

- Cazanave C., Greenwood-Quaintance K.E., Hanssen A.D., Patel R. Corynebacterium prosthetic joint infection. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50 (5): 1518–23.
- Coyle M.B., Lipsky B.A. Coryneform bacteria in infectious diseases: clinical and laboratory aspects. *Clin. Microbiol. Rev.* 1990; 3 (3): 227–46.
- Knox K., Nolmes A. Nosocomial endocarditis caused by Corynebacterium amycolatum and other non diphtheriae corynebacterium. *Emerg. Infect. Dis.* 2002; 8 (1): 97–9.
- Reddy B.S., Chaudhury A., Kalawat U., Jayaprada R., Reddy G., Ramana B.V. Isolation, speciation, and antibiogram of clinically relevant non-diphtherial Corynebacteria (Diphtheroids). *Indian J. Med. Microbiol.* 2012; 30 (1): 52–7.
- Bernard K.A. The genus corynebacterium and other medically relevant coryneform-like bacteria. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50 (10): 3152–8.
- Dorella F.A., Pacheco L.G., Oliveira S.C., Miyoshi A., Azevedo V. Corynebacterium pseudotuberculosis: microbiology, biochemical properties, pathogenesis and molecular studies of virulence. *Vet. Res.* 2006; 37 (2): 201–18.
- Харсеева Г.Г., ред. *Дифтерия: микробиологические и иммунологические аспекты*. М.: Практическая медицина; 2014.
- Venezia J., Cassiday P.K., Marani R.P., Shen Z., Buckley E.M., Peters Y. et al. Characterization of Corynebacterium species in macaques. *J. Med. Microbiol.* 2012; 61 (Pt. 10): 1401–8.
- Alatoom A.A., Cazanave C.J., Cunningham S.A., Inde S.M., Patel R. Identification of non-diphtheriae corynebacterium by use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50(1): 160-3.
- theriae circulated in Rostov-on-Don and Rostov region. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2012; 3: 13–7. (in Russian)
- Cazanave C., Greenwood-Quaintance K.E., Hanssen A.D., Patel R. Corynebacterium prosthetic joint infection. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50 (5): 1518–23.
- Coyle M.B., Lipsky B.A. Coryneform bacteria in infectious diseases: clinical and laboratory aspects. *Clin. Microbiol. Rev.* 1990; 3 (3): 227–46.
- Knox K., Nolmes A. Nosocomial endocarditis caused by Corynebacterium amycolatum and other non diphtheriae corynebacterium. *Emerg. Infect. Dis.* 2002; 8 (1): 97–9.
- Reddy B.S., Chaudhury A., Kalawat U., Jayaprada R., Reddy G., Ramana B.V. Isolation, speciation, and antibiogram of clinically relevant non-diphtherial Corynebacteria (Diphtheroids). *Indian J. Med. Microbiol.* 2012; 30 (1): 52–7.
- Bernard K.A. The genus corynebacterium and other medically relevant coryneform-like bacteria. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50 (10): 3152–8.
- Dorella F.A., Pacheco L.G., Oliveira S.C., Miyoshi A., Azevedo V. Corynebacterium pseudotuberculosis: microbiology, biochemical properties, pathogenesis and molecular studies of virulence. *Vet. Res.* 2006; 37 (2): 201–18.
- Kharseeva G.G., ed. *Diphtheriae: Microbiological and Immunological Aspects [Difteriya: mikrobiologicheskie i immunologicheskie aspekty]*. Moscow: Prakticheskaya meditsina; 2014. (in Russian)
- Venezia J., Cassiday P.K., Marani R.P., Shen Z., Buckley E.M., Peters Y. et al. Characterization of Corynebacterium species in macaques. *J. Med. Microbiol.* 2012; 61 (Pt. 10): 1401–8.
- Alatoom A.A., Cazanave C.J., Cunningham S.A., Inde S.M., Patel R. Identification of non-diphtheriae corynebacterium by use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50(1): 160–3.

Поступила 01.08.15

## REFERENCES

- Kharseeva G.G., Voronina N.A., Gasretova T.D., Mamychева N.I., Golovanova N.A. Persistent properties of Corynebacterium non diph-

Received 01.08.15

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616-008.87-073:543.42.062

Платонова А.Г., Осипов Г.А., Бойко Н.Б., Кириллова Н.В., Родионов Г.Г.

## ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ ЧЕЛОВЕКА И ИХ КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

ООО «МедБазис», 199034, г. Санкт-Петербург; Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, 197376, г. Санкт-Петербург; Академическая группа акад. РАМН Ю.Ф. Исакова (при НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева); Детская городская клиническая больница № 13 им. Н.Ф. Филатова, 123001, г. Москва; ФГБУ Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова, 194044, г. Санкт-Петербург

Метод масс-спектрометрии микробных маркеров (МСММ) известен 20 лет. Он описан в ряде научных публикаций, диссертациях и методической литературе, прошел регистрацию в Росздравнадзоре и разрешен к применению в качестве новой медицинской технологии в медицинских учреждениях на территории Российской Федерации (“Оценка микробиологического статуса человека методом хромато-масс-спектрометрии”, разрешение ФС № 2010/038 от 24.02.10). Метод МСММ только начал формироваться как инструмент клинического рутинного анализа и мониторинга микробиологического статуса, инфекции и дисбиозов в клинической и амбулаторной практике. Описание технологии МСММ в таком аспекте требует иного, чем было сделано ранее, подхода к введению клинических лаборантов и врачей в метод. Подробно дается обоснование видовой специфичности состава жирных кислот и (жирных) альдегидов клеточной стенки микроорганизмов как основы их видовой дифференциации в чистой культуре. Объясняется выбор молекулярных маркеров для их детектирования в крови и другом клиническом материале с целью дальнейшей реконструкции состава микробного сообщества (микробиологии) человека по крови или расчет состава микст-инфекции в органах по материалу из очага воспаления – моче, ликвору, мокроте, экссудату, дренажу и аналогичным пробам, содержащим химическую информацию о микробах.

Ключевые слова: микробиологический статус; метод масс-спектрометрии микробных маркеров; метод газовой хроматографии – масс-спектрометрии; дисбиозы; гидроксикислоты липополисахарида; плазмалоген.

Для цитирования: Клиническая лабораторная диагностика. 2015; 60 (12): 46–55.

Для корреспонденции: Платонова Анна Геннадьевна, aznva@mail.ru

For correspondence: Platonova A.G., aznva@mail.ru

Platonova A.G., Osipov G.A., Boiko N.B., Kirillova N.V., Rodionov G.G.

THE CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY ANALYSIS OF MICROBIAL FATTY ACIDS IN HUMAN BIOLOGICAL FLUIDS AND THEIR CLINICAL SIGNIFICANCE

"MedBasis", 199034 St. Petersburg, Russia; The St. Petersburg state chemical pharmaceutical academy, 197376 St. Petersburg, Russia; The academic group of academician RAS Yu.F. Isakov at the A.N. Bakulev research center of cardio-vascular surgery, Moscow, Russia; The N.F. Filatov children clinical hospital №13, 123001 Moscow, Russia; The A.M. Nikiforov all-Russian center of emergency and radiation medicine, 194044 St. Petersburg, Russia

*The technique of mass-spectrometric microbial markers is known for almost 20 years. The technique is described in a number of research publications, dissertations and methodological literature. It passed the registration in Roszdravnadzor and is permitted for implementation as a new medical technology in medical institutions on the territory of the Russian Federation ("The evaluation of microecological human status using technique of mass-spectrometry" license FS № 2010/038 of 24.02.2010). The technique of mass-spectrometric microbial markers began to be developed as instrument of clinical routine analysis and monitoring of microecological status, infection and disbiosis in clinical and out-patient practice. The description of technology of mass-spectrometric microbial markers in this aspect requires different than before approach to introduction of clinical laboratory assistants and physicians into technique application. The substantiation given concerning species specificity of composition of fatty acids and (fatty) aldehydes of cellular wall of microorganisms as a basis of their species differentiation in pure culture. The choice is explained concerning molecular markers for their detection in blood and other clinical material with the purpose of further reconstruction of composition of human microbial cenosis (microecology) on blood or calculation of composition of mixed infection in organs on samples of inflammation focus - urine, liquor, phlegm, exudate, drainage, and similar samples containing chemical information about microbes.*

**Key words:** *microecological status; technique of mass-spectrometric microbial markers; technique of gas chromatography - mass-spectrometry; disbiosis; hidroxy acids of lipopolypolysaccharides; plasmalogen*

**Citation:** *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika. 2015; 60 (12): 46–55. (in Russ.)*

В основе метода масс-спектрометрии микробных маркеров (МСММ) – высокоточное определение специфических маркерных молекул, входящих в состав клеточных липидов микроорганизмов (МО). Они могут быть обнаружены в крови и другом клиническом материале высокочувствительным и селективным методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии (ГХ-МС) на доминирующем фоне липидных веществ самого материала. Метод позволяет одновременно измерять концентрации более сотни микробных маркеров непосредственно в анализируемом материале: крови, моче, биоптатах и других биологических жидкостях и тканях, а также в небологических пробах, минуя стадии предварительного посева на питательные среды или использование тестовых биохимических материалов. Бактериям свойственно большое разнообразие жирных кислот (ЖК) и жирных альдегидов. В настоящее время их насчитывают более 250. В организме человека их всего около 25. Это определяет возможность родового или видового анализа инфекций МО при инфекциях и дисбиозах на преобладающем фоне биологической жидкости непосредственно в клиническом материале. Специфичность клеточных ЖК МО в сравнении с высшими организмами показана на рис. 1.

Известно, что состав ЖК МО видоспецифичен и используется для их идентификации в чистой культуре [1–3], его информативность и специфичность на уровне вида показана в ряде обзоров и монографий [2, 4, 5–8]. Жирнокислотный состав особенно специфичен, если он дополнен оксикислотами и другими липидными компонентами – альдегидами, углеводородами, стеринами, которые методически, как правило, экстрагируют вместе с алифатическими ЖК в органической фракции. Логично искать маркеры МО в объектах их среды обитания, например, в фекалиях, мазках из зева, слюне, мочре, гнойном отделяемом. Они присутствуют и в крови.

При исследовании методом ГХ-МС фракций ЖК, стеролов и жирных альдегидов в пробах крови пациентов найдено, что основными компонентами (на уровне содержания более 1% от максимального пика в хроматограмме) являются четные кислоты с 12–18 атомами углерода: олеиновая C18:1, пальмитиновая C16:0, линолевая C18:2, стеариновая C18:0, пальмитолеиновая C16:1, а также полиненасыщенные ЖК C20:n, C22:n, холестерин, насыщенные прямоцепочечные альдегиды и 2-гидроксикислоты. Их полные названия приведены в таблице, а расшифровка аббревиатуры – в примечании к ней. Иногда величину 1% превышает содержание длинноцепочечных кислот C20–C26. Нечетные кислоты – пентадекановая C15:0 и гептадекановая (маргариновая) C17:0 составляют около 1% каждая. Перечисленные выше вещества являются липидными компонентами клеток организма человека. Обнаруживаются ЖК, специфичные клеткам микробов, колонизирующих организм человека. Это разветвленные четные ЖК i14, i16 и нечетные i15 и a15, i17 и a17, ненасыщенные ЖК с необычным для млекопитающих положением двойной связи 16:1ω9, 18:1ω7, 17:1. Их происхождение связано с МО, колонизирующими тело человека, в основном кишечник.

Мало изучены возможности метода маркера в детектировании МО непосредственно в биологической жидкости без выделения чистых культур. Известны диагностика кандидомикоза по арабинитолу [9–11], неспецифическая диагностика бактерий по муравовой кислоте в крови [12], попытки обнаружения МО, содержащих β-оксимиристиновую кислоту [13], диагностика видов *Haemophilus* по специфическим оксикислотам [14, 15], дифференциация видов *Campylobacter* [16], контроль менингококка по наличию β-гидроксиллауриновой кислоты в крови [17]. Всего в процессе разработки метода МСММ в разных биологических жидкостях человека обнаружено более 170 веществ микробного происхождения. Часть из них приведена в таблице с отнесением к наиболее часто встречающимся МО.

Наиболее удобны для масс-спектрометрического детектирования гидроксикислоты липополисахарида (ЛПС) грамотрицательных бактерий, так как их спектры имеют сильные линии, отличные от линий масс-спектра других кислот и компонентов фона. Это важно в диагностике инфекционных процессов и при определении концентрации эндотоксина этой группы бактерий.

ЛПС является эндотоксином клеточной стенки грамотрицательных бактерий. Организм человека чувствителен к бактериальным эндотоксинам. Липид А обладает наибольшей токсической активностью. Компоненты ЛПС – гидроксикислоты жирного ряда (от 10 до 20 атомов углерода) являются примером информативности химических маркеров. Они не только позволяют формально дифференцировать микроорганизмы, но и по существу связаны с функциональностью антигена: эндотоксические функции заключены в составе и строении липида А, причем O-связанные остатки ЖК определяют пирогенность, а N-связанные – летальную токсичность [18]. Если удалить ЖК, то ЛПС полностью теряет активность.

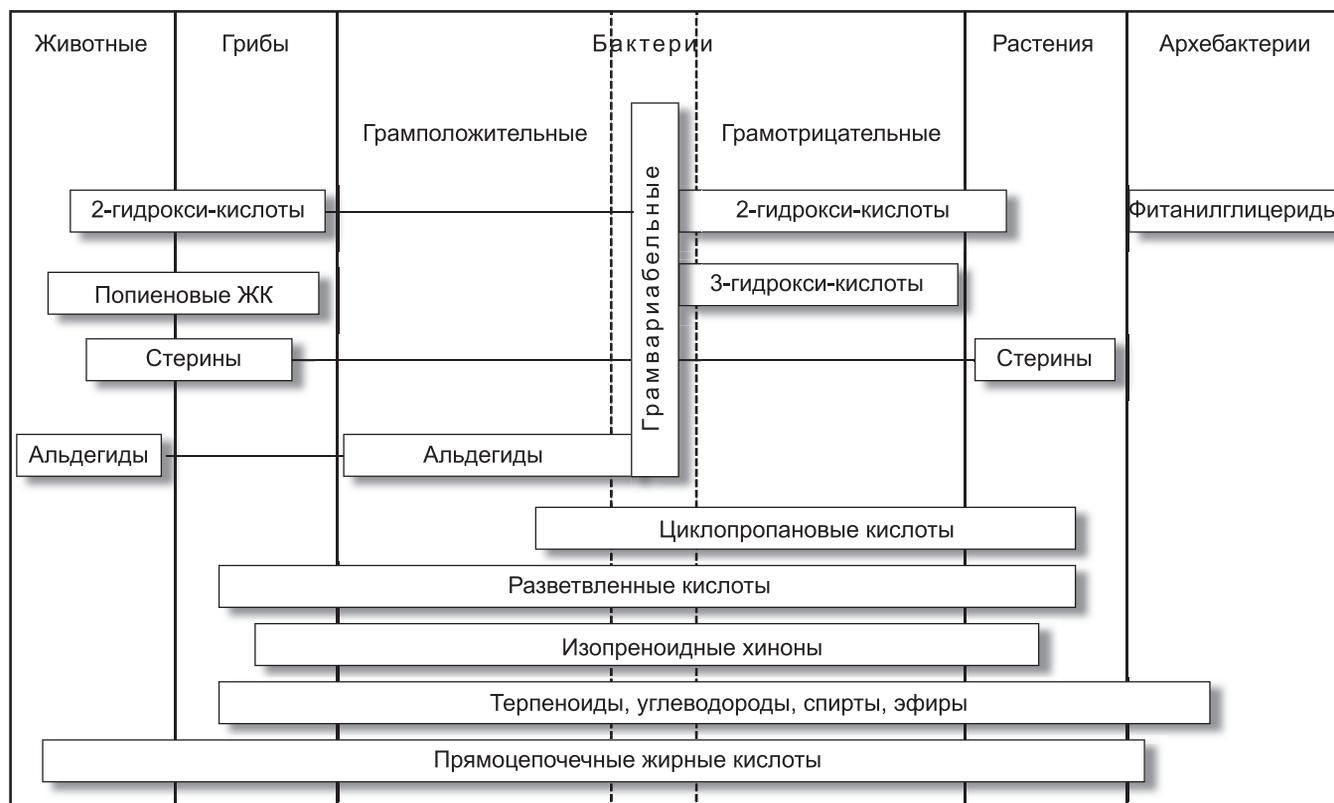


Рис. 1. Многообразие липидных компонентов клеток. Животные, растения и МО разных царств и родов имеют как общие, так и отличительные структурные компоненты липидов.

Первоначально исследователи, использовавшие метод ГХ-МС, наблюдали β-гидроксимиристиновую кислоту (3h14) в режиме масс-фрагментографии – детектирование только одного, самого интенсивного иона в ее спектре. Этот вариант анализа позволяет более чем на порядок увеличить чувствительность прибора. Считалось, что она является маркером *E.coli*. По мере изучения структуры ЛПС других бактерий найдено, что 3h14 присутствует в клетках всех представителей сем. *Enterobacteriaceae*, а также у бактерий многих других таксонов (строка 67 в таблице). Установить, кому именно принадлежит найденная в анализе кислота 3h14, можно при использовании других маркерных веществ. Одновременное наличие в пробе циклопропангептадекановой кислоты (17сус) выделяет представителей сем. *Enterobacteriaceae*. Эта пара найдена в анализе мочи ребенка с пиелонефритом. Параллельный анализ той же пробы мочи культуральным методом выявил *E.coli*. Если вместе с 3h14 присутствует 3-гидроксипальмитиновая (3h16) кислота, то эта пара указывает на инфекцию *Burkholderia cepacea*. Такая комбинация маркеров найдена у пяти пациентов с муковисцидозом ( $n=35$ ), а это очень важно, так как своевременное обнаружение этого микроба позволяет избежать летального исхода, частого при инфекции *B. cepacea*. Метод комбинации маркеров широко использован при разработке алгоритма реконструкции микробного сообщества по маркерам в биологических жидкостях.

Для видов *Bacteroides*, *Flavobacterium*, *Cytophaga* характерны разветвленные гидроксикислоты с 15 и 17 атомами углерода. В одном из первых анализов методом ГХ-МС в 1991 г. в эякуляте больного орхитом на селективной хроматограмме были обнаружены три четких пика гидроксиизо-гептадекановой кислоты (3h17), ее антеизо-варианта (3ha17) и прямоцепочечного аналога 3h17, относящихся к *B. fragilis*. Лечение метронидазолом сняло симптомы заболевания, а по-

вторной ГХ-МС-анализ показал отсутствие маркеров возбудителя в эякуляте.

Редким маркером является 3-гидроксиизотридекановая кислота (3hi13), которая содержится в ЛПС *Stenotrophomonas maltophilia*. Методом ГХ-МС он найден в одном из 35 анализов мокроты при муковисцидозе, а в крови из сотен анализов маркер 3hi13 обнаружен лишь у пациента с редкой болезнью Рейно.

Наряду с 3-оксикислотами у некоторых организмов встречаются и 2-гидроксикислоты, которые содержатся в сфинголипидах. Это собственно сфингобактерии (*Sphingobacterium*), а также различные псевдомонады, виды *Acinetobacter*, *Burkholderia*, *Alcaligenes* и другие (см. таблицу). Имеются единичные случаи необычных оксикислот – это изо-2,3-дигидроксистеариновая кислота у видов *Legionella* [19]. Длинноцепочечные оксикислоты 3h20, 3h22 и 3hi20 характерны для *Chlamidia trachomatis* [20]. Они обнаруживаются в генитальных пробах или глазном отделяемом. Серия высших оксикислот 3h20-3h25 найдена в липопептиде *Nocardia rubra* [21]. Разнообразие оксикислот грамотрицательных микроорганизмов позволило построить их систематику [22].

В цитоплазматических мембранах некоторых МО гидроксилы глицерина этерифицированы наряду с остатками жирных кислот (ацилрадикалами), еще и алк-1-енил-радикалами жирных альдегидов. Такие глицерофосфолипиды называются плазмалогенами. Они присущи в основном клеткам высших организмов, обнаруживаются в форменных элементах крови, сперме, миелине, клетках сердца, мозга и нервной ткани.

Специфические жирные альдегиды дают большую группу маркерных веществ, существенно повышающих специфичность хемодифференциации МО. Их удобство в практическом использовании связано также с тем, что они извлекаются из липидов в процессе получения метиловых эфиров

ЖК при кислотном метанолизе. Альдегиды при этом трансформируются в диметилацетали (ДМА).

По разнообразию изомерных и ненасыщенных вариантов альдегиды повторяют номенклатуру ЖК. В разных организмах встречаются простые линейные, разветвленные и мононенасыщенные альдегиды с длиной цепи 14–18 атомов углерода. Не обнаружены только гидроксильные альдегиды. Альдегиды присущи только грамположительным бактериям.

Плазмалоген играет протективную роль в окислении полиненасыщенных ЖК, управлении выброса холестерина из клеток. Его продукция существенно снижена у больных с синдромом Зельвегера, болезнью Рефсума и другими неврологическими заболеваниями. Деменция и общее старение организма сопровождается снижением уровня плазмалогена. В плазмалогене человека одна из ЖК в глицериде замещена на альдегид С16 или С18. В крови из жирных альдегидов наибольшую концентрацию, около 60 мкг/мл, имеют пальмитиновый и стеариновый. У МО кишечника человека и рубца жвачных животных более широкое разнообразие альдегидов, включающее ненасыщенные и разветвленные формы молекул. В пробах крови в концентрации до 10 мкг/мл обнаруживается 9-октадеценный альдегид (18:1Δ9a), содержащийся в клетках эубактерий и бифидобактерий. Следующими по величине альдегидами оказываются 11-октадеценный (18:1Δ11a) (род *Eubacterium* и род *Clostridium coccooides*) и изогептадекановый (i17a) (*Propionibacterium* и *C. subterminale*). *Eubacterium* – родственные кластридиям МО, являющиеся одними из основных обитателей кишечника; условные патогены с развитой системой видов и штаммов с универсальными свойствами. Эубактерии участвуют в качестве основных агентов во многих воспалительных процессах и синдромах: воспаления неизвестной этиологии, себорея, атопический дерматит, кахексия, воспаление кишечника, глютенная энтеропатия, воспаление десен, средиземноморская семейная лихорадка, Yang Xiao-xia's «mysterious disease», синдром раздраженного кишечника, воспаление легких, бактериемия, хронический синусит, болезнь Крона, периодонтит, артрит, простатит, муковисцидоз, эндометрит, эндокардит, неспецифический вагинит, врожденный порок сердца и др. Основными функциями эубактерий в организме человека являются образование водорода, высвобождение гистамина, биотрансформация желчных кислот, индуцирование продукции провоспалительных цитокинов и TNFα, а также противовоспалительного цитокина IL-10 (как ЛПС или экзотоксины грамположительных патогенов).

Бактериальное происхождение в крови имеют многочисленные простые разветвленные и ненасыщенные ЖК, из которых выделяется 11-октадеценная кислота. Несмотря на то что она содержится в клетках неопределенно большого числа видов МО, в организме человека ее основным продуцентом являются лактобациллы кишечника. В анализах крови на дисбактериоз пациентов с рассеянным склерозом выявлен драматический дефицит маркера лактобацилл (до 100 раз по сравнению с нормой) при одновременном избыточном росте маркера бифидобактерий. В 10 из 20 случаев в наших наблюдениях за критическими больными в ОРИТ преимущественный количественный прирост обнаруживают лактобациллы. По данным литературы, они зафиксированы как возбудители при эндокардите, бактериемии, бактериурии, перитонитах, абсцессах и менингитах. Наиболее часто выявляются *L. casei* и *L. rhamnosus* [22]. *Lactobacillus* spp. изолированы также из нарывов, при пневмонии, бактериемии и конъюнктивитах. Факторами патогенности лактобацилл считают продуцируемые ими гликозидазы и протеазы.

Мононенасыщенные ЖК специфичны для кластридий. Наиболее важной для клинической диагностики оказалась 7-гексадеценная кислота (16:1 ω9), найденная в клетках, по крайней мере 10 видов кластридий: *Clostridium ramosum*, *C. sordellii*, *C. septicum*, *C. subterminale*, *C. fallax*, *C. difficile*, *C. paraputrificum*, *C. celatum*, *C. cochlearum*, *C. limosum*. Это вещество отсутствует в ключевых клетках человека. Экспе-

Микроорганизм	Клеток/мл · 10 <sup>5</sup>	
	проба	норма
<i>Clostridium hystolyticum</i>	3 023	95
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 194	0	
<i>Clostridium propionicum</i>	1 204	288
<i>Selenomonas</i>	113	0
<i>Pseudonocardia</i>	3 340	70
<i>Clostridium ramosum</i>	61 232	2000
<i>Fusobacterium/Haemophilus</i>	45	0
<i>Alcaligenes</i>	118	48
<i>Rhodococcus</i>	3 909	423
<i>Helicobacter pylori</i>	117	14
<i>Clostridium perfringens</i>	70	12
<i>Nocardia asteroides</i>	1 089	274
<i>Actinomycetes</i>	2 727	309

риментальным подтверждением тому является исследование ЖК-состава фосфолипидов эритроцитов [23], в котором фосфолипиды были предварительно препаративно выделены, а затем исследован их жирно-кислотный состав. Чистые фракции фосфолипидов эритроцитов содержат только прямоцепочечные четные насыщенные и ненасыщенные ЖК вплоть до уровня 0,01%. Этот вывод можно распространить и на другие форменные элементы крови, поскольку они происходят из одного источника синтеза – ствловых клеток. 7-Гексадеценная кислота отсутствует также в химическом фоне аналитической процедуры, но встречается у бактерий рода *Streptococcus* и метилотрофных бактерий сем. *Methylo-monadaceae*. У последних в профиле липидных компонентов отсутствуют альдегиды, характерные для кластридий, что позволяет в целом в алгоритме анализа избежать перекрестных определений.

В анализах клинического материала маркер 16:1 ω-9 бывает доминантным в биологических жидкостях, бедных клеточным материалом организма-хозяина. Это моча и ликвор. На рис. 2 показан результат реконструкции состава МО по микробным маркерам в моче ребенка 11 лет, больного пиелонефритом. Здесь этот маркер, приписываемый группе *C. ramosum*, имеет 30-кратное превышение нормы и на порядок выше маркеров других участников инфекционного процесса – кластридий других видов и актинобактерий родов *Rhodococcus*, *Pseudonocardia* и др. В этом случае можно ожидать совпадения распределения концентраций ЖК предполагаемого МО с профилем чистой лабораторной культуры.

Действительно, сопоставление распределения ключевых ЖК кластридий *C. ramosum* с их соотношением в моче ребенка показывает совпадение профилей с коэффициентом корреляции 0,645 по алгоритму идентификации МО по составу ЖК (Microbial Identification System, MIDI Inc., Delaware), что означает совпадение на видовом уровне (рис. 3).

Редким для микробов веществом является додекановая кислота, которая в группе кластридий *Clostridium perfringens*, *C. putrefaciens*, *C. hystolyticum*, *C. tetani* составляет до 17% от суммы всех ЖК клеточной стенки. Она обнаружена в крови пациента с аутизмом, что соответствует предполагаемой связи этого заболевания с инфекцией *C. tetani* [24], *Clostridium boltae* и другими кишечными микробами [25].

В отличие от клеток человека половина царства прокариот синтезирует разветвленные ЖК [26], причем подавляющее большинство из них имеют в составе мембраны только нечетные разветвленные кислоты. Это стафилококки, виды *Butyrivibrio*, *Bacillus*, *Prevotella*, *Propionibacterium*, *Corinebacterium*, *Bacteroides*, *Nocardia* и др. Четные разветвленные кислоты из МО клинического значения синтезируют представители

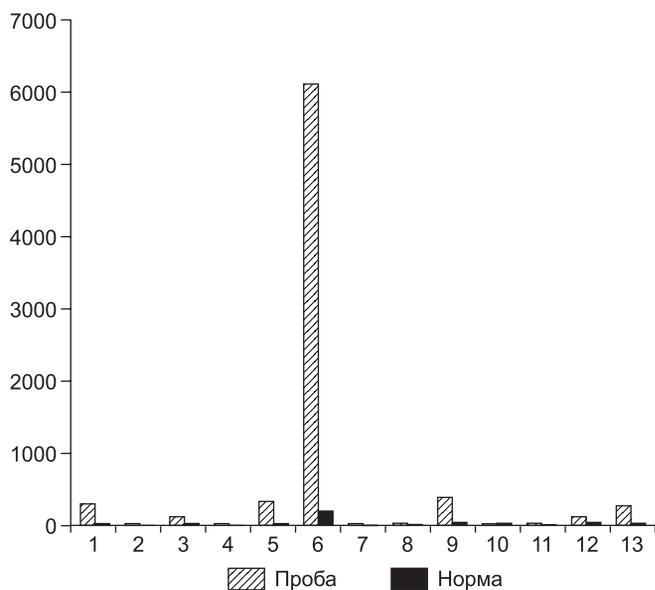


Рис. 2. Реконструкции состава МО по микробным маркерам в моче ребенка 11 лет, больного пиелонефритом.

небольшого числа родов, в том числе стафилококки, виды *Streptomyces*, *Bacteroides*, *Corinebacterium*. Наряду с ними в программу скрининга включены маркеры группы актинобактерий – 10-метилразветвленные кислоты с числом атомов углерода от 14 до 18, в том числе туберкулостеариновая кислота – маркер микобактерий туберкулеза, изопальмитиновая кислота (*Streptomyces*), 9-трансгексадеценная (*Nocardia asteroides*) и др. При их мониторинге в клиническом материале (кровь, моча, ликвор, слюна, мокрота, вагинальное содержимое, эякулят, биоптаты кишечника, ткань клапана сердца, атеросклеротические бляшки) обнаружили присутствие этих маркеров в норме, повышение их концентрации при патологии, ответ на адекватную антибиотикотерапию, что еще раз подтверждает колонизацию организма человека актиномицетами и их участие в микстинфекции. Актиномицеты относятся к трудно культивируемым микроорганизмам и поэтому редко фигурируют в качестве агентов инфекции или воспаления. Они являются участниками многих воспалительных процессов в организме человека. Российскими учеными-медиками [27–29] был опубликован ряд научных работ по актиномикозу желудочно-кишечного тракта, ротовой полости, респираторных органов, женских половых органов и пр. С актиномицетами связаны такие серьезные заболевания, как туберкулез, нокардиозы и актиномикозы. Более поздние результаты обобщения отделения микозов Центра по контролю заболеваний в Атланте (США) подтверждают участие актиномицетов родов *Streptomyces*, *Nocardia*, *Actinomadura*, *Rhodococcus*, *Nocardiosis*, *Pseudonocardia* и других при респираторных заболеваниях, эндокардите, уретрите, а также при раневых и травматических инфекциях [30, 31]. Аналогично примеру с *S. ramosum* нами показано совпадение профиля ЖК отделяемого перикарда у пациента с перикардитом с профилем чистой культуры актинобактерии *Streptomyces albus*. По данным Центра по контролю заболеваний США, около 10% проб изолятов актиномицетов, поступающих в центр, идентифицируют как *Streptomyces*. Известны также случаи респираторных заболеваний, связанные с представителями этого рода, а также случаи выявления *Streptomyces* в качестве инфекционного агента при эндокардите. По данным Центра, стрептомицеты чувствительны только к амикацину [30]. Только после назначения амикацина пациент с доминирующей инфекцией *S. albus* выведен из септического состояния.

В состав липидов многих бактерий входят уникальные ЖК – циклопропановые, образующиеся из моно-

ненасыщенных ЖК. Циклопропановые ЖК имеют циклоконфигурацию. Для видов *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Brucella*, *Helicobacter* и других характерна цис-11,12-метиленоктадекановая (лактобациллозная) кислота, происходящая из цис-вакценовой кислоты и цис-9,10-метиленгексадекановая кислота у представителей сем. *Enterobacteriaceae* (маркер семейства).

Специфическим признаком грибов *Candida* в липидной фракции биологических жидкостей человека является гептадеценная кислота 17:1 [32]. Она обнаружена нами в чистых культурах *C.albicans* и других видов рода, а также у пациентов с вагинальным кандидозом [33].

Грибы плесневые, дерматофиты и другие можно детектировать по их стеринам, прежде всего эргостеролу, который считается грибным стеринном, в отличие от холестерина, стерина животных и ситостерола – стерина растений. Ситостерол могут продуцировать и грибы. Они синтезируют также кампестерол. Эти вещества включены в программу МСММ. Кроме того, включены длинноцепочечные 2-гидроксикислоты с числом атомов углерода 22–26, которые обнаружены нами в чистых культурах грибов, патогенных для человека, а также в клиническом материале.

У детей с инфекционным мононуклеозом в отличие от других респираторных патологий обнаружено в динамике 10-кратное увеличение концентрации гидроксиэргостерола – производного холестерина, что нами логично ассоциировано с метаболическим действием вируса Эпштейна–Барр, известного микробного агента этого заболевания. Появление этого метаболита в крови пациентов связано также с синдромом хронической усталости, предполагается, что одной из причин его является вирусная инфекция [34].

На основании этих анализов методом МСММ расшифрован состав микробиоты пристеночного мукозного слоя отделов кишечника, а также фекалий [35, 36]. Данные о фекалиях оказались в полном количественном соответствии с приводимыми в литературе, что послужило основанием для подтверждения достоверности данных, получаемых методом МСММ. Одновременное исследование биоптатов кишечника и крови пациентов, а также доноров показало соответствие состава минорных ЖК, альдегидов и стеролов в тонкой кишке и крови. Показана количественная адекватность изменений их концентраций в этих органах при дисбактериозе, ассоциированном с синдромом раздраженной тонкой кишки с преобладанием поносов, болезнью Крона и псориазом [35]. Это означает возможность неинвазивной оценки изменений микрофлоры кишечника по данным анализа крови методом ГХ-МС микробных маркеров.

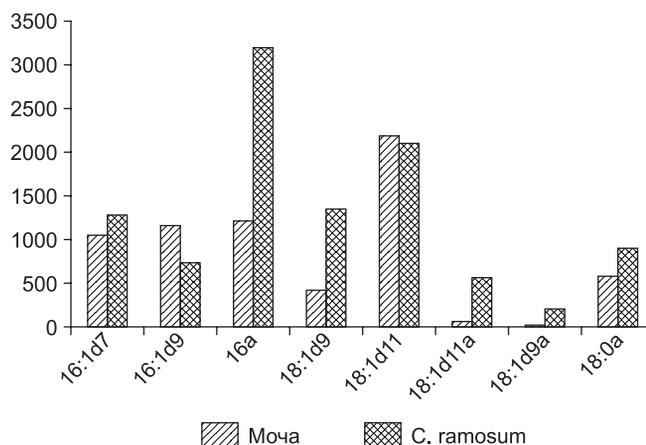


Рис. 3. Сопоставление распределения ключевых маркеров клостридий *C. ramosum* с их соотношением в моче ребенка. Приведена общепринятая аббревиатура ЖК и альдегидов (см. таблицу). Последние отмечены буквой а в конце символа.

**Высшие ЖК, альдегиды и стерины в составе клеточной стенки с отнесением к микроорганизмам, у которых они наиболее часто встречаются**

№ п/п	Обозначение	Название	Микроорганизмы
			Жирные кислоты
1	C10	Декановая	<i>Streptococcus</i>
2	i11	Изоундекановая	p. <i>Xanthomonas</i> ,
3	C12:0	Лауриновая	p. <i>Arcobacter</i> ,
4	iC12	Изолауриновая	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
5	iC13	Изотридекановая	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Bacillus subtilis</i> ,
6	a13	Антеизотридекановая	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Brevibacterium</i>
7	13:0	Тридекановая	p. <i>Selenomonas</i>
8	i14	Изомиристиновая	pp. <i>Streptomyces</i> , <i>Bacillus</i> , актинобактерии,
9	14:1Δ9	9,10-Тетрадеценная	<i>Clostridium</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>
10	14:1Δ11	11,12-Тетрадеценная	<i>Simonsiella</i> , <i>Kingella kingae</i> , <i>Nocardia</i>
11	14:0	Миристиновая	pp. <i>Lactobacillus</i> , <i>Helicobacter</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Clostridium</i>
12	2Me14	2-Метилтетрадекановая	<i>Mycobacterium gordonae</i>
13	i15:1	Изопентадеценная	<i>Flavobacterium</i>
14	15:1Δ9	9,10-Пентадеценная	<i>Cl. propionicum</i> , <i>Bacteroides hypermegas</i>
15	i15	Изопентадекановая	<i>Propionibacterium</i> , <i>Bacteroides</i>
16	a15	Антеизопентадекановая	<i>Staphylococcus</i> , <i>Bacillus</i> , коринеформные бактерии
17	15:0	Пентадекановая	Большинство видов МО, минорный компонент, pp. <i>Cytophaga</i> , <i>Selenomonas</i> , <i>Cl. sporogenes</i> , <i>Bacteroides succinogenes</i> , <i>Bact. ruminicola</i> , <i>Ps. stutzeri</i>
18	i16:1	Изогексадеценная	p. <i>Desulfovibrio</i>
19	16:1Δ7	7,8-Гексадеценная	<i>Clostridium ramosum</i>
20	16:1Δ9	9,10-Гексадеценная	Большинство видов МО
21	16:1Δ11	11,12-Гексадеценная	<i>Ruminococcus</i>
22	i16:0	Изопальмитиновая	<i>Streptomyces</i> , <i>Nocardiopsis</i> ,
25	10Me16	10-Метилгексадекановая	<i>Rhodococcus</i>
26	16:0	Пальмитиновая	Большинство видов МО
27	i17:1	Изопентадеценная	<i>Campylobacter mucosales</i>
28	17:1	Гептадеценная	<i>Mycobacterium</i> , <i>Candida albicans</i>
29	i17:0	Изогептадекановая	<i>Bacillus</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Prevotella</i>
30	a17:0	Антеизогептадекановая	<i>Corynebacterium</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Nocardiopsis</i> , <i>Nocardia</i>
31	17сус	Циклогептадекановая	Сем. <i>Enterobacteriaceae</i>
32	17:0	Гептадекановая	Большинство видов МО, минорный компонент
33	18:4	Октадекатетраенная	Некоторые грибы и дрожжи
34	18:3	Ланоленовая	Грибы и дрожжи
35	18:2	Линолевая	Грибы, дрожжи, простейшие
36	18:1Δ9	Олеиновая	Все организмы
37	i18:1 Н		<i>Enterococcus faecalis</i>
38	18:1Δ11	Цис-вакценная	<i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Cardiobacterium hominis</i>
39	18:0	Стеариновая	Многие МО
40	i18	Изооктадекановая	pp. <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Nocardiopsis</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Clostridium difficile</i>
41	10Me18	10-Метилоктадекановая (туберку- лостеариновая)	pp. <i>Mycobacterium</i> , <i>Nocardia</i> ; <i>Corynebacterium bovis</i> , С. гр. <i>xerosis</i> , <i>C. urealyticum</i> ,
42	11Me18:1	11-Метилоктадеценная	<i>Afpia</i> , <i>Helicobacter mustelae</i>
43	19сус	Циклононадекановая	pp. <i>Lactobacillus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Brucella</i> , <i>Campylobacter</i> , сем. <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Helicobacter pylori</i>
44	i19	Изононадекановая	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacteroides hypermegas</i>
45	a19	Антеизононадекановая	pp. <i>Staphylococcus</i>
46	19:0	Нонадекановая	pp. <i>Nitrobacter</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Serratia</i> ; <i>Burkholderia cepacia</i>
47	i19:1	Изононадеценная	<i>Afpia</i>
48	20:1	Эйкозеновая	<i>Propionibacterium jensenii</i> , <i>Actinomyces</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>St.</i> <i>salivarius</i> , <i>St. mutans</i>
49	20:0	Эйкозановая	<i>Actinomyces</i> sp
50	20:1Δ11	11-Эйкозеновая	<i>Streptococcus mutans</i>
51	21:0	Бегеновая	p. <i>Francisella</i>

Продолжение на стр. 52

Продолжение таблицы

52	22:6	Докозагексенная	Грибы, эукариоты
53	22:0	Докозановая	р. <i>Francisella</i>
54	C22:4	Арахидоновая кислота	Простейшие и высшие организмы
55	24:0	Тетракозановая	р. <i>Francisella</i> , <i>Mycobacterium</i> , микроэукариоты
56	25:0	Пентакозановая	Микроэукариоты
57	26:0	Гексакозановая	р. <i>Mycobacterium</i> , микроэукариоты
Гидроксикислоты			
58	3h10	3-Гидроксидекановая	<i>Bordetella pertussis</i> , <i>B.parapertussis</i> , <i>Pseudomonas syringae</i> , <i>P. alcaligenes</i> , <i>P. stutzeri</i> , <i>P. mendocina</i> , <i>Comamonas</i>
59	2h10	2-Гидроксидекановая	р. <i>Pseudomonas</i>
60	3hi11	3-Гидроксиизоундекановая	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ,
61	2hi11	2-Гидроксиизоундекановая	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ,
62	3h12:1	Гидроксидодеценная	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
63	3h12	3-Гидроксилауриновая	р. <i>Acinetobacter</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Vibrio</i> ; <i>Neisseria</i> , <i>N. gonorrhoeae</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Arcobacter</i> , <i>Eikenella</i> , <i>Suttonella</i> , <i>Kingella</i>
64	2h12	2-Гидроксилауриновая	<i>Pseudomonas putida</i> , <i>P.aeruginosa</i> , pp. <i>Acinetobacter</i> , <i>Alcaligenes</i> , <i>Bordetella</i>
65	3hi13	3-Гидроксиизотридекановая	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ,
66	3h13	3-Гидрокситридекановая	р. <i>Selenomonas</i> ; <i>Bacteroides hypermegas</i> ,
67	3h14	3-Гидроксимиристиновая	<i>Alcaligenes</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Wolinella</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Neisseria</i> , сем. <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Burkholderia</i>
68	2h14	2-Гидроксимиристиновая	<i>Alcaligenes</i> , <i>Salmonella</i>
69	2,3hi14	2,3-Дигидроксиизотетрадекановая	р. <i>Legionella</i>
70	3h15	3-Гидроксипентадекановая	<i>Bacteroides ruminicola</i>
71	3hi15	3-Гидроксиизопентадекановая	pp. <i>Flavobacterium</i> , <i>Bacteroides melaninogenicus</i> , <i>Prevotella</i>
72	2hi15	2-Гидроксиизопентадекановая	pp. <i>Flavobacterium</i>
73	3ha15	3-Гидроксиантеизопентадекановая	<i>Bacteroides ruminicola</i>
74	3h16	3-Гидроксипальмитиновая	pp. <i>Erwinia</i> , <i>Brucella</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Wolinella</i> , <i>Cytophaga</i> , <i>Flexibacter</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Bordetella</i> ; <i>Burkholderia</i> , <i>P. pseudomallei</i> , <i>Campylobacter fetus</i> , <i>C. sputorum</i> , <i>C. fecalis</i>
75	2h16	2-Гидроксипальмитиновая	р. <i>Flexibacter</i> ; <i>Alcaligenes</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>P. pickettii</i> (2h16:1), клетки эпителия, спермий и другие эукариотические клетки
76	3hi16	3-Гидроксиизопальмитиновая	<i>Riemerella</i>
77	3hi17	Гидроксиизогептадекановая	pp. <i>Bacteroides</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Cytophaga</i> , <i>Riemerella</i>
78	2hi17	2-Гидроксиизогептадекановая	<i>Bacteroides</i>
79	3h17	3-Гидроксигептадекановая	<i>Bacteroides ruminicola</i> , <i>B. thetaiotaomicron</i>
80	3ha17	3-Гидроксиантеизогептадекановая	<i>Bacteroides ruminicola</i>
81	10h18:1	10-Гидроксиоктадеценная	<i>Clostridium perfringens</i>
82	3h18	3-Гидроксистеариновая	pp. <i>Francisella</i> ( <i>F. philomiragia</i> ), <i>Brucella</i> , <i>Achromobacter</i> , <i>Helicobacter pylori</i>
83	2h18	2-Гидроксистеариновая	Простейшие
84	10h18	10-Гидроксистеариновая	<i>Clostridium perfringens</i>
85	9,10 эпоху18	9,10-Эпоксиоктадекановая	<i>Pneumocistis carinii</i>
86	3h20	3-Гидроксиэйкозановая	<i>Chlamydia trachomatis</i>
87	3hi20	3-Гидроксиизэйкозановая	<i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Legionella</i>
88	3h22	3-Гидроксидокозановая	<i>Chlamydia trachomatis</i>
Спирты			
89	16alc	n-Пальмитиновый	р. <i>Moraxella</i>
90	18alc, 2-ОН	Стеариновый, 2-ОН	р. <i>Mycobacterium MAIS</i> , n18 – <i>Moraxella</i>
91	20alc	n-Эйкозиловый	<i>Mycobacteria</i>
92	2h20alc	2-Оксиэйкозиловый	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
93	2h22alc	2-Оксидокозиловый	<i>Mycobacterium xenopii</i>
94	2h24alc	2-Окситетракозиловый	<i>Mycobacteria</i>
95	2h26alc	2-Оксигексакозиловый	<i>Mycobacteria</i>
Альдегиды			
96	12a	Лауриновый	р. <i>Butyrivibrio</i>
97	13a	Тридекановый	р. <i>Butyrivibrio</i> , <i>Selenomonas</i>

Продолжение на стр. 53

Продолжение таблицы

98	i14a	Изомиристиновый	pp. <i>Bifidobacterium</i> , <i>Butyrivibrio</i>
99	14:1Δ9a	9,11-Тетрадеценый	p. <i>Butyrivibrio</i> , <i>Clostridium fimetarium</i>
100	14:1Δ11a	11,12-Тетрадеценый	p. <i>Butyrivibrio</i> , <i>Clostridium fimetarium</i>
101	14a	Тетрадекановый	pp. <i>Butyrivibrio</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Spirochaeta</i> ,
102	i15a	Изопентадекановый	pp. <i>Butyrivibrio</i> , <i>Lactobacillus</i> (rumen), <i>Propionibacterium</i>
103	a15a	Антеизопентадекановый	p. <i>Butyrivibrio</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Frigoribacterium</i> , <i>Propionibacterium freudenreichii</i>
104	15:1a	Пентадеценый	p. <i>Butyrivibrio</i>
105	15a	Пентадекановый	p. <i>Butyrivibrio</i>
106	16:1Δ9a	9,10-Гексадеценая	p. <i>Butyrivibrio</i> , <i>Selenomonas</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Mobiluncus</i> , <i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
107	16:1Δ11a	11,12- Гексадеценый	<i>Clostridium fimetarium</i>
108	16a	Пальмитиновый	<i>C. fallax</i> , pp. <i>Lachnospira</i> , <i>Butyrivibrio</i> , <i>Lactobacillus</i>
109	i17a	Изогептадекановый	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
110	a17a	Антеизогептадекановый	<i>Eubacterium</i> , <i>Propionibacterium freudenreichii</i>
111	17суса	Циклогептадекановый	<i>Clostridium</i>
112	17a	Гептадекановый	<i>Lactobacillus</i> (rumen)
113	i18a	Изостеариновый	pp. <i>Eubacterium</i> , <i>Lachnospira</i> , <i>Butyrivibrio</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Selenomonas</i> , <i>Mobiluncus</i> , <i>Clostridium butyricum</i>
114	18:1a	Октадеценый	<i>Eubacterium</i> , <i>Clostridium</i>
115	18a	Стеариновый	<i>Clostridium thermocellum</i>
116	a16a	Антеизопальмитиновый	<i>Clostridium acetobutylicum</i> , <i>Cl. butyricum</i>
117	19суса	Циклонадекановый	p. <i>Lactobacillus</i>
118	19a	Нонадекановый	<i>Clostridium turobutyricum</i>
119	17:1a	Гептадеценый	
Стерины			
120	Холестанол	Копростанол	<i>Eubacterium</i>
121		Холестендиол	простой герпес
122		Холестадиенон	цитомегаловирус
123		Пневмоцистерол	<i>Pneumocystis carini</i> , <i>P. hominis</i>
124		Кампестерол	микроскопические грибы
125		Эргостерол	<i>Aspergillus Mucor</i> и другие, содержащие эргостерол
126	Ситостерол	β-Ситостерол	Микроскопические грибы, растения
127		Холестерин	Простейшие и высшие организмы
128		Эргостенил-оксид	Эпштейна–Барр вирус

Примечание. Обозначения веществ: 17:1 – 17 – число атомов углерода, цифра после двоеточия – число двойных связей; h – оксикислота; a, i – в начале означает разветвление; сус – циклопропановая кислота. Например, ha17-3-оксиантеизогептадекановая кислота.

Выбор антибиотиков при лечении по данным масс-спектрометрии микробных маркеров имеет свои особенности. Опыт предыдущих и настоящих исследований показывает, что отнесение дисбиоза на счет антибиотикотерапии следует рассматривать во вторую очередь, отдавая предпочтение другим стрессовым факторам. Самым красноречивым подтверждением этого является опыт по воздействию экстремальных доз ампициллина на микробиоту крыс. Она (микробиота) оказалась устойчивой к этому препарату [37], так же, как устойчива биопленка к действию антибиотиков *in vitro* [38]. Молекулярный метод диагностики инфекции и дисбиозов не требует выделения микробов в чистой культуре – это его преимущество [39]. Оно имеет свою отрицательную сторону. Нельзя определить привычную для врача чувствительность к антибиотикам штаммов МО, выделенных от данного больного. Но ведь метод определяет по большей части некультивируемые МО, значит это естественный недостаток. Его преимущество – обнаружение в количественном измерении реально действующих МО инфекционного процесса – стоит большего. После первого назначения антибиотикотерапии этот недостаток снова обращается в преимущество, когда при повторном анализе методом МСММ выявляют реальное, *in vivo*, действие первичной терапии по убыванию маркеров агентов инфекции,

а также выявляют толерантную составляющую микстинфекции и обнаруживают микробные агенты конкурентной (оппортунистической) микробиоты.

*Благодарность.* Авторы выражают глубокую признательность руководителю Отдела лабораторной диагностики НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, доктору медицинских наук Годкову Михаилу Андреевичу за прочтение статьи и ценные замечания, которые с благодарностью приняты в ее окончательной редакции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Митрука Б.М. *Применение газовой хроматографии в микробиологии и медицине.* М.: Медицина; 1978.
2. Goodfellow M., Minnikin D., eds. *Chemical Methods in Bacterial Systematics.* London: Academic Press; 1985.
3. О’Лири В. Липиды микроорганизмов. В кн.: О’Лири В. *Молекулярная микробиология.* М.: Мир; 1977: 201–39.
4. Larsson L. Determination of microbial chemical markers by gas chromatography-mass-spectrometry potential for diagnosis and studies on metabolism *in situ*. *APMIS.* 1994; 102(3): 161–9.
5. Brondz J., Olsen J. Microbial chemotaxonomy. Chromatography, electrophoresis and relevant profiling techniques. *J. Chromatogr.* 1986; 379: 367–411.
6. Moss C.W., Dees S.R. Identification of microorganisms by gas chro-

- matographic - mass spectrometric analysis of cellular fatty acids. *J. Chromatogr.* 1975; 112: 594-604.
7. Васоренко З.П., Фролов А.Ф., Смирнов В.В., Рубан Н.М. *Жирнокислотные профили бактерий, патогенных для человека и животных*. Киев: Наукова думка; 1992.
  8. Поздоровкина В.В., Белобородова Н.В., Курчавов В.А., Бойко Н.Б., Рогатина Е.Л., Демина А.М. Газохроматографическая диагностика кандидоза и мониторинг эффективности противогрибковой терапии по уровню арабинитола и маннозы у детей. *Антибиотики и химиотерапия*. 1998; 16(5): 23-5.
  9. Larsson L., Pehrson C., Wiebe T., Christensson B. Chromatographic determination of D-arabinitol/L-arabinitol ratios in urine: a potential method for diagnosis of disseminated candidiasis. *J. Clin. Microbiol.* 1994; 32(8): 1855-9.
  10. Lehtonen L., Anttila V.J., Ruutu T., Salonen J., Nikoskelainen J., Eerola E. et al. Diagnosis of disseminated candidiasis by measurement of urine D-arabinitol/L-arabinitol ratio. *J. Clin. Microbiol.* 1996; 34(9): 2175-9.
  11. Lehtonen L., Eerola E., Oksman P., Toivanen P. Muramic acid in peripheral blood leukocytes of healthy human subjects. *J. Infect. Dis.* 1995; 171(4): 1060-4.
  12. Maitza S.K., Schotz M.C., Yoshikawa T.T., Guze L.B. Defermination of lipid A and endotoxin in serum by mass-spectroscopy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1978; 75(8): 3993-7.
  13. Sugimoto C., Miyagawa E., Mitani K., Nakazawa M., Isayama Y. Cellular fatty acid composition of *Haemophilus equigenitalis*. *J. Clin. Microbiol.* 1982; 15(5): 791-4.
  14. Bronds J., Olsen J. Chemotaxonomy at a crossroads? Gas chromatographic analysis of a single colony from the bacterium *Haemophilus aphrophilus*. *J. Chromatogr.* 1986; 374(1): 119-25.
  15. Dennemont J., Roupas A., Heitz M. Differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C.coli*, *C.lary* and *C.fetus* fatty acid profiles obtained by gas chromatography - mass spectrometry and by their hippurate hydrolysis. *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg.* 1992; 83(2): 142-8.
  16. Brandtzaeg P., Bryn K., Kierulf P., Ovstebo R., Namork E., Aase B. et al. Meningococcal endotoxin in lethal septic shock plasma studied by gas chromatography, mass-spectrometry, ultracentrifugation and electron microscopy. *J. Clin. Invest.* 1992; 89 (3): 816-7.
  17. Jantzen E., Bryn K. Whole-cell and lipopolysaccharide fatty acids and sugars of gram-negative bacteria. In: Goodfellow M., Minnikin D., eds. *Chemical Methods in Bacterial Systematics*. London: Academic Press; 1985: 145-72.
  18. Luderitz O., Galanos C., Lechman V., Mayer H., Rietschel E.T., Weckesser J. Chemical structure and biological activities of lipid A from various bacterial families. *Naturwissenschaften*. 1978; 65(11): 578-85.
  19. Marmet D., Bornstein N., Flourette J. Identification des *Legionella* par analyse des acides gras en chromatographie phase gazeuse (CPG) et des ubiquinones en chromatographie liquide haute performance (CLHP). *Ann. Biol. Clin. (Paris)*. 1988; 46(6): 371-4.
  20. Nurminen M. Chemical characterization of *Chlamidia trachomatis* LPS. *Infect. Immun.* 1985; 48(2): 573-5.
  21. Fujioka M. et al. Structural analysis of a lipopeptide from the cell wall skeleton of *Nocardia rubra* (N-CWS) by FAB MS/MS. *Nippon ioymasu supocotoru gakkai koenshu*. 1989; 14: 201-3. (in Japan)
  22. Cannon J.P., Lee T.A., Bolanos J.T., Danziger L.H. Pathogenic relevance of *Lactobacillus*: a retrospective review of over 200 cases. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2005; 24(1): 31-40.
  23. Alexander L.R., Justice J.B.Jr., Madden J. Fatty acid composition of human erythrocyte membranes by capillary gas chromatography - mass spectrometry. *J. Chromatogr.* 1985; 342(1): 1-12.
  24. Bolte E.R. Autism and *Clostridium tetani*. *Med. Hypotheses*. 1998; 51(2): 133-44.
  25. Олескин А.В., Шендеров Б.А. Биополитический подход к реабитологии: потенциальная роль микробной биохимии. *Обзор. Вестник восстановительной медицины*. 2013; 1: 60-7.
  26. Kaneda T. Iso- and anteiso-fatty acids in bacteria: biosynthesis, function and taxonomic significans. *Microbiol. Rev.* 1991; 55(2): 288-302.
  27. Егорова Е.В., Минскер О.Б. *Грибковые и некоторые паразитарные заболевания женских половых органов*. М.: Медицина; 1988.
  28. Московская М.А. *Актиномикоз женских половых органов. Акушерство и гинекология*. 1982; 8: 41-3.
  29. Сутеева Т.Г. *Сравнительное изучение аэробных грибов, выделенных из полости рта людей, здоровых в отношении актиномикоза, и из очагов поражения у больных актиномикозом челюстно-лицевой области и шеи*: Дисс. ... канд. мед. наук. М.; 1968.
  30. McNeil M.M., Brown J.M., Jarvis W.R., Ajello L. Comparison of species distribution and antimicrobial susceptibility of aerobic actinomycetes from clinical specimens. *Rev. Infect. Dis.* 1990; 12(5): 778-83.
  31. McNabb A., Shuttleworth R., Behme R., Colby W.D. Fatty acid characterization of rapidly growing pathogenic aerobic actinomycetes as a means of identification. *J. Clin. Microbiol.* 1997; 35(6): 1361-8.
  32. Поздоровкина В.В. *Идентификация клинически значимых грибов и диагностика инвазивной грибковой инфекции методом газовой хроматографии*: Дисс. ... канд. биол. наук. М.; 1998.
  33. Крымцева Т.А., Осипов Г.А., Бойко Н.Б., Соколов Я.А., Демина А.М., Радюшина Т.В. и др. Минорные жирные кислоты биологических жидкостей урогенитальных органов и их значимость в диагностике воспалительных процессов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2003; 2: 92-3.
  34. Википедия. Available at: [http://ru.wikipedia.org/wiki/Синдром\\_хронической\\_усталости](http://ru.wikipedia.org/wiki/Синдром_хронической_усталости)
  35. Осипов Г.А., Парфенов А.И., Верховцева Н.В., Ручкина И.Н., Курчавов В.А., Бойко Н.Б. и др. Клиническое значение исследования микроорганизмов слизистой оболочки кишечника культурально-биохимическим и хромато-масс-спектрометрическим методами. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2003; 4: 59-6.
  36. Osipov G.A., Boiko N.B., Fedosova N.F., Kasikhina S.A., Lyadov K.V. Comparative gas chromatography-mass spectrometry study of the composition of microbial chemical markers in feces. *Microb. Ecol. Health Dis.* 2009; 21: 159-71.
  37. Дьяченко И.А., Осипов Г.А., Архипова А., Захарова Л., Мурашев А.Н. Изучение влияния ампициллина на микробиоту кишечника у крыс методом газовой хроматографии - масс-спектрометрии по маркерным веществам в крови. В кн.: *Международное сотрудничество в биотехнологии: Ожидания и реальность. Третья международная конференция из серии "Наука и бизнес" 19-21 июня 2006 г. Тезисы докладов*. Пушчино; 2006. Available at: [http://www.rusbio.biz/ru/nb2006\\_06.shtml](http://www.rusbio.biz/ru/nb2006_06.shtml)
  38. Николаев Ю.А., Плакунов В.К. Биопленка - «город микробов» или аналог многоклеточного организма? *Микробиология*. 2007; 76(2): 149-63.
  39. Попов Д.А., Овсенко С.Т., Осипов Г.А., Вострикова Т.Ю. Ускоренный способ идентификации возбудителей бактериемий с применением метода газовой хромато-масс-спектрометрии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013; 5: 54-8.

Поступила 27.05.15

## REFERENCES

1. Mitraka B.M. *Application of Gas Chromatography in Microbiology and Medicine [Применение газовой хроматографии в микробиологии и медицине]*. Moscow: Meditsina; 1978. (in Russian)
2. Goodfellow M., Minnikin D., eds. *Chemical Methods in Bacterial Systematics*. London: Academic Press; 1985.
3. O'Liri V. Lipids of microorganisms. In: O'Liri V. *Molecular Microbiology [Молекулярная микробиология]*. Moscow: Mir; 1977: 201-39. (in Russian)
4. Larsson L. Determination of microbial chemical markers by gas chromatography-mass-spectrometry potential for diagnosis and studies on metabolism in situ. *APMIS*. 1994; 102(3): 161-9.
5. Brondz J., Olsen J. Microbial chemotaxonomy. Chromatography, electrophoresis and relevant profiling techniques. *J. Chromatogr.* 1986; 379: 367-411.
6. Moss C.W., Dees S.R. Identification of microorganisms by gas chromatographic - mass spectrometric analysis of cellular fatty acids. *J. Chromatogr.* 1975; 112: 594-604.
7. Vasyurenko Z.P., Frolov A.F., Smirnov V.V., Ruban N.M. *The Fatty Acid Profiles of Bacteria Pathogenic for Humans and Animals [Жирнокислотные профили бактерий, патогенных для человека и животных]*. Kiev: Naukova dumka; 1992. (in Russian)
8. Pozdorovkina V.V., Beloborodova N.V., Kurchavov V.A., Boyko

- N.B., Rogatina E.L., Demina A.M. Gas chromatographic diagnosis of candidiasis and monitoring the effectiveness of antifungal therapy on the level arabinitol and mannose in children. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 1998; 16(5): 23–5. (in Russian)
9. Larsson L., Pehrson C., Wiebe T., Christensson B. Chromatographic determination of D-arabinitol/L-arabinitol ratios in urine: a potential method for diagnosis of disseminated candidiasis. *J. Clin. Microbiol.* 1994; 32(8): 1855–9.
  10. Lehtonen L., Anttila V.J., Ruutu T., Salonen J., Nikoskelainen J., Eerola E. et al. Diagnosis of disseminated candidiasis by measurement of urine D-arabinitol/L-arabinitol ratio. *J. Clin. Microbiol.* 1996; 34(9): 2175–9.
  11. Lehtonen L., Eerola E., Oksman P., Toivanen P. Muramic acid in peripheral blood leukocytes of healthy human subjects. *J. Infect. Dis.* 1995; 171(4): 1060–4.
  12. Maitza S.K., Schotz M.C., Yoshikawa T.T., Guze L.B. Determination of lipid A and endotoxin in serum by mass-spectrometry. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1978; 75(8): 3993–7.
  13. Sugimoto C., Miyagawa E., Mitani K., Nakazawa M., Isayama Y. Cellular fatty acid composition of *Haemophilus equigenitalis*. *J. Clin. Microbiol.* 1982; 15(5): 791–4.
  14. Brons J., Olsen J. Chemotaxonomy at a crossroads? Gas chromatographic analysis of a single colony from the bacterium *Haemophilus aphrophilus*. *J. Chromatogr.* 1986; 374(1): 119–25.
  15. Dennemont J., Roupas A., Heitz M. Differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari* and *C. fetus* fatty acid profiles obtained by gas chromatography – mass spectrometry and by their hippurate hydrolysis. *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg.* 1992; 83(2): 142–8.
  16. Brandtzaeg P., Bryn K., Kierulf P., Ovstebo R., Namork E., Aase B. et al. Meningococcal endotoxin in lethal septic shock plasma studied by gas chromatography, mass-spectrometry, ultracentrifugation and electron microscopy. *J. Clin. Invest.* 1992; 89 (3): 816–7.
  17. Jantzen E., Bryn K. Whole-cell and lipopolysaccharide fatty acids and sugars of gram-negative bacteria. In: Goodfellow M., Minnikin D., eds. *Chemical Methods in Bacterial Systematics*. London: Academic Press; 1985: 145–72.
  18. Luderitz O., Galanos C., Lechman V., Mayer H., Rietchel E.T., Weckesser J. Chemical structure and biological activities of lipid A from various bacterial families. *Naturwissenschaften*. 1978; 65(11): 578–85.
  19. Marmet D., Bornstein N., Flourette J. Identification des *Legionella* par analyse des acides gras en chromatographie phase gazeuse (CPG) et des ubiquinones en chromatographie liquide haute performance (CLHP). *Ann. Biol. Clin. (Paris)*. 1988; 46(6): 371–4.
  20. Nurminen M. Chemical characterization of *Chlamidia trachomatis* LPS. *Infect. Immun.* 1985; 48(2): 573–5.
  21. Fujioka M. et al. Structural analysis of a lipopeptide from the cell wall skeleton of *Nocardia rubra* (N-CWS) by FAB MS/MS. *Nippon ioyomasu supecotoru gakkai koenshu*. 1989; 14: 201–3. (in Japanese)
  22. Cannon J.P., Lee T.A., Bolanos J.T., Danziger L.H. Pathogenic relevance of *Lactobacillus*: a retrospective review of over 200 cases. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2005; 24(1): 31–40.
  23. Alexander L.R., Justice J.B.Jr., Madden J. Fatty acid composition of human erythrocyte membranes by capillary gas chromatography – mass spectrometry. *J. Chromatogr.* 1985; 342(1): 1–12.
  24. Bolte E.R. Autism and *Clostridium tetani*. *Med. Hypotheses*. 1998; 51(2): 133–44.
  25. Oleskin A.V., Shenderov B.A. Biopoliticheskie approach to realia: the potential role of microbial biochemistry. Review. *Vestnik vosstanovitel'noy meditsiny*. 2013; 1: 60–7. (in Russian)
  26. Kaneda T. Iso- and anteiso-fatty acids in bacteria: biosynthesis, function and taxonomic significance. *Microbiol. Rev.* 1991; 55(2): 288–302.
  27. Egorova E.V., Minsker O.B. *Fungal and Parasite Conditions of the Female Genital Organs [Gribkovye i nekotorye parazitarnye zabolovaniya zhenskikh polovykh organov]*. Moscow: Meditsina; 1988. (in Russian)
  28. Moskovskaya M.A. Actinomycosis of the female genital organs. *Akusherstvo i ginecologiya*. 1982; 8: 41–3. (in Russian)
  29. Suteeva T.G. *Comparative Study of Aerobic Fungi Isolated from the Oral Cavity of People in Healthy Relationships Lumpy, and from Lesions in Patients with Actinomyces Zoom Maxillofacial Area and Neck*. Diss. Moscow; 1968. (in Russian)
  30. McNeil M.M., Brown J.M., Jarvis W.R., Ajello L. Comparison of species distribution and antimicrobial susceptibility of aerobic actinomycetes from clinical specimens. *Rev. Infect. Dis.* 1990; 12(5): 778–83.
  31. McNabb A., Shuttleworth R., Behme R., Colby W.D. Fatty acid characterization of rapidly growing pathogenic aerobic actinomycetes as a means of identification. *J. Clin. Microbiol.* 1997; 35(6): 1361–8.
  32. Pozdorovkina V.V. *Identification and Diagnostic of Valuable Clinical Fungi and Fungal Infections by Using Gas Chromatography*. Diss. Moscow; 1998. (in Russian)
  33. Krymteva T.A., Osipov G.A., Boyko N.B., Sokolov Ya.A., Demina A.M., Radyushina T.V. et al. Minor fatty acids in biological fluids urogenital organs and their significance in the diagnosis of inflammatory processes. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2003; 2: 92–3. (in Russian)
  34. Wikipedia. Available at: [http://ru.wikipedia.org/wiki/Синдром\\_хронической\\_усталости](http://ru.wikipedia.org/wiki/Синдром_хронической_усталости) (in Russian)
  35. Osipov G.A., Parfenov A.I., Verkhovtseva N.V., Ruchkina I.N., Kurchavov V.A., Boyko N.B. et al. The clinical value of the study of microorganisms of the intestinal mucosa culture and biochemical and chromato-mass-spectrometric methods. *Ekspiermental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya*. 2003; 4: 59–65. (in Russian)
  36. Osipov G.A., Boiko N.B., Fedosova N.F., Kasikhina S.A., Lyadov K.V. Comparative gas chromatography-mass spectrometry study of the composition of microbial chemical markers in feces. *Microb. Ecol. Health Dis.* 2009; 21: 159–71.
  37. D'yachenko I.A., Osipov G.A., Arkhipova A., Zakharova L., Murashev A.N. To study the effect of ampicillin on microbiota in rats by gas chromatography – mass spectrometry for a marker substances in the blood. In: *International Cooperation in Biotechnology: Expectations and Reality. Third International Conference from the Series "Science and Business", 19–21 June 2006. Abstracts [Mezhdunarodnoe sotrudnichestvo v biotekhnologii: Ozhidaniya i real'nost'. Tret'ya mezhdunarodnaya konferentsiya iz serii "Nauka i biznes" 19–21 iyunya 2006 g. Tezisy dokladov]*. Pushchino; 2006. Available at: [http://www.rusbio.biz/ru/nb2006\\_06.shtm](http://www.rusbio.biz/ru/nb2006_06.shtm) (in Russian)
  38. Nikolaev Yu.A., Plakunov V.K. Biofilm – “City of microbes” or an analogue of multicellular organisms? *Mikrobiologiya*. 2007; 76(2): 149–63. (in Russian)
  39. Popov D.A., Ovseenko S.T., Osipov G.A., Vostrikova T.Yu. Rapid method for the identification of pathogens bacteriemia using the method of gas chromatography-mass spectrometry. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2013; 5: 54–8. (in Russian)

Received 27.05.15