартом CLSI M52, который устанавливает минимальные пороговые значения качества $\geq 90\%$ CA, при этом показатели VMD и MD не должны превышать 3,0% [15].

Результаты

Быстрая идентификация патогенов по положительным результатам посева крови. В период с ноября 2023 по июль 2024 года было исследовано 112 мономикробных образцов с помощью окрашивания по Граму и окрашивания по Лю, включая 65 грамположительных кокков и 47 грамотрицательных бацилл. Пять образцов с полимикробной инфекцией кровотока были исключены на основании данного протокола окрашивания. Последующая идентификация выявила следующие микробные комбинации: два образца содержали коагулазонегативных стафилококков (CoNS) и *Enterococcus faecalis*; один образец был положительным на *Acinetobacter baumannii* и *Enterococcus faecalis*; в одном образце наблюдался рост *Escherichia coli* и CoNS, а один образец представлял собой комбинацию грибка и CoNS. После трехчасового культивирования на агаре мы быстро идентифицировали 112 положительных мономикробных культур крови. Наиболее распространенными бактериями были *Staphylococcus epidermidis*, на долю которых приходилось 24,1% (27/112), за ними следовали *Escherichia coli* (14,3%, 16/112) и *Staphylococcus hominis* (12,5%, 14/112). Распределение бактерий показано в таблице 1. По сравнению с традиционным методом идентификации с использованием выделения бактерий путем культивирования в течение 18-24 часов, быстрая идентификация патогенов показала средний коэффициент совпадения 94,6% (95% ДИ, 88,8-97,5%). В частности, он составил 93,8% (95% ДИ, 85,2-97,6%) для грамположительных кокков и 95,7% (95% ДИ, 85,8-98,8%) для грамотрицательных бацилл соответственно. Точность идентификации видов *Staphylococcus* spp. достигнуто $100\% \leq 95\%$ ДИ, 92,9–100,0% $\leq$. Однако для *Streptococcus* точность идентификации рода достигла 100%, в то время как точность идентификации вида составила всего 66,7%, как показано в таблице 1.

Результаты тестирования чувствительности к антимикробным препаратам традиционными методами

Результаты тестирования чувствительности к антибиотикам традиционным методом, в основном с помощью автоматизированной системы Vitek 2, показали, что виды *Staphylococcus* spp. проявляют существенную устойчивость к антибиотикам. Самый высокий уровень устойчивости

был зафиксирован в отношении пенициллина 91,7% (44/48), за которым следуют макролидные антибиотики (более 50%) и левофлоксацин 42% (21/50). Уровень устойчивости к пенициллину среди видов *Streptococcus* spp. Устойчивость составила 22,2% (2/9), причем эта устойчивость в основном была обусловлена *Streptococcus oralis* и *Streptococcus mitis*. Среди протестированных изолятов *Enterococcus* spp. 66,7% (4/6) продемонстрировали промежуточную чувствительность к эритромицину. Примечательно, что все изоляты грамположительных кокков оставались чувствительными к ванкомицину, при этом резистентных фенотипов обнаружено не было. Тестирование чувствительности к антимикробным препаратам показало, что среди изолятов *Enterobacterales* наибольшая устойчивость наблюдалась к цефтриаксону (50,0%, 18/38). Напротив, *Enterobacterales* продемонстрировали более высокую чувствительность к амикацину и пиперациллину/тазобактаму, с показателями чувствительности более 80%. *Acinetobacter* spp. показали 25% (1/4) резистентности к пиперациллину/тазобактаму, и был выявлен один штамм карбапенем-резистентного *Acinetobacter baumannii* (CRAB). *Pseudomonas aeruginosa* продемонстрировали 100% чувствительность к, амикацину, имипенему, пиперациллину/тазобактаму.

В общей сложности было получено 597 диаметров зон с помощью трех методов RAST, включая 374 грамположительных кокка и 221 грамотрицательную палочку; VMD не наблюдалось. Результаты RAST с использованием патины агаровой пластины показали 95,5% (95% ДИ, 93,5-96,9%) CA по сравнению с эталонным методом, 2,2% (95% ДИ, 1,3-3,7%) MD и 2,2% (95% ДИ, 1,3-3,7%) mD. Примечательно, что для грамположительных кокков показатель CA достиг 97,1% (95% ДИ, 94,8-98,4%), при этом показатели MD и mD были ниже 3%. Полная чувствительность к антибиотикам (100,0%) наблюдалась у *Streptococcus* spp., *Staphylococcus haemolyticus*, *S. cohnii* и *Enterococcus faecium*. При анализе с точки зрения антибиотикочувствительности 100,0% чувствительность к антибиотикам была достигнута для пенициллина, тетрациклина, ванкомицина. MD были обнаружены у двух изолятов: *Staphylococcus hominis* против левофлоксацина. Между тем, mD чаще всего наблюдались в тестах на чувствительность к эритромицину, составляя 87,5% (7/8) среди грамположительных кокков. Для грамотрицательных бацилл этот метод продемонстрировал частоту выявления патологий (CA) 92,8% (95% ДИ, 88,6-95,5%) и частоту выявления миелоидных лейкоцитов (MD) 4,5% (95% ДИ, 2,5-8,1%). При классификации по классам антибиотиков цефтриаксон, цiproфлоксацин и ампициллин показали 100% частоту выявления

патологий. Амикацин и пиперациллин/тазобактам показали особенно высокие показатели выявления миелоидных лейкоцитов — 16,7% (7/35) и 6,7% (3/41) соответственно, в основном вызванные энтеробактериями, отличными от *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae*. *Pantoea* spp. продемонстрировали высокие показатели ошибок, при этом имипенем и цiproфлоксацин были единственными двумя антибиотиками, показавшими существенное соответствие результатам референсного метода.

Результаты RAST с использованием краткосрочной культуры в бульоне показали в общей сложности 95,5% CA (95% ДИ, 93,5-96,9%), 2,0% MD (95% ДИ, 1,2-3,5%) и 2,5% mD (95% ДИ, 1,5-4,1%). Результаты CA продемонстрировали идентичную эффективность с RAST, использующим метод патинирования агаровой пластины. А значения MD и mD между двумя новыми методами RAST были практически одинаковыми. Расхождения заключаются в следующем: среди изолятов *Raoultella ornithinolytica* метод культивирования на агаровой пластине выявил два случая MD — по одному для амикацина и пиперациллина/тазобактама. Различие отмечено с *Klebsiella pneumoniae*, которая была классифицирована как ATU для пиперациллина/тазобактама методом культивирования на агаровой пластине, однако этим же методом она оказалась mD.

Гибридный RAST, интегрирующий рекомендации CLSI и EUCAST, продемонстрировал 90,6% CA (95% ДИ, 88,0-92,7%), однако показал 3,7% MD (95% ДИ, 2,5-5,5%) и 5,5% mD (95% ДИ, 4,0-7,7%), что превышает стандарт. Для грамположительных кокков этот метод показал 91,7% (95% ДИ, 88,9-94,5%) CA, 2,7% MD (95% ДИ, 1,5-4,9%) и 5,6% (95% ДИ, 3,7-8,4%) mD. MD преимущественно были связаны с тестированием чувствительности к ванкомицину среди *Enterococcus* spp. и ассоциировались с левофлоксацином среди изолятов CoNS. MD преимущественно ассоциировалась с тестированием чувствительности к эритромицину и левофлоксацину среди видов *Staphylococcus* spp. и *Enterococcus* spp., при этом на эритромицин приходилось 52,4% (11/21) MD. При стратификации по классам антибиотиков этот метод продемонстрировал 100% совпадение результатов для пенициллина, тетрациклина. Для грамотрицательных бацилл общий показатель совпадения результатов по всем протестированным изолятам составил всего 88,7%, при этом показатели MD и mD превысили 5,0%. В отряде *Enterobacterales* (за исключением *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae*) расхождения были в основном вызваны амикацином и пиперациллином/тазобактамом, на долю которых приходилось 72,4% (21/29) случаев множественной дисактивности (MD) и 63,8% (37/58) случаев

mD. Среди изолятов *Escherichia coli* mD были выявлены в двух случаях для результатов определения чувствительности к цефтриаксону. Изоляты *Klebsiella pneumoniae* демонстрировали паттерны mD, включающие по одному случаю для цефтазидима, цефтриаксона и пиперациллина/тазобактама. Кроме того, единичный случай mD был задокументирован для цефтазидима у *Pseudomonas aeruginosa*. В соответствии с двумя новыми методами RAST, этот подход также выявил показатель mD 2,1% для имипенема среди изолятов *Serratia marcescens*, а *Pantoea* spp. продемонстрировали повышенный уровень ошибок для всех протестированных антимикробных препаратов, за исключением имипенема.

Сравнительная оценка трех методов RAST

Оба новых метода RAST соответствовали международно признанному пороговому значению для надежного тестирования чувствительности к антимикробным препаратам, при этом CA составлял более 95%, а VMD и MD — менее 3% при использовании пороговых значений антимикробных препаратов, установленных как рекомендации EUCAST, так и CLSI для анализа RAST. Методы с использованием агаровой пластины и соевого бульона показали значительно лучшие результаты по сравнению с интегрированным методом RAST, объединяющим рекомендации CLSI и EUCAST ($P=0,001$). В частности, среди грамположительных кокков два новых метода RAST продемонстрировали значительно лучшие результаты, при этом наблюдаемая дисперсия превысила пороговые значения значимости, скорректированные по методу Бонферрони ($P=0,001$), в то время как статистически значимой разницы между результатами двух новых методов RAST не наблюдалось.

Обсуждение

Инфекции кровотока требуют быстрого выявления патогенов и профилирования антибиотикорезистентности для своевременного лечения. Однако существующие традиционные диагностические процедуры, включающие окрашивание по Граму, идентификацию на основе культур и фенотипическое определение чувствительности к антибиотикам, требуют приблизительно 48 часов для получения полного результата [13]. Хотя CLSI (2021) и EUCAST (2020) выпустили рекомендации по RAST, проблемы остаются. В этом исследовании мы оптимизировали рабочий процесс для решения этих проблем и значительного сокращения времени выполнения.

Во-первых, несмотря на относительно низкую клиническую распространенность полими-

кробных инфекций кровотока [17, 18], MALDI-TOF MS демонстрирует ограниченную эффективность в разрешении таких смешанных микробных образцов, следовательно, морфологические методы окрашивания остаются необходимыми перед процедурами быстрой идентификации. Мы исключили пять образцов, демонстрирующих множественные патогены, с помощью этого метода, что в конечном итоге повысило точность идентификации бактерий на 4,2%. Это может быть связано с тем, что окрашивание по Лю не требует этапа обесцвечивания спиртом, что обеспечивает улучшенное сохранение структуры бактериальной морфологии на предметных стеклах. Это особенно важно для грамотрицательных бацилл, которые демонстрируют значительно более слабую адгезию к поверхности стеклянных предметных стекол.

Во-вторых, RAST необходимо интегрировать с методами быстрой идентификации бактерий, чтобы полностью раскрыть его клинический потенциал. Эта синергия имеет решающее значение, поскольку быстрая идентификация бактерий может помочь в выборе соответствующей панели антимикробных препаратов, агаровых пластин и условий инкубации, тем самым повышая точность интерпретации RAST и значительно сокращая время выполнения анализа. На видовом уровне метод быстрой идентификации патогенов достиг 94,6% (106/112) совпадения с методом ночной культуры. Этот показатель совпадения значительно выше, чем 85,6%, о которых сообщалось в предыдущем исследовании высокопроизводительной идентификации клинических изолятов в условиях рутинной микробиологии [20]. Точность быстрой идентификации видов *Enterobacteriaceae* и *Staphylococcus* spp. составила 100%, что также выше, чем сообщалось в других исследованиях. Однако для стрептококков группы *viridans* точность на видовом уровне была значительно ниже (66,7%). Эти результаты согласуются с предыдущими отчетами, подчеркивающими ограничения MALDI-TOF MS в различении близкородственных видов в группе стрептококков *viridans*, особенно при использовании стандартных баз данных. Из-за медленного роста стрептококков *viridans* приготовление прямого мазка после всего трех часов инкубации может привести к переносу чрезмерного количества агара. Это приводит к увеличению фонового шума в масс-спектре и снижает эффективность идентификации. Эту проблему можно решить, используя культуру в бульоне с последующей экстракцией белка — протокол, который увеличивает выход бактериального белка и эффективно подавляет фоновые помехи. Кроме того, поскольку точность идентификации на уровне рода остается неизменной,

выбор антибиотиков для экспресс-тестирования чувствительности не изменяется, даже если соответствие на уровне вида варьируется.

В то время как в руководстве CLSI M100 отсутствуют стандартизированные пороговые значения RAST для антибиотиков, обеспечивающие всесторонний охват грамположительных бактерий, в руководстве EUCAST RAST отсутствуют пороговые значения RAST для коагулазо-негативных стафилококков (CoNS) и критически важные пороговые значения для противометициллин-резистентных золотистых стафилококков (MRSA) (ванкомицин), а также для ключевых видов *Enterococcus*, включая *E. faecalis* и *E. faecium*. Такие ограничения требуют срочной интеграции комплексных критериев интерпретации RAST из нескольких референсных систем и дополнения их стандартными пороговыми значениями CLSI, определяемыми в течение ночи. В этом исследовании мы одновременно использовали три различных метода RAST для определения антимикробной чувствительности бактерий, вызывающих инфекции кровотока, включая метод CLSI и EUCAST RAST, а также два новых оптимизированных для культивирования рабочих процесса RAST. Для гибридного метода RAST, объединяющего рекомендации CLSI и EUCAST, общий показатель CA составил 90,6%, показатель VMD — 0%, MD — 3,7%, а mD — 5,5%. Показатель CA лишь частично соответствовал минимальным требованиям, однако показатель MD превысил рекомендуемый порог качества на 1%. Показатель CA для грамотрицательных бацилл составил 88,7%, а показатель MD — 5,4%, оба показателя оказались ниже допустимого порога. MD были в основном связаны с TZP и АК против энтеробактерий, за исключением *E. coli* и *K. pneumoniae*. mD были преимущественно связаны с CRO в составе энтеробактерий. Показатель CA для грамположительных кокков составил 91,7%. MD преимущественно наблюдались в VA, LEV, тогда как mD были в основном связаны с LEV и E. Показатели CA, наблюдаемые между грамотрицательными бациллами и грамположительными кокками, отличались от данных литературы, при этом лучшие результаты были продемонстрированы для первой группы. Это расхождение может быть связано с четырьмя факторами: 1. Мы выбрали антимикробные препараты и агаровые пластины с помощью быстрой идентификации патогенов. 2. Мы объединили пороговые значения CLSI и EUCAST для определения чувствительности к антибиотикам. 3. Мы внедрили критерии интерпретации в течение 16-18 часов для обеспечения оптимального роста бактерий. 4. В этом исследовании был включен более широкий спектр видов *Enterobacteriaceae*, таких как

Pantoea, по сравнению с предыдущими исследованиями. После оптимизации показатели СА достигли клинической приемлемости, а охват бактерий был превосходным, при этом значительное улучшение наблюдалось среди грамположительных кокков. Кроме того, этот метод не требует дополнительных инвестиций. Что касается трудозатрат, протокол разработан таким образом, чтобы его можно было легко интегрировать без увеличения рабочей нагрузки, что делает его более экономически эффективным. В данном исследовании были разработаны две новые методики RAST, обе продемонстрировали превосходные показатели эффективности, при этом наблюдалась сопоставимая результативность, обе достигли общей критической эффективности 95,5% (грамположительные кокки: 97,5%; грамотрицательные бациллы: 92,8%) с нулевым уровнем VMD и показателями MD и mD ниже 3,0%, что полностью соответствует стандартам CLSI. Показатели критической эффективности для всех протестированных антибиотиков превышали 90%, за исключением эритромицина и амикацина, а для ванкомицина этот показатель достиг 100%, несмотря на отсутствие установленных пороговых значений в текущих рекомендациях EUCAST и CLSI RAST. Для грамположительных кокков показатели MD и mD составляли 0,8% и 2,1% соответственно. Эти расхождения были преимущественно связаны с LEV и E. Показатели ошибок обоих новых методов ниже, чем в других исследованных работах [26, 27]. Удивительно, но эффективность двух новых методов для грамотрицательных бактерий оказалась ниже, чем для грамположительных организмов. Среди грамотрицательных бактерий метод на основе агаровых пластин показал частоту МД 4,5%, в то время как метод на основе триптического соевого бульона показал частоту МД 4,1%, что лишь немного ниже, чем у методов CLSI и EUCAST RAST. Причина МД была практически одинаковой.

Сравнительная оценка трех методов RAST с помощью критерия хи-квадрат показала, что оба новых метода RAST продемонстрировали значительно лучшие результаты по сравнению с интегрированным методом CLSI и EUCAST RAST ($P=0,001$). В частности, среди грамположительных кокков два новых метода RAST показали гораздо лучшие результаты по сравнению с гибридным методом EUCAST/CLSI RAST, при этом наблюдались статистически значимые различия. После методологической оптимизации показатели СА среди грамположительных кокков демонстрировали прогрессивное повышение, что может быть связано с увеличением бактериального инокулята в новых методах. В отличие от этого, среди грамотрицательных бацилл стати-

стически значимых различий не было обнаружено, что предполагает, что при увеличении времени инкубации до 16-18 часов в нашем исследовании инокулят бактерий оказывал незначительное влияние на грамотрицательные бациллы.

Оба новых метода RAST демонстрируют сопоставимые результаты, не наблюдалось никаких нежелательных явлений или загрязнения образцов. Экспериментальная процедура с использованием метода агаровых пластин проще и, в отличие от кратковременной культуры в бульоне, не требует дополнительного оборудования, такого как инкубатор-шейкер или центрифуга. Поэтому с точки зрения стоимости и эффективности рабочего процесса метод агаровых пластин обладает явным практическим преимуществом. Этот метод сокращает общее время выполнения примерно на 18 часов.

Сокращения

BSIs: Инфекции кровотока; MALDI-TOF MS: Масс-спектрометрия с матрично-ассистированной лазерной десорбцией и ионизацией по времени пролета; RAST: Экспресс-тестирование чувствительности к антимикробным препаратам; CLSI: Институт клинических и лабораторных стандартов; EUCAST: Европейский комитет по тестированию чувствительности к антимикробным препаратам; CA: Категориальное согласие; mD: Незначительное расхождение; MD: Значительное расхождение; VMD: Очень значительное расхождение; P: Пенициллин; E: Эритромицин; TE: Тетрациклин; LEV: Левофлоксацин; VA: Ванкомицин; IPM: Имипенем; CRO: Цефтриаксон; AMP: Ампициллин; CIP: Ципрофлоксацин; AK: Амикацин; TZP: Пиперацillin/тазобактамом.

Список литературы:

- [1] Родос А., и др. Кампания по борьбе с сепсисом: Международные рекомендации по лечению сепсиса и септического шока: 2016 // Intensive Care Med. 2017. Vol. 43, № 3. P. 304–377.
- [2] Бюлер С.С., и др. Эффективность методов повышения своевременности проведения целевой терапии у стационарных пациентов с инфекциями кровотока: систематический обзор и метаанализ передовых методов лабораторной медицины // Clin Microbiol Rev. 2016. Vol. 29, № 1. P. 59–103.
- [3] Гото М., Аль-Хасан М.Н. Общая распространенность инфекций кровотока и внутрибольничных инфекций кровотока в Северной Америке и Европе // Clin Microbiol Infect. 2013. Vol. 19, № 6. P. 501–509.
- [4] Тан Ю., и др. Последние достижения в терапии на основе фагов для лечения множественно-резистентного *Acinetobacter baumannii* // Bioengineering (Basel). 2022. Vol. 10, № 1.

- [5] Кадри С.С., и др. Неадекватная эмпирическая антибиотикотерапия при инфекциях кровотока на основе противоречивых результатов определения чувствительности *in vitro*: ретроспективный когортный анализ распространённости, предикторов и риска смертности в больницах США // *Lancet Infect Dis*. 2021. Vol. 21, № 2. P. 241–251.
- [6] Онума Т., и др. Связь адекватной эмпирической антимикробной терапии с внутрибольничной смертностью у пациентов с инфекциями кровотока в США // *JAMA Netw Open*. 2023. Vol. 6, № 1. P. e2249353.
- [7] Ван Хеуверсвин Дж., и др. Связь между временем до начала адекватного антимикробного лечения и 30-дневной смертностью у пациентов с инфекциями кровотока: ретроспективное когортное исследование // *Clin Infect Dis*. 2023. Vol. 76, № 3. P. 469–478.
- [8] Акерлунд А., и др. Экспресс-тестирование чувствительности к антимикробным препаратам EUCAST (RAST) в культурах крови: валидация в 55 европейских лабораториях // *J Antimicrob Chemother*. 2020. Vol. 75, № 11. P. 3230–3238.
- [9] Парантаман К., и др. Тенденции в распространении коагулазонегативных стафилококков (CoNS), Англия, 2010–2021 // *Access Microbiol*. 2023. Vol. 5, № 6.
- [10] Cui J., et al. Распределение видов, антимикробная резистентность и факторы риска неблагоприятного исхода бактериемии, вызванной коагулазонегативными стафилококками, в Китае // *Antimicrob Resist Infect Control*. 2019. Vol. 8. Article 65.
- [11] Almuhayawi M.S., et al. Идентификация микроорганизмов непосредственно из флаконов с культурой крови с полимикробным ростом: сравнение FilmArray и прямой MALDI-TOF MS // *APMIS*. 2021. Vol. 129, № 4. P. 178–185.
- [12] Florio W., et al. Новый метод на основе культивирования для быстрой идентификации микроорганизмов в полимикробных культурах крови с помощью MALDI-TOF MS // *BMC Microbiol*. 2019. Vol. 19, № 1. Article 267.
- [13] Лебретон К., Фурнье Д., Жанно К. Оценка экспресс-теста EUCAST на чувствительность к антимикробным препаратам непосредственно из положительного посева крови на *Pseudomonas aeruginosa* // *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2024. Vol. 43, № 10. P. 2061–2064.
- [14] Беринсон Б., и др. Экспресс-тестирование чувствительности к антимикробным препаратам EUCAST (RAST): аналитические характеристики и влияние на ведение пациентов // *J Antimicrob Chemother*. 2021. Vol. 76, № 5. P. 1332–1338.
- [15] CLSI. Verification of Commercial Systems for Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacteria and Yeasts. M52. 2015. Institute for Clinical and Laboratory Standards (CLSI).
- [16] «Калькулятор доверительного интервала для пропорций» // Stats Kingdom. URL (дата обращения: 05.12.2025).
- [17] Контула К.С.К., и др. Популяционное исследование частоты и смертности от инфекций кровотока, Финляндия, 2004–2018 гг. // *Emerg Infect Dis*. 2021. Vol. 27, № 10. P. 2560–2569.
- [18] Памми М., и др. Полимикробные инфекции кровотока в отделении интенсивной терапии новорождённых связаны с повышенной смертностью: исследование «случай-контроль» // *BMC Infect Dis*. 2014. Vol. 14. Article 390.
- [19] Ройо-Себрекос К., и др. Новый взгляд на полимикробную инфекцию кровотока у онкологических больных // *PLoS One*. 2017. Vol. 12, № 10. Article e0185768.
- [20] Ван Веен С.К., и др. Высокопроизводительная идентификация бактерий и дрожжей методом масс-спектрометрии с матрично-ассистированной лазерной десорбцией ионизацией и время-пролётным анализом в обычных медицинских микробиологических лабораториях // *J Clin Microbiol*. 2010. Vol. 48, № 3. P. 900–907.
- [21] Пранада А.Б., и др. Идентификация микроорганизмов из положительной культуры крови: сравнение трёх различных методов кратковременного культивирования с рабочим процессом Rapid Sepsityper // *J Med Microbiol*. 2022. Vol. 71, № 8.
- [22] Куртони А., и др. Быстрая идентификация микроорганизмов из положительной культуры крови с помощью MALDI-TOF MS после кратковременной инкубации на твердой среде // *Curr Microbiol*. 2017. Vol. 74, № 1. P. 97–102.
- [23] Бхатти М.М., и др. Быстрая идентификация положительных культур крови с помощью масс-спектрометрии с матрично-ассистированной лазерной десорбцией-ионизацией и время-пролётным анализом с использованием предварительно подогретых агаровых пластин // *J Clin Microbiol*. 2014. Vol. 52, № 12. P. 4334–4338.
- [24] Yahiaoui R.Y., et al. Дифференциация между *Streptococcus pneumoniae* и другими стрептококками группы *viridans* с помощью MALDI-TOF MS // *Clin Microbiol Infect*. 2020. Vol. 26, № 8. P. 1088.e1–1088.e5.
- [25] Pariona J.G.M., et al. Быстрая диагностика мультирезистентных возбудителей сепсиса непосредственно из флаконов с культурами крови с использованием MALDI-TOF и EUCAST RAST // *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2024. Vol. 109, № 2. Article 116247.

References:

- [1] Rhodes A., et al. Sepsis Campaign: International Sepsis and Septic Shock Guidelines: 2016// *Intensive Care Med.* 2017. Vol. 43, № 3. P. 304–377.
- [2] Bühler SS, et al. Effectiveness of methods for improving the timeliness of targeted therapy in inpatients with bloodstream infections: a systematic review and meta-analysis of advanced laboratory medicine//*Clin Microbiol Rev.* 2016. Vol. 29, № 1. P. 59–103.
- [3] Goto M, Al-Hassan MN. Overall prevalence of bloodstream infections and nosocomial bloodstream infections in North America and Europe//*Clin Microbiol Infect.* 2013. Vol. 19, № 6. P. 501–509.
- [4] Tan Y., et al. Recent advances in phage-based therapies for the treatment of multi-resistant *Acinetobacter baumannii*//*Bioengineering (Basel).* 2022. Vol. 10, № 1.
- [5] Kadri SS, et al. Inadequate empirical antibiotic therapy for bloodstream infections based on inconsistent in vitro sensitivity results: retrospective cohort analysis of prevalence, predictors, and risk of mortality in US hospitals//*Lancet Infect Dis.* 2021. Vol. 21, № 2. P. 241–251.
- [6] Onuma T, et al. Association of adequate empirical antimicrobial therapy with in-hospital mortality in patients with bloodstream infections in the US//*JAMA Netw Open.* 2023. Vol. 6, № 1. P. e2249353.
- [7] Van Heuwerswine J, et al. Association between time to initiation of adequate antimicrobial treatment and 30-day mortality in patients with bloodstream infections: a retrospective cohort study//*Clin Infect Dis.* 2023. Vol. 76, № 3. P. 469–478.
- [8] Akerlund A., et al. Rapid antimicrobial susceptibility testing EUCAST (RAST) in blood cultures: validation in 55 European laboratories//*J Antimicrob Chemother.* 2020. Vol. 75, № 11. P. 3230–3238.
- [9] Parantaman K, et al. Trends in the distribution of coagulase-negative staphylococci (CoNS), England, 2010–2021//*Access Microbiol.* 2023. Vol. 5, № 6.
- [10] Cui J., et al. Species distribution, antimicrobial resistance and risk factors for adverse outcome of bacteremia caused by coagulase-negative staphylococci in China//*Antimicrob Resist Infect Control.* 2019. Vol. 8. Article 65.
- [11] Almuhayawi M.S., et al. Identification of microorganisms directly from polymicrobial growth blood culture vials: comparison of FilmArray and direct MALDI-TOF MS//*APMIS.* 2021. Vol. 129, № 4. P. 178–185.
- [12] Florio W., et al. A novel culture-based method for the rapid identification of microorganisms in polymicrobial blood cultures by MALDI-TOF MS//*BMC Microbiol.* 2019. Vol. 19, № 1. Article 267.
- [13] Lebreton K, Fournier D, Jeannot K. Evaluation of the EUCAST rapid antimicrobial susceptibility test directly from a positive blood culture on *Pseudomonas aeruginosa*//*Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2024. Vol. 43, № 10. P. 2061–2064.
- [14] Berinson B, et al. Rapid antimicrobial susceptibility testing EUCAST (RAST): analytical characteristics and impact on patient management//*J Antimicrob Chemother.* 2021. Vol. 76, № 5. P. 1332–1338.
- [15] CLSI. Verification of Commercial Systems for Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacteria and Yeasts. M52. 2015. Institute for Clinical and Laboratory Standards (CLSI).
- [16] “Proportion Confidence Interval Calculator “//Stats Kingdom. URL (accessed on: 05.12.2025).
- [17] Contula K.S.K., et al. Population-based study of the incidence and mortality of bloodstream infections, Finland, 2004–2018//*Emerg Infect Dis.* 2021. Vol. 27, № 10. P. 2560–2569.
- [18] Pammi M, et al. Polymicrobial infections of the bloodstream in the intensive care unit of newborns are associated with increased mortality: case-control study//*BMC Infect Dis.* 2014. Vol. 14. Article 390.
- [19] Royo-Cebrecos K, et al. A new look at polymicrobial bloodstream infection in cancer patients//*PLoS One.* 2017. Vol. 12, № 10. Article e0185768.
- [20] Van Veen SC, et al. High-performance identification of bacteria and yeast by mass spectrometry with matrix-assisted laser desorption by ionization and time-of-flight analysis in conventional medical microbiological laboratories//*J Clin Microbiol.* 2010. Vol. 48, № 3. P. 900–907.
- [21] Pranada AB, et al. Identification of microorganisms from a positive blood culture: comparison of three different short-term culture methods with the Rapid Sepsityper workflow//*J Med Microbiol.* 2022. Vol. 71, № 8.
- [22] Kurtoni A, et al. Rapid identification of microorganisms from a positive blood culture by MALDI-TOF MS after short-term incubation on solid medium//*Curr Microbiol.* 2017. Vol. 74, № 1. P. 97–102.
- [23] Bhatti MM, et al. Rapid identification of positive blood cultures using matrix-assisted laser desorption-ionization mass spectrometry and time-of-flight analysis using preheated agar plates//*J Clin Microbiol.* 2014. Vol. 52, № 12. P. 4334–4338.
- [24] Yahiaoui R.Y., et al. Differentiation between *Streptococcus pneumoniae* and other viridans streptococci by MALDI-TOF MS//*Clin Microbiol Infect.* 2020. Vol. 26, № 8. P. 1088.e1–1088.e5.
- [25] Pariona J.G.M., et al. Rapid diagnosis of multi-resistant sepsis pathogens directly from blood culture vials using MALDI-TOF and EUCAST RAST//*Diagn Microbiol Infect Dis.* 2024. Vol. 109, № 2. Article 116247.