

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**  
**Вінницький національний медичний університет**  
**імені М. І. Пирогова**

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**  
**Вінницький національний медичний університет**  
**імені М. І. Пирогова**

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

МУРГІНА МАРИНА МИКОЛАЇВНА

УДК : 616.94-053.2-07

**«КЛІНІКО-ДІАГНОСТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ**  
**ПЕРЕБИГУ СЕПСИСУ У ДІТЕЙ»**

14.01.10 – педіатрія

22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

\_\_\_\_\_М.М. Мургіна

Науковий керівник: Пипа Лариса Володимирівна, доктор медичних наук, професор

Вінниця 2017 р.

## АНОТАЦІЯ

*Мургіна М.М.* Клініко-діагностичні особливості перебігу сепсису у дітей. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.01.10 – педіатрія (22 Охорона здоров'я). - Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, МОЗ України, Вінниця, 2017.

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, МОЗ України, Вінниця, 2017.

Мета дисертаційної роботи полягала у підвищенні ефективності ранньої діагностики сепсису у дітей на підставі визначення діагностичної цінності рівнів туморнекротичного фактору -  $\alpha$ , прокальцитоніну, пресепсину сироватки крові з урахуванням поліморфізму гена туморнекротичного фактору -  $\alpha$  (308 G→A ), як предиктора генералізації інфекційного процесу.

Для досягнення поставленої мети нами було проведено обстеження 115 дітей із сепсисом та локалізованими бактеріальними інфекціями, які перебували на лікуванні в Хмельницькій обласній дитячій лікарні, Хмельницькій міській дитячій лікарні та Хмельницькій інфекційній лікарні в період з 2009 по 2016 рік. Основну групу склали 47 дітей із сепсисом та 68 дітей із локалізованою бактеріальною інфекцією. Група контролю складалась із 56 практично здорових дітей.

Згідно критеріїв міжнародної погоджувальної конференції з питань дитячого сепсису (IPSSC, 2005) та рекомендацій погоджувальної конференції Сепсис- 3 (2016) до основної групи ввійшли діти із наявністю бактеріальної інфекції, ССЗВ та хоча би однієї з ознак органної дисфункції. Групу порівняння склали діти, у яких на фоні бактеріальної інфекції діагностувалась одна ознака ССЗВ та не було ознак органної дисфункції.

Дітям проводилось фізикальне обстеження для визначення ознак ССЗВ та ознак органної дисфункції, загально-клінічні лабораторні дослідження, біохімічні, бактеріологічні, ІФА (визначення рівня TNF- $\alpha$ , прокальцитоніну), імунохімічний

(рівень пресепсису) та генетичне (визначення варіанту одноалельної мутації промоторної ділки гена TNF- $\alpha$  (G $\rightarrow$ A 308)).

На підставі результатів проведеного дослідження визначено характер і частоту формування первинного вогнища при сепсисі у дітей. Так, у 29,8% випадків воно локалізується у кістково-м'язовій системі, у  $\frac{1}{4}$  хворих (25,5%) – у центральній нервовій системі, а у кожного п'ятого пацієнта (19,2%) – у ЛОР-органах. Уперше визначено показники ризику виникнення генералізованого інфекційного процесу за даної локалізації первинного вогнища інфекції, що становить, відповідно: ЛОР-органах - ВШ – 2,98 ДІ 95 % [2,37-3,74], грудній порожнині - ВШ – 2,58 ДІ 95 % [1,41-4,71], ЦНС - ВШ – 2,2 ДІ 95 % [1,2-4,0].

Нами проведено бактеріологічне дослідження різних біологічних рідин (кров, ліквор, сеча), ранового вмісту, мазків із слизових (носа, зів), змивів із трахеобронхіального дерева, дренажних трубок, периферичних та центральних катетерів у дітей основної групи і групи порівняння.

При сепсисі виявлення причинного збудника спостерігалось у 24 дітей ( 51,0 %), в групі порівняння – у 10 дітей ( 14,7 %), що співпадає з даними літератури. Незначна кількість випадків виділення збудника гнійного процесу у дітей із локалізованою гнійною інфекцією у порівняння із групою дітей із сепсисом обумовлена, з більшою вірогідністю, однократним обстеженням із одного середовища, в той час як при сепсисі бактеріологічне дослідження проводилось із декількох середовищ та по декілька разів.

Аналізуючи структуру етіологічних чинників, у 66,6 % дітей основної групи та в 50,0 % дітей групи порівняння причиною інфекції були Гр (+) мікроорганізми. Малий відсоток випадків, коли етіологічним чинником був стрептокок (8,3 %), обумовлений тим, що стрептокок є частиною біоплівки, що значно ускладнює його виділення. Високий відсоток виділення золотистого стафілококу (58,3 % та 50 % в основній та групі порівняння, відповідно) зумовлено тим, що стафілокок є «біологічним планктоном», тому легко висівається та може в певній кількості випадків маскувати істинний збудник інфекції або міхт інфекцію. Другий за частотою у дітей з сепсисом зустрічався менінгокок (16,7 %), у дітей групи

порівняння – E.coli (40,0 %), третє – клебсієла в групі дітей з локалізованою інфекцією та синьогнійна паличка у дітей з сепсисом, яка з більшою ймовірністю була госпітальною флорою, яка нашарувалась на первинний етіологічний чинник. Міхт-інфекції зустрічались у дітей основної групи у 9,0 % випадків, у групі порівняння – у 1,5 % дітей.

Проаналізувавши структуру збудників у залежності від первинного вогнища інфекції, нами були отримані такі дані: при локалізації первинного вогнища в ЛОР-органах та кістково-м'язовій системі переважали Гр (+) мікроорганізми, при локалізації гнійного вогнища в грудній порожнині з однаковою частотою зустрічались Гр (+) та Гр (-) бактерії, при вогнищі, що локалізувалось в черевній порожнині та в ЦНС, у більшості випадків виділялися Гр (-) збудники. Переважання Гр (-) флори при локалізації первинного вогнища в ЦНС обумовлено частотою менінгококової інфекції, яка викликається, як відомо, Гр (-) збудником.

Із лабораторних біомаркерів для діагностики сепсису нами було використано визначення рівня СРБ (47 дітей основної групи та 68 групи порівняння), прокальцитоніну (31 дитина із сепсисом, 54 дитини із локалізованою бактеріальною інфекцією та 30 дітей групи контролю), TNF- $\alpha$  (31 дитина – основної групи, 54 дитини - групи порівняння та 30 дітей - групи контролю) та рівень пресепсину (16 дітей із сепсисом, 14 дітей із локалізованою бактеріальною інфекцією та 26 дітей групи контролю). Так, при локалізованих бактеріальних інфекціях рівень СРБ, TNF- $\alpha$ , ПКТ та пресепсину становив: 28,3 мг/л ДІ 95 % [22,4 -34,2], 186,5 пг/мл ДІ 95 % [163,1-209,9] 0,86 нг/мл ДІ 95 % [0,77- 1,03] та (m) 313,5 пг/мл (IQR 208-376 пг/мл), відповідно. При сепсисі показники СРБ, TNF- $\alpha$ , ПКТ та пресепсину були значно вищими (44,7 мг/л ДІ 95 % [35,0-54,3], 280,3 пг/мл ДІ 95 % [243,9-316,7], 4,06 нг/мл ДІ 95 % [2,34-5,69], (m) 1887,5 пг/мл (IQR 505,5-3702,5 пг/мл)) і різниця була статистично значимою, в порівнянні з такими при локалізованому бактеріальному запаленні. При цьому виявлено найвищу специфічність (96 %) та чутливість (97 %) саме у пресепсину для діагностики наявності бактеріальної інфекції та 92 % чутливість і 93 % специфічність для диференційної діагностики сепсису та локалізованої інфекції.

Метою нашого дослідження було встановити зв'язок однонуклеотидної заміни G→A в точці 308 промоторної ділянки гена, що кодує синтез TNF- $\alpha$ , і розвитком сепсису та оцінити прогностичну цінність визначення варіанту заміни, як предиктора розвитку останнього.

Нами проведено дослідження поліморфізму гена, що кодує синтез TNF- $\alpha$  у точці (-308), у 55 дітей з сепсисом та локалізованою бактеріальною інфекцією. При наявності дикого варіанту в точці (-308) гомозиготно знаходиться гуанін, при мутованому гетерозиготному варіанті одна із молекул гуаніну замінена на аденін, при гомозиготному варіанті мутації обидві молекули гуаніну заміщуються на аденін.

Основну групу склали 28 дітей із сепсисом, група порівняння складалась із 27 дітей, у яких було діагностовано локалізовану форму бактеріальної інфекції. Вік дітей від 3 міс до 17 років.

При генетичному обстеженні дітей обох груп у основній групі у 13 дітей (46,4 %) було виявлено мутований варіант алелю та в 15 дітей (53,6 %) - дикий. У групі порівняння мутований варіант було виявлено лише у 4-х дітей, що складало 14,8 %, решта дітей мали дикий варіант алеля (85,2 %), тобто, у дітей основної групи мутований варіант точки -308 в гені, що кодує синтез TNF- $\alpha$ , зустрічається у 3,1 разу частіше. Розрахувавши точний критерій Фішера для даних виборок, можна зробити висновок, що наявність мутованої алелі є предиктором розвитку сепсису ( $p = 0.006$ ). Відношення шансів (ВШ) виявило, що у дітей із наявністю аденіну в точці -308 в 5 разів (ДІ 95 % 1,54-16,14) частіше реєструється генералізований інфекційний процес. Крім того, в групі порівняння не було ні однієї дитини із гомозиготним варіантом мутованого алеля (308 A/A).

Отже, наші дані співпадають з даними інших авторів, які досліджували поліморфізм гена TNF- $\alpha$ , як генетичного предиктора схильності або стійкості до розвитку сепсису, або високої вірогідності летального кінця.

Крім того, нами вивчалась залежність варіанту алельного поліморфізму та рівня синтезу TNF- $\alpha$  при сепсисі та локалізованих бактеріальних інфекціях у дітей. Для досягнення цієї мети 27 дітям паралельно із визначенням варіанту алельного поліморфізму було проведено визначення рівня TNF- $\alpha$  сироватки крові.

У всіх дітей було виявлено підвищення рівня TNF- $\alpha$  сироватки крові у порівнянні із нормою. Середній рівень TNF- $\alpha$  у обстежених дітей складав 249,8 пг/мл ДІ 95 % [200,2-299,4]. У дітей зі сепсисом він сягав 318,2 пг/мл ДІ 95 % [244,5-391,9], у дітей із локалізованою інфекцією – 176,1 пг/мл ДІ 95 % [133,3-218,9]. Рівень TNF- $\alpha$  в залежності від варіанту одноалельного поліморфізму гена, що кодує синтез TNF- $\alpha$  в точці -308, був таким: при варіанті алеля в точці - 308 G/G – 201,9 пг/мл [ДІ 95 % 168,6-235,2 пг/мл], при варіанті алеля в точці 308 G/A – 460,6 пг/мл [ДІ 95 % 379,2-541,9 пг/мл], різниця статистично значима ( $p < 0,001$ ) і між цими показниками існує середньої сили прямий кореляційний зв'язок ( $r = 0,66$ ,  $p = 0,0002$ ).

**Наукова новизна одержаних результатів дослідження.** На підставі результатів проведеного дослідження визначено характер і частоту формування первинного вогнища при сепсисі у дітей.

Розширено уявлення щодо вікових особливостей локалізації первинного вогнища у дітей з бактеріальними інфекціями. Так у дітей віком від 1 місяця до 1 року найчастіше формування первинного вогнища є в ЦНС (55,6%), у 2-5 р. – органах черевної порожнини, а у підлітків – ЛОР-органах та кістково-м'язовій системі.

Встановлено, що генералізація інфекційного процесу із розвитком сепсису зустрічається у дітей грудного віку в 1,9 рази частіше, ніж у дітей інших вікових груп.

Вперше в Україні було проведено визначення рівня пресепсину (ПСП) у дітей із локалізованими бактеріальними інфекціями та сепсисом. Встановлено його діагностичні значення для різного рівня розповсюдженості інфекційного процесу: при рівнях ПСП 200-450 пг/мл діагностували локалізовану інфекцію, при рівні вище 500 пг/мл – сепсис.

Розширено уявлення про діагностичну цінність рівнів С-реактивного білка, туморнекротичного фактору -  $\alpha$ , прокальцитоніну та пресепсину для проведення диференційної діагностики сепсису та локалізованих бактеріальних інфекцій у дітей. Так, при сепсисі рівень туморнекротичного фактору -  $\alpha$  був у 1,5 раз, прокальцитоніну – у 4,7 рази, а пресепсину – у 6 разів вищим, у порівнянні з

аналогічними показниками у дітей з локалізованою бактеріальною інфекцією ( $p < 0,05$ ). При цьому саме у пресепсину виявлено найвищу специфічність (96 %) та чутливість (97 %).

Доповнено і розширено діагностичні можливості щодо раннього виявлення септичного шоку у дітей, ризик якого за рівня ПКТ $>4$  нг/мл зростає у 5,3 рази, а ПС $>4,500$  пг/мл - у 40 разів.

Показано, що за наявності у дітей мутації у вигляді гомозиготного поліморфізму промоторної ділянки гена туморнекротичного фактору -  $\alpha$  (A/A), чи гетерозиготного (A/G) у точці -308 трапляється вища схильність до генералізації інфекційного процесу, у порівнянні з дітьми, які є гомозиготами (G/G), тобто мають дикий варіант поліморфізму в досліджуваній точці. Виявлено, що мутований гомозиготний генотип гена, який кодує синтез TNF -  $\alpha$  (A/A) в точці -308, асоціює з вищим синтезом TNF -  $\alpha$ , що, у свою чергу, призводить до гіперергічної відповіді на інфекційний процес та більш швидкої генералізації інфекції.

**Практичне значення отриманих результатів.** Проведені клініко-лабораторні дослідження дозволили отримати нові дані щодо патогенетичних і генетичних особливостей розвитку сепсису у дітей.

Встановлено, що для діагностики бактеріального інфекційного процесу доцільним є визначення рівня прокальцитоніну та пресепсину сироватки крові: рівень ПКТ вище більше 2 нг/мл (OR – 5,3 S-0,27 CI 95 % 3,45-8,16), рівень ПСП вище 500 пг/мл OR – 4,95 S-0,52 CI 95 % 1,78-13,46).

Запропонований новий генетичний предиктор схильності до розвитку генералізації інфекційного процесу. Його визначення дозволить вчасно розпочати лікування у повному обсязі або рекомендувати додаткові щеплення для попередження важких генералізованих форм специфічних інфекцій, зокрема менінгокової у носіїв із мутованим гомозиготним (A/A) або гетерозиготним (A/G) поліморфізмом промоторної ділянки гена туморнекротичного фактору -  $\alpha$  в точці -308.

Рекомендовано з метою диференційної діагностики локалізованої бактеріальної інфекції та сепсису проводити дослідження рівня пресепсину в

сироватці крові, як найчутливішого, із досліджуваних, біомаркерів (специфічність 92% та чутливість 93%).

На основі отриманих даних розроблено алгоритм диференційної діагностики сепсису у дітей.

**Ключові слова:** сепсис, діагностика, діти, біомаркери, пресепсис, прокальцитонін, TNF- $\alpha$ , СРБ, одноалельний поліморфізм,

**Список публікацій здобувача:**

1. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Поліморфізм гену TNF- $\alpha$  при локалізованих і генералізованих гнійно-септичних захворюваннях у дітей. Современная педиатрия. 2013. №3 (51). С.39-41.
2. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Порівняльний аналіз інформативності сучасних біомаркерів сепсису у дітей. Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології. 2017. Т.11. № 1. С. 14-22.
3. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Сучасні уявлення про патогенез і діагностику гнійно-септичних станів у дітей. Інфекційні хвороби. 2017. № 2 (88). С.32-40.
4. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Поліморфізм гену TNF- $\alpha$  при локалізованих і генералізованих гнійно-септичних захворюваннях у дітей. Biomedical and biosocial antropology. 2013. № 20. С. 48-51.
5. Мургіна М.М. Клінічні особливості перебігу локалізованих та генералізованих бактеріальних інфекцій у дітей. Актуальная ифектология. 2017. Т. 5. № 3. С. 32-37.
6. Pyra L.V., Murhina M.M. Laboratory changes and levels of biomarkers in localized bacterial infections and sepsis in children. Journal of Education, health and sport. 2017. Vol. 7, № 8. P. 701-711.
7. Пипа Л.В., Мургіна М.М., Гейващук Я.М. Пат. № 77626 Україна МПК (2006.01) G01N 33/50. Спосіб прогнозування генералізації інфекційного процесу у дітей № u 2012 08373; заявл. 07.07.2012; опубліковано 25.02.2013, Бюл. № 6
8. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Пат. № 114595 Україна МПК (2006.01) G01N 21/76, (2006.01) G01N 21/77, (2006.01) G01N 33/48 . Спосіб диференційної діагностики генералізованого та локалізованого гнійно-септичного стану у дітей. № u 2016 10031; заявл. 03.10.2016; опубліковано 10.03.2017, Бюл. № 5.



9. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Інформаційний лист про нововведення у сфері охорони здоров'я № 306-2012 «Диференційна діагностика локалізованих та генералізованих форм бактеріальних інфекцій у дітей».
10. Мургіна М.М. Роль рівня прокальцитоніну в сироватці крові в диференційній діагностиці локалізованих та генералізованих бактеріальних інфекцій у дітей. Український науково-практичний молодіжний журнал. 2012. №3 (спец. випуск). 286.
11. Пипа Л.В., Мургіна М.М., Гейващук Я.М. Рання діагностика генералізованої бактеріальної інфекції у дітей. Мат. всеукр. наук.-практ. конф.: тези доп. Суми. 2013. С. 83-84.
12. Мургіна М.М., Лисиця Ю.М. Сучасні імунологічні маркери діагностики септичних станів у дітей. Мат. всеукр. наук.-практ. конф.: тези доп. Суми. 2015. С. 72-73.
13. Пресепсин – новий біомаркер для ранньої діагностики сепсису у дітей./ Пипа Л.В., Мургіна М.М., Гейващук Я.М. та ін.// Мат. ІХ з'їзду інфекціоністів України: тези доп. Тернопіль. 2015. С.267-268.
14. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Порівняльний аналіз сучасних біомаркерів розвитку сепсису у дітей. Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології. 2016. Т.10. № 1. С. 84-85.
15. Мургіна М.Н., Борисенко Т.Д. Пресепсин - біомаркер ранней диагностики сепсиса у детей. Мат. VIII Съезда врачей клинико-лабораторной службы Министерства здравоохранения Республики Беларусь: Тез. доп. Минск. 2016. С.128-129.
16. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Інформативність визначення рівня пресепсину для диференційної діагностики локалізованих та генералізованих форм інфекційного процесу у дітей. Мат. всеукр. наук.-практ. конф.: тези доп. Суми. 2017. С. 215-217.

## ANNOTATION

*Murhina M.M.* Clinical and diagnostic features of the course of sepsis in children. – Qualification scientific work on the rights of manuscripts.

Dissertation for a Candidate's Degree of Medical Science (PhD) (doctor of philosophy) in specialty 14.01.10 «Pediatrics» (22 Health) – National Pirogov Memorial Medical University, MHP of Ukraine, Vinnytsya, 2017.

National Pirogov Memorial Medical University, MHP of Ukraine, Vinnytsya, 2017.

The aim of the dissertation work was to increase the effectiveness of early diagnosis of sepsis in children on the basis of determining the diagnostic value of levels of tumor necrotic factor  $\alpha$ , procalcitonin, presepsin of blood serum taking into account the polymorphism of the gene of tumor necrotic factor  $\alpha$  (308 G  $\rightarrow$  A) as a predictor of the generalization of the infectious process.

We carried out a survey of 115 children with sepsis and localized bacterial infections who were on treatment in the Khmelnytsky Regional Children's Hospital, Khmelnytsky City Children's Hospital and Khmelnytsky Infectious Diseases Hospital from 2009 to 2016. The main group consisted of 47 children with generalized infection (sepsis) and 68 children with localized. The control group consisted of 56 practically healthy children.

According to the criteria of the international pediatric sepsis consensus conference (IPSSC, 2005) and the recommendations of the Conciliation Conference Sepsis-3 (2016) the main group included children with a bacterial infection, SIRS, and at least one of the signs of organ dysfunction. The comparison group was made up of children who had one symptom of the SIRS on the background of bacterial infection and there were no signs of organ dysfunction.

The children underwent a physical examination to determine the signs of the SIRS and organ dysfunction, general clinical laboratory tests, biochemical, bacteriological, EIA (determination of TNF- $\alpha$ , procalcitonin levels), immunochemical (presepsin level) and genetic (determination of the variant of TNF- $\alpha$  gene Single allele mutation (G  $\rightarrow$  A 308)).

Based on the results of the study, the nature and frequency of the formation of the primary focus in sepsis in children are determined. Thus, in 29.8% of cases it is localized

in the musculoskeletal system,  $\frac{1}{4}$  in patients (25.5%) in the central nervous system, and in every fifth patient (19.2%) in ENT- organs For the first time, indicators of the risk of a generalized infectious process in a given localization of the primary infection center were determined, respectively: ENT- organs - OR - 2.98 CI 95% [2.37-3.74], chest cavity - OR - 2.58 CI 95% [1,41-4,71], CNS - OR - 2,2 CI 95% [1,2-4,0].

We carried out a bacteriological study of various biological fluids (blood, liquor, urine), wound fluids, smears from the mucous membranes (nose, throat), washes from tracheobronchial tree, drainage tubes, peripheral and central catheters in the children of the main group and the comparison group.

In sepsis detection of a causative agent was seen in 24 children (51.0 %), in the comparison group - 10 children (14.7 %), which coincides with the data of the literature. Not large number of cases of purulent pathogen isolation in children with localized purulent infection in comparison with the group of children with sepsis is due to a single examination from one environment, while in the case of sepsis the bacteriological examination was carried out from several environments and several times.

Analyzing the structure of etiological factors in 66.6 % of the children in the main group and in 50.0 % of the children in the comparison group, the Gramm (+) microorganisms were the cause of the infection that is indicated by a number of other authors [11, 16]. When the etiological factor was a streptococcus, a small percentage of cases is also due to the fact that streptococcus is a part of the biofilm, which greatly complicates its selection. The high percentage of staphylococcus excretion is due to the fact that staphylococcus is a "biological plankton", therefore it easily sows and in a certain number of cases it can mask the true pathogen of infection or mixed infection. Meningococcus (16.7 %) took the second-ranked place in children with sepsis, in children of the comparison group - E.coli (40.0 %), the third place is taken by klebsiella in the group of children with localized infection and by pseudomonas aeruginosa in the group of children with sepsis, which was more likely to be hospital flora that lay on the primary etiological factor. Mixed-infections occurred in children of the main group in 9.0 % of cases, in the comparison group - in 1.5 % of children.

After analyzing the structure of the pathogens depending on the primary focus of the infection, we obtained the following data: when localization of the primary focus was in the ENT-organs and musculoskeletal system, Gram + microorganisms prevailed; when localization of purulent foci was in the chest cavity, Gram (+) and Gram (-) bacteria were met with the same frequency; in the most of the cases Gram (-) causative agent excreted when the focuses localized in the abdominal cavity and in the central nervous system. The prevalence of Gram (-) flora in the localization of the primary focus in the central nervous system is due to the frequency of meningococcal infection, which is caused, as it is known, by the Gram (-) causative agent.

To diagnose sepsis from laboratory biomarkers we used a determination of the level of CRP (47 children from the main group and 68 groups of comparison), procalcitonin (31 children with sepsis, 54 children with localized bacterial infection and 30 children from the control group), TNF- $\alpha$  (31 children - the main group, 54 children - the comparison group and 30 children - the control group) and the level of presepsin (16 children with sepsis, 14 children with localized bacterial infection and 26 children from the control group). Thus, in localized bacterial infections, the level of CRP, TNF- $\alpha$ , PTC and presepsin was: 28.3 mg / l CI 95 % [22.4-34.2], 186.5 pg / ml CI 95 % [163.1-209, 9] 0.86 ng / ml CI 95 % [0.77-1.03] and (m) 313.5 pg / ml (IQR 208-376 pg / ml), respectively. In case of sepsis indicators of CRP, TNF- $\alpha$ , PCT and presepsin were significantly higher (44.7 mg / L CI 95 % [35 -54.3], 280.3 pg / ml CI 95 % [243.9-316 7], 4.06 ng / ml CI 95 % [2.34-5.69], (m) 1887.5 pg / ml (IQR 505.5-3702.5 pg / ml)) and the difference was statistically significant compared to those with localized bacterial inflammation. In this case, the highest specificity (96 %) and sensitivity (97 %) were detected in presepsin for the diagnosis of bacterial infection and 92 % of sensitivity and 93 % of specificity for the differential diagnosis of sepsis and localized infection.

The purpose of our study was to establish the relationship between the single-nucleotide exchange G  $\rightarrow$  A at the 308 point of the gene coding for the TNF- $\alpha$  synthesis and the degree of infection incidence and to estimate the predictive value of determining the exchange variant as a predictor of sepsis development.

We conducted a study of the gene polymorphism encoding the synthesis of TNF- $\alpha$  at position (-308), in 55 children with sepsis and localized bacterial infection.

The mutated and wild version of this allele was determined. If there is a wild variant at position (-308) also there is a homozygous guanine, in the mutated heterozygous variant one of the guanine molecules is replaced by adenine; in the homozygous variant of mutation both guanine molecules are replaced by adenine.

The main group consisted of 28 children with sepsis; the comparison group consisted of 27 children who had been diagnosed with a localized form of bacterial infection. Age of children is from 3 months to 17 years.

In the process of genetic examination of children of both groups following data was detected: 13 children (46.4 %) from the main group had mutated allele variant and 15 children (53.6 %) had a wild one. In the comparison group, the mutated variant was found only in 4 children, which was 14.8 %. All other children had a wild variant of the allele (85.2 %), that is, in children of the main group, the mutated version at position (-308) in the gene encoding the synthesis of TNF- $\alpha$ , occurs 3.1 times more often. Having calculated the exact Fisher criterion for these samples, we can conclude that the presence of a mutated allele is a predictor of sepsis development ( $p = 0.006$ ). The odds ratio (OR) revealed that children with adenine at position -308 in 5 times (CI 95%, 1,54 - 16,14) are more likely to be registered with sepsis. In addition, in the comparison group, there was no single child with a homozygous variant of the mutated allele (308 A / A).

Consequently, our data coincides with the data of other authors who investigated the polymorphism of cytokine genes as genetic predictors of predisposition or resistance to the development of sepsis, or high probability of the death.

In addition, we studied the dependence of the variant allele polymorphism and the level of synthesis of TNF- $\alpha$  in purulent-septic conditions in children. To achieve this goal, 27 children, in conjunction with the definition of the allelic polymorphism variant we determined the level of serum TNF- $\alpha$ .

All children showed an increase in serum TNF- $\alpha$  levels compared to the normal state. The average TNF- $\alpha$  level in the examined children was 249.8 pg/ml CI 95 % [200.2-299.4]. It reached 318.2 pg / ml CI 95 % [244.5-391.9] in children with a generalized

infection, 176.1 pg / ml CI 95 % [133.3-218.9] was in children with a localized infection. The TNF- $\alpha$  level, depending on the variant of the single polymorphism of the gene encoding the TNF- $\alpha$  synthesis at position -308 was as follows: under the variant allele at position - 308 G / G it was 201.9 pg/ml [CI 95 % 168.6 -235.2 pg/ml], under the variant of the allele at 308 G / A - 460.6 pg/ml (CI 95 % 379.2-541.9 pg/ml), the difference is statistically significant ( $p < 0.001$ ) and between these indicators there is a medium correlation ( $r=0.66$ ,  $p = 0.0002$ ).

**Scientific novelty of the obtained research results.** Based on the results of the study, the nature and frequency of the formation of the primary hearth in sepsis in children are determined.

An overview of the age features of localization of the primary focus in children with bacterial infections has been expanded.

So in children from 1 month to 1 year most often the formation of the primary focus is in the central nervous system (55.6%), in 2-5 years - organs of the abdominal cavity, and in adolescents - ENT organs and bone muscle system.

It was established that the generalization of the infectious process with the development of sepsis occurs in infants in 1,9 times more often than in children of other age groups.

For the first time in Ukraine, the level of presepsin (PSP) was determined in children with localized bacterial infections and sepsis. Its diagnostic values for different levels of infectious process prevalence have been established: at the levels of PSP 200-450 pg / ml, localized infection was diagnosed at levels above 500 pg / ml - sepsis.

An overview of the diagnostic value of the levels of C-reactive protein, tumor necrotic factor  $\alpha$ , procalcitonin and presepsin for differential diagnosis of sepsis and localized bacterial infections in children has been extended. Thus, in case of sepsis, the level of tumor necrotic factor -  $\alpha$  was 1.5 times, procalcitonin - 4.7 times, and presesinum - 6 times higher, in comparison with similar indices in children with localized bacterial infection ( $p < 0.05$ ). In this case, the highest specificity (96%) and sensitivity (97%) were found in presepsin.

The diagnostic possibilities are added and extended for early detection of septic shock in children, whose risk at the level of PCT > 4 ng / ml increases 5.3 times, and PSP > 4500 pg / ml, is 40 times higher.

It has been shown that in the presence of mutations in the form of a homozygous polymorphism of the promoter region of the tumor genetic factor gene  $\alpha$  (A / A) or heterozygous (A / G) at the point -308, there is a higher tendency to generalize the infectious process in comparison with children who are homozygotes (G / G), that is, they have a wild variant of polymorphism at the investigated point. The mutated homozygous genotype of the gene encoding the TNF - $\alpha$  (A / A) synthesis at -308 has been found to associate with the higher synthesis of TNF- $\alpha$ , which in turn results in a hyperergic response to the infectious process and a faster generalization of the infection .

**The practical value of the results.** The conducted clinical and laboratory studies allowed to obtain new data on the pathogenetic and genetic features of the development of sepsis in children.

It has been established that for the diagnosis of a bacterial infectious process it is expedient to determine the level of serum procalcitonin and presepsin: the level of PCT above 2 ng / ml (OR - 5.3 S-0.27 CI 95% 3.45-8.16), level PSP above 500 pg / ml OR - 4.95 S-0.52 CI 95% 1.78-13.46).

A new genetic predisposition predictor to the development of the generalization of the infectious process is proposed. Its determination will allow full timely initiation or additional vaccination to prevent severe generalized forms of specific infections, in particular meningococcal, in carriers with a mutated homozygous (A / A) or heterozygous (A / G) polymorphism of the promoter region of the tumor necrotic factor gene at  $\alpha$  at the point - 308. It is recommended for differential diagnosis of localized bacterial infection and sepsis to carry out studies on the level of presepsin in serum as the most sensitive biomarker from the subjects (specificity 92% and sensitivity 93%).

On the basis of the obtained data, an algorithm for differential diagnosis of sepsis in children was developed.

**Key words:** sepsis, diagnosis, children, biomarkers, presepsin, procalcitonin, TNF- $\alpha$ , CRP, single polymorphism.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	18
ВСТУП.....	19
РОЗДІЛ 1	
СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ЕТІОЛОГІЮ, ЕПІДЕМІОЛОГІЮ, ПАТОГЕНЕЗ РОЗВИТКУ ТА ДІАГНОСТИКУ СЕПСИСУ У ДІТЕЙ (аналітичний огляд літератури).....	27
1.1 Етіологія та патогенез розвитку сепсису у дітей .....	27
1.2 Діагностика сепсису на сучасному етапі.....	43
РОЗДІЛ 2	
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	54
2.1 Матеріали дослідження.....	54
2.2 Методи дослідження.....	57
РОЗДІЛ 3	
КЛІНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ СЕПСИСУ У ДІТЕЙ.....	64
3.1 Особливості перебігу сепсису та локалізованого бактеріального запален- ня в залежності від розміщення первинного вогнища інфекції.....	64
3.2 Етіологічна структура сепсису та локальної бактеріальної інфекції у дітей.....	69
3.3 Клінічні особливості перебігу сепсису та локалізованої бактеріальної інфекції у дітей.....	71
РОЗДІЛ 4	
ЛАБОРАТОРНІ ЗМІНИ ТА РІВНІ ПРОКАЛЬЦИТОНІНУ, TNF- $\alpha$ , ПРЕСЕПСИНУ ПРИ СЕПСИСІ ТА ЛОКАЛІЗОВАНИХ БАКТЕРІАЛЬНИХ ІНФЕКЦІЯХ У ДІТЕЙ.....	85



4.1 Особливості загальноклінічних лабораторних показників у дітей із сепсисом.....	85
4.2 Рівень СРБ у дітей із сепсисом та локалізованими інфекціями.....	89
4.3 Рівень TNF- $\alpha$ у дітей із сепсисом.....	90
4.4 Рівень прокальцитоніну у дітей і сепсисом тв локалізованим бактеріальними інфекціями.....	92
4.5 Рівень пресепсину у дітей зі сепсисом.....	94
4.6 Кореляційні зв'язки між лабораторними біомаркерами, які досліджувалися для діагностики сепсису.....	97
РОЗДІЛ 5	
ГЕНЕТИЧНІ ПРЕДИКТОРИ ГЕНЕРАЛІЗАЦІЇ ІНФЕКЦІЙНОГО ПРОЦЕСУ ТА СТУПІНЬ ЕКСПРЕСІЇ СИНТЕЗУ TNF- $\alpha$ У ДІТЕЙ ІЗ СЕПСИСОМ.....	103
5.1 Алельний поліморфізм гену, що кодує синтез TNF- $\alpha$ , у дітей із сепсисом.....	103
5.2 Кореляція між варіантами алельного поліморфізму та рівня синтезу TNF- $\alpha$ .....	107
АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	113
ВИСНОВКИ.....	129
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	132
Додатки.....	150

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

FDA - Food and Drug Administration-approved – управління по контролю якості продуктів і ліків США

NO – оксид азоту

NK-kB – цитозольний фактор транскрипції

TNF- $\alpha$  – фактор некрозу пухлини –  $\alpha$

TLR - Toll-like receptor – рецептори розпізнавання структур мікроорганізмів

IF- $\gamma$  – інтерферон- $\gamma$

IL - інтерлейкін

ЛПС – ліпополісахарид

АФК – активні форми кисню

Г(+) – Грам-позитивна флора

Г(-) – Грам-негативна флора

МІ – менінгококова інфекція

ПОН – поліорганна недостатність

ПКТ – прокальцитонін

ПСП - пресепсин

ССЗР – синдром системної запальної реакції

СРБ – С-реактивний білок

## ВСТУП

### Актуальність теми.

Протягом багатьох століть розвитку медицини проблема сепсису залишалась актуальною і недостатньо вивченою. Кожного року у світі реєструється біля 18 млн. випадків сепсису, 10-30% з них закінчується летально, у тому числі у новонароджених та дітей інших вікових груп [18, 133].

Сепсис – це загальноклінічна проблема, за якої має місце висока летальність та значні матеріальні витрати на лікування [84, 167]. Кожну хвилину у світі від сепсису помирають 14 осіб, а щорічна летальність через розвиток останнього більша, ніж від ВІЛ-інфекції, раку простати та молочної залози разом узятих [111]. Більшість смертей дітей у віці до 5 років (майже 60%) зумовлено інфекцією [181]. У останні два десятиліття захворюваність на сепсис зростає [84].

Ризик розвитку сепсису обернено пропорційний віку дітей. Найбільша поширеність сепсису серед новонароджених і складає 10 випадків на 1000 живонароджених у Сполучених Штатах [157]. Сепсис є найбільш поширеною причиною смерті у немовлят у всьому світі [23, 60, 74].

Рівень смертності залежить від географічного регіону – найвища у країнах що розвиваються [157]. Згідно даних Fran Balamuth та співавтори (2014) середня вартість лікування однієї дитини старше 2-х місяців у лікарнях США становила – 78946 доларів, загальні витрати на лікування сепсису в рік складають 4,8 мільйонів доларів США. В Європі терапія сепсису оцінюється у 70–90 тис. доларів на одного пацієнта [162].

Зростання рівня захворюваності зумовлено, на думку Fenton K.E. та Parker M.M. (2004), наступними факторами: збільшенням кількості інвазивних приладів для моніторингу та лікування хворих у критичному стані; новими та вдосконаленими методами лікування, які дозволяють вижити хворим із тяжкими захворюваннями, але з імуносупресією; покращенням виживаємості хворих із хронічною патологією, яка підвищує ризик розвитку, а також розвитком резистентності збудників до антибактеріальних препаратів.

На думку вітчизняних авторів, неонатальний сепсис є також провідною причиною захворюваності та смертності новонароджених в Україні [18, 23, 60, 62]. У вітчизняних статистичних звітах розповсюдженість сепсису значно занижена через недосконалу діагностику даного захворювання. Неспецифічність клінічних проявів та відсутність специфічних уніфікованих лабораторних маркерів сепсису робить діагностику даного стану запізнілою [3, 12, 62].

Протягом останніх років багато досліджень присвячено ретроспективній оцінці розповсюдженості сепсису та септичного шоку серед дітей різних вікових груп. [157], однак і вони не дають повної картини захворюваності на сепсис серед дітей у розвинених країнах через неоднорідність критеріїв, що використовуються для діагностики сепсису.

Актуальність питання діагностики та обліку сепсису підтверджується змінами, які були внесені у МКХ-10 у версії 2016 року: стару рубрику «септицемія» замінено на 25 рубрик (з 32) «сепсис» із вказівкою на етіологічний чинник, додано рубрику септичний та ендотоксинний шок, синдром системної запальної відповіді (ССЗВ) інфекційного та неінфекційного генезу із поліорганною недостатністю (ПОН) чи без неї [109].

Згідно третього міжнародного консенсусу «Сепсис - 3», присвяченого визначенню понять сепсис та септичний шок, сепсисом називають стан, який у минулих переглядах визначався, як важкий сепсис, тобто наявність синдрому системної запальної відповіді (ССЗВ), доведеної або ймовірної інфекції та поліорганної недостатності [66, 173, 174].

Визначальним у прогнозі сепсису є рання діагностика до формування септичного шоку, летальність при якому становить 40 % [173, 174]. У зв'язку з цим, ведеться пошук біомаркерів ранньої діагностики генералізації інфекційного процесу та розвитку сепсису.

Визначення алельного поліморфізму певних генів надає можливість прогнозувати перебіг інфекційного процесу та вносити своєчасні корективи в терапію з метою попередження його генералізації.

Модель біомаркерів педіатричного сепсису допомагає ідентифікувати дітей високого ризику розвитку септичного шоку та смерті. Дослідження рівнів біомаркерів сепсису сприяє вчасній діагностиці прийняттю необхідних клінічних рішень і є критерієм якості терапії сепсису та септичного шоку [171].

Існує більше 100 біохімічних сполук, які досліджувались при сепсисі. Найбільш важливими виявились такі:

- CRP (C reactive protein) – СРБ
- IL-6 (Interleukine 6) - ІЛ-6
- PCT (Procalcitonin) – Прокальцитонін
- LBP (Lipopolysacharide binding protein) - Ліпополісахарид-зв'язуючий білок
- sCD14ST (Presepsin) – Пресепсин [171].

В Україні дослідження рівня пресепсину, як маркера сепсису, не проводилось.

Отже, необхідність пошуку ранніх біохімічних маркерів та визначення предикторів схильності до генералізації інфекційного процесу визначило вибір теми дисертації, її мету та завдання.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є фрагментом планової наукової роботи кафедри педіатрії факультету післядипломної освіти Вінницького національного університету імені М.І. Пирогова на тему: «Клініко-метаболичні порушення при інфекційних хворобах у дітей та методи їх корекції», номер державної реєстрації 0107U007151.

**Мета дослідження:** підвищити ефективність ранньої діагностики сепсису у дітей на підставі визначення діагностичної цінності рівнів туморнекротичного фактору -  $\alpha$ , прокальцитоніну та пресепсину сироватки крові з урахуванням поліморфізму гена туморнекротичного фактору -  $\alpha$  (308 G→A ), як предиктора генералізації інфекційного процесу.

**Завдання дослідження.**

1. Дослідити клінічні особливості перебігу сепсису у дітей.
2. Визначити етіологічну структуру сепсису та локалізованих бактеріальних інфекцій у дітей.

3. Дослідити клінічну значимість рівня С-реактивного білка, прокальцитоніну, туморнекротичного фактору -  $\alpha$ , пресепсину у сироватці крові, як маркерів ранньої діагностики сепсису у дітей.

4. Створити алгоритм диференційної діагностики сепсису та локалізованої бактеріальної інфекції.

5. Вивчити вплив алельного поліморфізму промоторної ділянки гена туморнекротичного фактору -  $\alpha$  (308 G $\rightarrow$ A), як предиктора розвитку сепсису у дітей.

6. Визначити кореляцію синтезу рівня туморнекротичного фактору -  $\alpha$  та видом поліморфізму промоторної ділянки гена, що його кодує.

*Об'єкт дослідження:* сепсис та локалізовані бактеріальні інфекції у дітей.

*Предмет дослідження:* рівень С-реактивного білка, прокальцитоніну, туморнекротичного фактору-  $\alpha$ , пресепсину у дітей із сепсисом, одноалельна мутація промоторної ділянки гена TNF- $\alpha$  (308 G $\rightarrow$ A).

*Методи дослідження:* клінічні, лабораторні: загально-клінічні, біохімічні (визначення С-реактивного білка та інших біохімічних показників для оцінки наявності синдрому поліорганної недостатності), імуноферментний метод (визначення рівня прокальцитоніну та туморнекротичного фактору -  $\alpha$  в сироватці крові), імунохемілюмінесцентний метод (визначення рівня пресепсину в сироватці крові), полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) та поліморфізм довжини рестриктивних фрагментів (ПДРФ) для визначення поліморфізму гена TNF -  $\alpha$ , бактеріологічні та статистичні методи (визначення медіани, середнього із визначенням довірчих інтервалів, розрахунок ризиків та співвідношення шансів, розрахунок критерію Стюдента, Манна-Уїтні, кореляційний аналіз Спірмена). Статистичну обробку результатів дослідження виконували на персональному комп'ютері Pentium у рамках статистичних пакетів Excel-2000, Statistica 6,0; графічні відображення результатів досліджень виконувались у межах пакету Excel-2010, Coreldraw 7,0.

**Наукова новизна одержаних результатів дослідження.** На підставі результатів проведеного дослідження визначено характер і частоту формування

первинного вогнища при сепсисі у дітей різного віку. Так, у 29,8% випадків воно локалізується у кістково-м'язовій системі, у ¼ хворих (25,5%) – у центральній нервовій системі, а у кожного п'ятого пацієнта (19,2%) – у ЛОР-органах. Уперше визначено показники ризику виникнення генералізованого інфекційного процесу за даної локалізації первинного вогнища інфекції, що становить, відповідно: у ЛОР-органах - ВШ – 2,98 ДІ 95 % [2,37-3,74], грудній порожнині - ВШ – 2,58 ДІ 95 % [1,41-4,71], ЦНС - ВШ – 2,2 ДІ 95 % [1,2-4,0].

Розширено уявлення щодо вікових особливостей локалізації первинного вогнища у дітей з бактеріальними інфекціями. Так у дітей віком від 1 місяця до 1 року найчастіше формування первинного вогнища є в ЦНС (55,6%), у 2-5 р. – органах черевної порожнини, а у підлітків – ЛОР-органах та кістково-м'язовій системі.

Встановлено, що генералізація інфекційного процесу із розвитком сепсису зустрічається у дітей грудного віку в 1,9 рази частіше, ніж у дітей інших вікових груп.

Вперше в Україні було проведено визначення рівня пресепсину (ПСП) у дітей із локалізованими бактеріальними інфекціями та сепсисом. Встановлено його діагностичні значення для різного рівня розповсюженості інфекційного процесу: при рівнях ПСП 200-450 пг/мл діагностували локалізовану інфекцію, при рівні вище 500 пг/мл – сепсис.

Розширено уявлення про діагностичну цінність рівнів С-реактивного білка, туморнекротичного фактору -  $\alpha$ , прокальцитоніну та пресепсину для проведення диференційної діагностики сепсису та локалізованих бактеріальних інфекцій у дітей. Так, при сепсисі рівень туморнекротичного фактору -  $\alpha$  був у 1,5 рази, прокальцитоніну – у 4,7 разу, а пресепсину – у 6 разів вищим, у порівнянні з аналогічними показниками у дітей з локалізованою бактеріальною інфекцією ( $p < 0,05$ ). При цьому виявлено найвищу специфічність (96 %) та чутливість (97 %) саме у пресепсину.

Доповнено і розширено діагностичні можливості щодо раннього виявлення септичного шоку у дітей, ризик якого за рівня ПКТ $>4$  нг/мл зростає у 5,3 рази, а ПС $>4,500$  пг/мл - у 40 разів.

Показано, що за наявності у дітей мутації у вигляді гомозиготного поліморфізму промоторної ділянки гена туморнекротичного фактору -  $\alpha$  (A/A), чи гетерозиготного (A/G) у точці -308 трапляється вища схильність до генералізації інфекційного процесу, у порівнянні з дітьми, які є гомозиготами (G/G), тобто мають дикий варіант поліморфізму в досліджуваній точці. Виявлено, що мутований гомозиготний варіант гена, який кодує синтез TNF - $\alpha$  (A/A) в точці -308, асоціює з вищим синтезом TNF -  $\alpha$ , що призводить до гіперергічної відповіді на інфекційний процес та більш швидкої генералізації інфекції.

**Практичне значення отриманих результатів.** Проведені клініко-лабораторні дослідження дозволили отримати нові дані щодо патогенетичних і генетичних особливостей розвитку сепсису у дітей.

Встановлено, що для діагностики бактеріального інфекційного процесу доцільним є визначення рівня прокальцитоніну та пресепсину сироватки крові: рівень ПКТ вище 2 нг/мл (RR – 5,3 S-0,27 CI 95 % 3,45-8,16), рівень ПСП вище 500 пг/мл (RR – 4,95 S-0,52 CI 95 % 1,78-13,46).

Запропонований новий генетичний предиктор схильності до розвитку генералізації інфекційного процесу. Його визначення дозволить вчасно розпочати лікування у повному обсязі або рекомендувати додаткові щеплення для попередження важких генералізованих форм специфічних інфекцій, зокрема менінгокової у носіїв із мутованим гомозиготним (A/A) або гетерозиготним (A/G) поліморфізмом промоторної ділянки гена туморнекротичного фактору -  $\alpha$  в точці -308.

Рекомендовано з метою диференційної діагностики локалізованої бактеріальної інфекції та сепсису проводити дослідження рівня пресепсину в сироватці крові, як найчутливішого, із досліджуваних, біомаркерів (специфічність 92% та чутливість 93%).



На основі отриманих даних розроблено алгоритм диференційної діагностики сепсису у дітей.

Фрагменти дисертації захищені патентами на корисну модель та нововведеннями: Патент України на корисну модель № 77626 «Спосіб прогнозування генералізації інфекційного процесу у дітей» (77626, Бюл. № 4 від 23.02.2013), Патент України на корисну модель № 114595 «Спосіб диференційної діагностики генералізованого та локалізованого гнійно-септичного стану у дітей» (114595, Бюл. № 5 від 10.03.2017), інформаційний лист про нововведення у сфері охорони здоров'я «Диференційна діагностика локалізованих та генералізованих форм бактеріальних інфекцій у дітей» (№ 306-2012).

**Результати дослідження впроваджено в практику роботи дитячих лікувально-профілактичних закладів охорони здоров'я Хмельницької, Вінницької та Чернівецької областей.**

**Особистий внесок здобувача.** Дисертантом проведено аналітичний огляд літератури, патентний пошук по темі дисертації. Особисто проведено клінічне обстеження дітей усіх досліджуваних груп. Визначення рівня TNF- $\alpha$  та прокальцитоніну методом ІФА проводилось в клініко-діагностичній лабораторії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова (керівник к.мед.н., доц. Шатько О.І.), визначення поліморфізму промоторної ділянки гена, що кодує синтез TNF- $\alpha$ , проводилось в «Центрі молекулярної генетики» м. Москва (генеральний директор д.біол.н., проф. Поляков А.В.) та в лабораторії епігенетики ДУ «Інститут геронтології імені Д.Ф. Чеботарьова НАМН України» (завідуючий д.мед.н. проф. Вайсерман А.М.), рівень пресепсину та прокальцитоніну - в клініко-діагностичній лабораторії Першої міської клінічної лікарні м. Мінськ, Республіка Білорусь (зав. лабораторією лікар вищої категорії Борисенко Т.Д.)

Автором самостійно здійснено обробку результатів дослідження та їх логічний статистичний аналіз, написані всі розділи дисертації, сформульовані та обґрунтовані висновки та практичні рекомендації. Здобувачем оформлено дисертацію та автореферат. Всі розділи висвітлено у фахових журналах, що входять в міжнародні наукометричні бази, та рекомендовані МОН України. Забезпечено впровадження

отриманих результатів в лікувальний процес у закладах Хмельницької, Вінницької та Чернівецької областей.

**Апробація результатів дослідження.** Основні положення дисертації та результати дослідження доповідалися та обговорювалися на Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій Всесвітньому дню здоров'я 2012 р. «Старіння та здоров'я» (м. Київ 2012 р.); науково – практичній конференції «Медико – соціальні проблеми здоров'я населення: від малюка до дорослого» (м. Харків, 2012р.); «Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти» (м. Суми, 2015р.); XIII з'їзд педіатрів України «Актуальні питання педіатрії» (м. Київ, 2016 р.).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 16 наукових робіт, з яких 6 статей, в тому числі 5 з них у фахових медичних виданнях України, із них 1 – моноавторська, 1 стаття – у зарубіжному виданні, 2 деклараційних патенти на корисну модель, 1 інформаційний лист на нововведення в системі охорони здоров'я, 7 наукових праць надруковані у матеріалах науково-практичних конференцій.

**Обсяг і структура дисертації.** Робота викладена на 160 сторінках тексту і складається із вступу, огляду літератури, методів досліджень і 3 розділів власних досліджень, узагальнення отриманих результатів, висновків та практичних рекомендацій, списку використаної літератури, додатків. Дисертація ілюстрована 30 таблицями, 18 рисунками. Бібліографічний показник включає 60 першоджерел вітчизняної та 127 – зарубіжної літератури.

## РОЗДІЛ І

### СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ЕТІОЛОГІЮ, ЕПІДЕМІОЛОГІЮ, ПАТОГЕНЕЗ РОЗВИТКУ ТА ДІАГНОСТИКУ СЕПСИСУ У ДІТЕЙ ( аналітичний огляд літератури )

Сепсис – це патологічний процес, в основі якого лежить реакція організму у вигляді генералізованого (системного) запалення, викликаного інфекцією, різної етіології (бактеріальної, грибкової). Він є важливою клінічною проблемою з високою летальністю та значними економічними витратами [2, 18, 53, 60, 128].

Визначали такі різновиди сепсису: септицемію та септикопемію. Септицемія - форма сепсису, для якої характерним є різко виражений інтоксикаційний синдром, висока реактивність організму (гіперергія), відсутність гнійних метастазів і швидкий (блискавичний) перебіг. Септикопемія — форма сепсису, при якій провідним є наявність гнійних процесів у воротах інфекції і бактеріальна емболія з утворенням відсівів у багатьох органах і тканинах [59].

В теперішній час сепсис розглядається як інфекційно-індукований синдром, який характеризується багатьма клінічними симптомами, включаючи лихоманку або гіпотермію, лейкоцитоз або лейкопенію, тахікардію, тахіпное та розвитком ознак органної дисфункції [173, 174]. Численні спроби пошуку специфічної терапії для зниження захворюваності і летальності при сепсисі не виправдали сподівань, однак ці невдачі прискорили зміну поглядів на патофізіологію сепсису і призвели до висновку, що сепсис – більше ніж виключно запальний процес [54].

#### 1.1 Етіологія та патогенез сепсису у дітей

На початку ХХІ століття сепсис залишається однією з самих актуальних проблем сучасної медицини в силу неухильної тенденції до зростання захворюваності і стабільно високої летальності [18, 23, 53, 60].

Не зважаючи на численні клініко-експериментальні дослідження летальність від сепсису коливається в межах 20-50 %, а у хворих на септичний шок 40-70 % [49, 51, 58]. Максимальні показники летальності простежуються у групі хворих з криптогенним сепсисом (41,2 %), при локалізації первинного вогнища в органах дихання (32,9 %), на клапанах серця (33,1 %), в ЦНС (29,5 %), у хворих з септичним шоком досягає 80 % [59]. До того ж, захворюваність на сепсис збільшується щорічно, вірогідно, головним чином через збільшення числа пацієнтів з імунодепресією, збільшенням стійкості збудників до антибіотиків [187]. Так, з 2000 до 2008 року госпіталізація з приводу сепсису в США збільшилася більш ніж у двічі, від 326000 до 727000 згідно звіту Центру з контролю захворювань (Center for Disease Control).

Сепсис і септичний шок є однією з частих причин летальності в педіатричних відділеннях інтенсивної терапії і однією з головних причин дитячої смертності в усьому світі. У розвинених країнах за даними В. Goldstein, Е. Kocabaş, Saez-Lopez та ін. летальність серед дітей від сепсису складає від 10 %, до 70 % [108, 145, 150, 152, 182].

У США щорічно сепсис діагностується в 42364 дітей віком до 19 років, що складає в середньому 0,56 випадків на 1000 населення з яких 4383 (10,3 %) закінчується летально, що складає 6,2 на 100 тис. населення. Найбільший рівень захворюваності спостерігається серед новонароджених і складає 5,16 на 1000 населення. У дітей старшого віку (10-14 років) - 0,20 на 1000 населення. На 15% сепсис частіше діагностується у хлопчиків ніж у дівчаток (0,60 проти 0,52 на 1000 населення) [85, 118, 127, 132, 168, 182, 184].

Основними патологіями, які призводили до розвитку септичних станів у 49% дітей, були респіраторні або серцево-судинні захворювання (переважно вади серця) у немовлят, нервово-м'язові захворювання у дітей віком 1-9 років та онкологічні захворювання у дітей старшого віку [128, 132, 168, 182].

В Англії летальність від сепсису серед хворих дітей віком молодше 4-х років складає понад 10 %. Приблизно 1000 дітей з тяжким сепсисом госпіталізують у відділення інтенсивної терапії щорічно з яких помирають 20 % [127].

Сепсис залишається основною причиною летальності серед хворих дітей Латвії, яка складає 24,4 %. Серед основних причин сепсису є респіраторні захворювання ( 54,5 %), абдомінальна патологія ( 17,4 %) [88, 89].

Середня тривалість госпіталізації немовлят зі сепсисом у США складає 74 доби з вартістю лікування 75000 \$. Середня тривалість госпіталізації у дітей старшого віку (1-19 років) складає 19 діб та вартістю - 19000 \$ [182].

Гнійно-септичні захворювання є одними з найрозповсюдженіших видів патології у хірургії дитячого віку, які відрізняються важким перебігом та супроводжуються високою летальністю. На долю гнійно-септичних захворювань припадає біля 6 % загальної кількості пролікованих дітей в багатoproфільній лікарні, а частота перитоніту після складних операцій сягає 10 % [14].

Серед факторів, які впливають на розвиток гнійно-септичних ускладнень слід відзначити несвоєчасну діагностику і нераціональне лікування гострих та хронічних синуситів у дітей [19].

Найважливішими факторами ризику летальності від сепсису за різними даними були: вік до 2-х років, наявність шоку або синдрому поліорганної недостатності, наявність супутньої патології, Грам(-) етіологічний збудник [31, 92, 118].

На сьогоднішній день у більшості крупних багатoproфільних медичних центрах частота Грам (+) і Грам (-) сепсису приблизно однакова. Це відбулося внаслідок збільшення ролі патології з Грам (+) збудниками, таких як *Streptococcus*, *Staphylococcus* и *Enterococcus* spp. Серед Грам (-) збудників, найчастіше викликають сепсис *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*. Збільшення кількості інвазивних методів лікування і посилення дії несприятливих факторів, що пригнічують систему протиінфекційного захисту організму, збільшили долю інфекцій, викликаних умовнопатогенними мікроорганізмами, особливо *S. Epidermidis*, *Proteus* spp., та непатогенними грибами (*Candida* spp., *Fusarium* spp., *Ascremonium* spp.). Серед популяції різних видів стафілококу, як етіологічного чинника сепсису, спостерігається неухильне зростання метицилін-резистентних штамів [53, 59, 77].

За даними Saha R.etal. (2010) серед етіологічних чинників сепсису Грам (-) флора складає 25-30 %, Грам (+) флора - 30-50 %, змішана флора - 11-19 %, а гриби та рикетсії - 1-4 % випадків [170].

Найчастішими причинами сепсису є *Staphylococcus aureus* та *E. coli*, висока летальність характерна для *Pseudomonas aeruginosa* [165].

Окремо слід виділити менінгококову інфекцію (МІ), яка найширше розповсюджена серед дітей. МІ протікає у формі бактеріального менінгіту в 10-15 % випадків, у генералізованій формі (менінгококовий сепсис) – 15-25 %, у комбінованій формі – 40-60 % випадків [74, 126]. Загальна летальність при МІ складає 8-10 % (5 % для менінгіту і 15-20 % для сепсису) [147].

Сепсис розглядається як тяжке поліетіологічне інфекційне захворювання. Воно обумовлене постійним або періодичним надходженням у кров мікроорганізмів із вогнища гнійного запалення та характеризується генералізованим характером, ациклічним перебігом в організмі зі зміненою реактивністю, при якій макроорганізм не здатний локалізувати інфекційний процес [59].

Нова парадигма, яка радикально змінює погляди на патофізіологію сепсису, розглядає його, як неконтрольований каскад змін в системі гомеостазу і запалення, які виникають одночасно, як цикл автоматичного накладання взаємообумовлюючих процесів з наступним пошкодженням ендотелію судин, мікросудинною дисфункцією, ішемією, розвитком органної недостатності [54].

Переважну частину досліджень патогенезу сепсису сконцентровано на фазі ініціації сепсису, що сприяє глибшому розумінню його патогенезу [183].

Серед сучасних теорій розвитку сепсису можна відзначити ряд ключових.

Теорія гіперзапалення, яка пояснює розвиток сепсису за рахунок раннього надмірного виділення прозапальних цитокінів у вогнищі інфекції у відповідь на бактеріальну інвазію. (Бархатова Н. А.)

Теорія імунодепресії - визначає розвиток сепсису за рахунок гіперпродукції протизапальних цитокінів Т-хелперами 2 типу і макрофагами під дією агресивного фактора, відсутність проліферації Т-хелперів 1 і 2 типу і будь-якої реакції на інвазію

збудника (анергія), апоптоз-індукована втрата клітин імунної системи. (Бархатова Н. А.)

Синтезом двох вищевказаних теорій стала Теорія двофазної відповіді, яка полягає в тому, що на ранній стадії сепсису імунна активність різко зростає із виникненням синдрому системної запальної реакції (ССЗР), а потім різко знижується (компенсаторна протизапальна реакція), що призводить до імунодепресії.

Продовженням теорії двофазної відповіді стала теорія «хаосу», яка передбачає не тільки різнонаправленість імунних реакцій, але й абсолютну випадковість «включення» того чи іншого виду реакції на попадання патогену.

Теорія «небактеріального» сепсису відводить роль у розвитку сепсису малим молекулам мікробного походження, які активують імунну систему та синтез прозапальних цитокінів.

Теорія імунного дисбалансу пояснює різноманітність зворотної імунозапальної реакції організму на бактеріальну інвазію. Згідно даної теорії існує два основних шляхи розвитку патогенезу сепсису, які визначають розвиток 4 клінічних варіантів перебігу генералізованої форми інфекції: компенсованого ССЗР, сепсису, важкого сепсису і септичного шоку [5, 157].

Головним ланцюгом в патогенезі сепсису є, так звані, патогенасоційовані молекулярні структури - pathogen associated molecular patterns (PAMPs) та їх розпізнання рецепторами PAMP. Рецептором розпізнавання вважається CD14, який є глікопептидом на поверхні макрофагів, моноцитів і нейтрофілів. До PAMPs відносяться компоненти клітинної стінки бактерій: Грам(-) бактерій - ліпополісахарид (ЛПС) та Грам (+) бактерій - пептидоглікани, ліпотейхоева та глюкуронова кислоти. До PAMPs клітинної стінки грибків належать глікани, зовнішній мембранний білок, флагелін, джгутики та ін.. Найбільш патогенним з вищеперліченого є ЛПС [79, 80, 128, 148, 165, 170]. При проникненні у системний кровообіг вони зв'язуються із рецепторами PAMP, які взаємодіють з TLR-2, TLR-4 рецепторами на поверхні моноцитів, нейтрофілів та інших клітин, що призводить до

синтезу і секреції в кров прозапальних цитокінів, фізіологічні ефекти яких визначають клінічну картину сепсису (Рис. 1.1) [36, 53, 108, 122, 151].

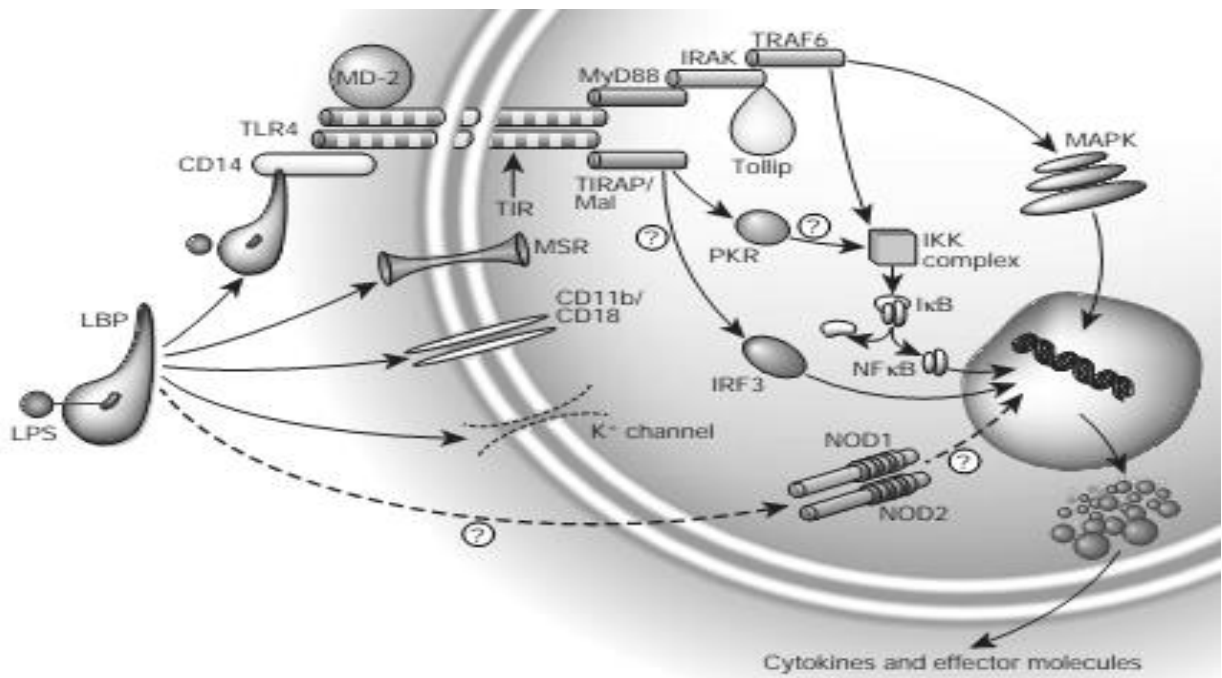


Рисунок 1.1 - Розпізнавання клітинною поверхнею ЛПС.

Впізнавання клітиною ЛПС відбувається через зв'язаний ЛПС білок (LBP) - комплекс ЛПС, який в подальшому сигналізує через Toll-like receptor 4 (TLR4)-MD-2 комплекс. Однак інші молекули поверхні клітини також сприймають сигнал від ЛПС, а саме: макрофагальний нейтралізуючий macrophage scavenger receptor (MSR), CD11b/CD18 та іонні канали. Внутрішньоклітинна передача сигналу залежить від закріплення внутрішньоклітинного TLR домену TIR (Toll/IL-1 receptor homology domain) до ділянки IRAK (IL-1 receptor-associated kinase). Цей процес полегшується двома білками адаптеру MyD88 (myeloid differentiation protein 88) та TIRAP/Mal (Mal TIR domain-containing adapter protein). Слід відзначити, що MyD88-незалежний шлях, тоді як TIRAP/Mal сигналізує через РНК-залежний білок кіназу (RNA-dependent protein kinase (PKR)) і інтерферон регулюючий фактор (interferon regulatory factor (IRF)-3). Нещодавно було визначено, що клітини можуть відповісти на дію ЛПС внутрішньоклітинними рецепторами NOD1 (nucleotide-binding oligomerization domain). NOD1 був ідентифікований на основі структурної



відповідності до регулятора апоптозу Араф-1. Експресія NOD1 і NOD2 відіграє важливу роль в реактивності організму на дію ЛПС [80].

Важливою особливістю Грам (+) бактерій є утворення потужних екзотоксинів, які спричиняють сепсис та септичний шок. Найбільш відомими є: токсин TSST-1, що виділяє *S. Aureus* та пірогенні екзотоксини *Str.pyogenes*. Летальність викликана ними при септичному шоку може сягати 50 %. Грампозитивні екзотоксини мають властивість суперантигенів, тобто вони зв'язуються з комплексом гістосумісності та рецепторами Т-лімфоцитів (TCR). При цьому вони викликають масивну Т-лімфоцитарну активацію і вивільнення прозапальних лімфокінів [80].

Викид прозапальних цитокінів відбувається через дію на імунні клітини та ендотелій екзо- і ендотоксинів бактерій. Тому дисемінація мікроорганізмів може бути короткочасною або відсутньою. Сумарні ефекти, викликані медіаторами, формують ССЗР, яка проявляється чотирма клінічними ознаками: гіпертермією, тахікардією, тахіпноє та лейкоцитозом [17, 53].

Медіатори, які беруть участь в розвитку ССЗР, класифікуються так: 1) цитокіни; 2) інтерферони; 3) ейкозаноїди; 4) активні форми кисню (АФК); 5) система комплементу; 6) стресові гормони (катехоламіни, кортизол, вазопресин та ін.); 8) фактори агрегації тромбоцитів (Бархатова Н. А.), 9) інші медіатори запалення, які виділяються макрофагами і нейтрофілами: лейкотрієни (D<sub>4</sub>, C<sub>4</sub>, E<sub>4</sub>), простагландин E<sub>2</sub>, простациклін, тромбоксан A<sub>2</sub>, серотонін. Цитокінова система включає в себе 5 класів, об'єднаних за їхнім домінуючим впливом на інші клітини:

- 1) інтерлейкіни: прозапальні (IL1, 6, 8, 12); протизапальні (IL4, 10, 11, 13);
- 2) фактор некрозу пухлини TNF- $\alpha$ ;
- 3) фактори росту і диференціювання лімфоцитів;
- 4) колонійстимулюючий фактор макрофагів і гранулоцитів;
- 5) фактори які синтезують мезентеліальні клітини [5, 56, 108].

Відомо, що цитокіни володіють широким спектром біологічних властивостей – взаємодіють між собою, утворюють універсальну мережу, яка запускає і регулює каскад запальних, імунних, метаболічних процесів, як локальних так і системних, направлених на нейтралізацію і елімінацію патогенних агентів [18, 56, 86, 99]. Так,

ендотоксин Грам (-) бактерій стимулює макрофаги і нейтрофіли до продукції TNF- $\alpha$ , IL1, 6, 8 і 12, екзотоксини Грам (+) бактерій активують Т клітини і моноцити до продукції IL1, 2, TNF- $\alpha$ , IF $\gamma$ . В той же час протизапальні цитокіни відіграють захисну роль, оскільки забезпечують надходження у вогнище інфекції нейтрофілів і макрофагів, стимулюють їх фагоцитарну і бактерицидну активність та елімінують патогени [56, 112, 122].

У дітей зі сепсисом розвивається важкий дисбаланс між прозапальними і протизапальними цитокінами, особливо між TNF- $\alpha$  і IL4 [145].

Цитокіни, простагландини та лейкотрієни утворюються при активації нуклеарного фактору (nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)) і мають прямий цитотоксичний вплив на клітини. Крім того, цитокіни активують фосфоліпазу A<sub>2</sub>, що призводить до утворення арахідонової кислоти та тромбоцитаактивуючого фактору (PAF). По циклооксигеназному шляху з арахідонової кислоти утворюються простагландини і тромбоксан [78, 80, 121, 151, 170, 187]. Ці медіатори пошкоджують ендотелій, що призводить до збільшення капілярної ексудації, а активований NO призводить до розширення судин і розвитку септичного шоку [122, 151].

Головними прозапальними медіаторами є TNF- $\alpha$  та IL-1. Роль TNF- $\alpha$  у розвитку сепсису пов'язана з: підвищенням прокоагуляційних властивостей ендотелію, активацією адгезії нейтрофілів, індукції виділення інших прозапальних цитокінів, стимуляції катаболізму, лихоманки, синтезу гострофазних білків [53, 64, 93, 122, 157, 187].

У ряді сучасних досліджень визначено роль у розвитку сепсису прозапального цитокіну IL-17. Він здатний стимулювати прозапальні реакції, сприяти продукуванню цитокінів IL-1b, IL-6 і TNF- $\alpha$  та забезпечувати перехресний зв'язок між лімфоцитами і фагоцитами. Підвищений рівень IL-17 мав негативні наслідки при сепсисі в експерименті на мишах [112, 187].

Важливу роль у регуляції системної і місцевої запальної реакції відіграє фактор пригнічення міграції (Migrationinhibitoryfactor - MIF). Сильними індукторами секреції MIF є бактеріальні екзотоксини і ендотоксини, прозапальні цитокіни, зокрема TNF- $\alpha$ , IF $\gamma$  і C5a. Активуючи макрофаги, Т і В лімфоцити, MIF відповідає за

вроджений і набутий імунітет. У гострій фазі сепсису, надмірна продукція MIF спричиняє важкість його перебігу. Пригнічення MIF знижує запальну відповідь і покращує виживання хворих на сепсис [78, 80].

У генезі гострої судинної недостатності, яка лежить в основі септичного шоку, провідна роль належить NO. Його концентрація збільшується в десятки разів внаслідок стимуляції макрофагів TNF- $\alpha$ , IL1. У подальшому секреція NO збільшується і його починають синтезувати клітини гладкої мускулатури стінки судин [53]. Висока концентрація NO викликає зниження периферичного судинного тонусу і зменшення відповіді судинної стінки на центральні і гуморальні стимули. Регуляція синтезу NO здійснюється за допомогою ферменту NO-синтази, яка існує в 2х конститутивних - ендотеліальній NO-синтази (eNOS), нейрональній NO-синтази (nNOS) і та індукційній (iNOS) формах. Деякі автори описують четверту форму NO синтази - мітохондріальна (mtNOS). Ліпополісахариди, TNF- $\alpha$  та IL-1 стимулюють продукцію ендотеліальними клітинами iNOS, з появою якої і пов'язаний неконтрольований синтез NO. Надмірна продукція NO підсилює автодеструктивні дії цитокінів і ендотоксинів, що призводить до посилення шоку [5, 56, 79, 85, 184]. NO активує циклічний гуанозин-монофосфат (cGMP), призводячи до активації cGMP-залежних протеїнкіназ (PKGs). Ефект цього ланцюга подій призводить до скорочення цитозольних рівнів кальцію і чутливості констрикторного апарату до його ендоплазматичного рівня, що в кінці призводить до вазодилатації [85].

У результаті взаємодії про- і протизапальних медіаторів можливий розвиток двох періодів сепсису. Перший період – гіперзапалення, що характеризується викидом надмірної кількості NO та прозапальних цитокінів (цитокіновий шторм). Цей період супроводжується розвитком шоку і раннім формуванням ПОН. Другий період - компенсаторний протизапальний ефект, який поєднується зі зниженням функціональної активності імунокомпетентних клітин – «іmunний параліч». Відбувається компенсаторне виділення протизапальних цитокінів, і швидкість їх секреції, концентрація в крові і тканинах поступово збільшується з паралельним

зниженням вмісту медіаторів запалення. У деяких хворих одразу відбувається формування стійкої протизапальної реакції [4, 53, 108, 119, 164, 179, 187].

У розвитку і прогресуванні запалення важливу роль відіграють ендотеліальні клітини. В умовах масивної бактеріємії і токсемії активовані макрофаги, лейкоцити, цитокіни сприяють прогресуванню неконтрольованої дисфункції ендотеліоцитів. Поверхня ендотелію набуває підвищеної тромбогенності і адгезивності і, як наслідок, виникають мікротромбози, порушення мікроциркуляції, вазодилатація, підвищення проникливості судинної стінки і гіпоксія тканин. У результаті цього виникають набряки і гіповолемія, ДВЗ-синдром, порушується кровопостачання життєвоважливих органів з виникненням їх дисфункції ПОН [5, 56, 64, 85].

Клінічно ДВЗ-синдром може зустрічатися в 30-50 % хворих на Грам (-) і Грам (+) сепсис. Основним медіатором активації коагуляції вважається ІЛ-6 [83].

Вивільнення прозапальних цитокінів (ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-12 і TNF- $\alpha$ ) призводить до експресії тканинного фактору (TF), зменшення рівнів антитромбіну з активацією коагуляції [117]. TF формує комплекс з VII фактором. Після активації комплексу активуються фактори згортання IX і X. У подальшому відбувається перетворення протромбіну в тромбін, що активується X фактором. Тромбін каталізує перетворення фібриногену в фібрин, що призводить до формування тромбу. Під час сепсису відбувається зменшення рівнів антикоагулянтних речовин таких як протеїн С, S-протеїн, антитромбін та ін.[85, 151, 155, 170]. Ці зміни призводять до системного формування мікротромбів і посилення гіпоксії тканин з розвитком ПОН [128].

Термін «поліорганна недостатність» (ПОН) вперше ввів у клінічну практику Н.Тилней в 1973 році [5]. На даний час ПОН розглядається як тяжка неспецифічна стрес-реакція організму внаслідок якої розвивається недостатність двох або більше функціональних систем. Вона обумовлена ураженням органів і тканин організму агресивними медіаторами з тимчасовим переважанням симптомів тієї чи іншої органної недостатності – легеневої, серцевої, ниркової та ін.. Найчастіше першим шокним органом при сепсисі у дітей є легені (86,4 %). На тлі гострого

пошкодження легень розвивається дисфункція інших органів. Особливістю ПОН у дітей є висока частота виникнення дисфункції ЦНС (57,4 %) [24, 58, 80].

Ураження ЦНС при сепсисі називається «сепсис-асоційована енцефалопатія», яка визначається як багатоголищеве ураження ЦНС без ознак інфекційного запалення у вигляді менінгіту, енцефаліту чи абсцесу [186].

Патогенез ПОН при сепсисі є багатофакторним і не до кінця вивченим (рис. 2.1). Недостатня перфузія тканин і гіпоксія є домінуючими факторами. Розповсюджене відкладання фібрину викликає капілярну оклюзію з порушенням капілярного гомеостазу. Клітинні інфільтрати, особливо з нейтрофілів, пошкоджують тканини безпосередньо, екскритуючи лізосомальні ферменти і АФК [80].

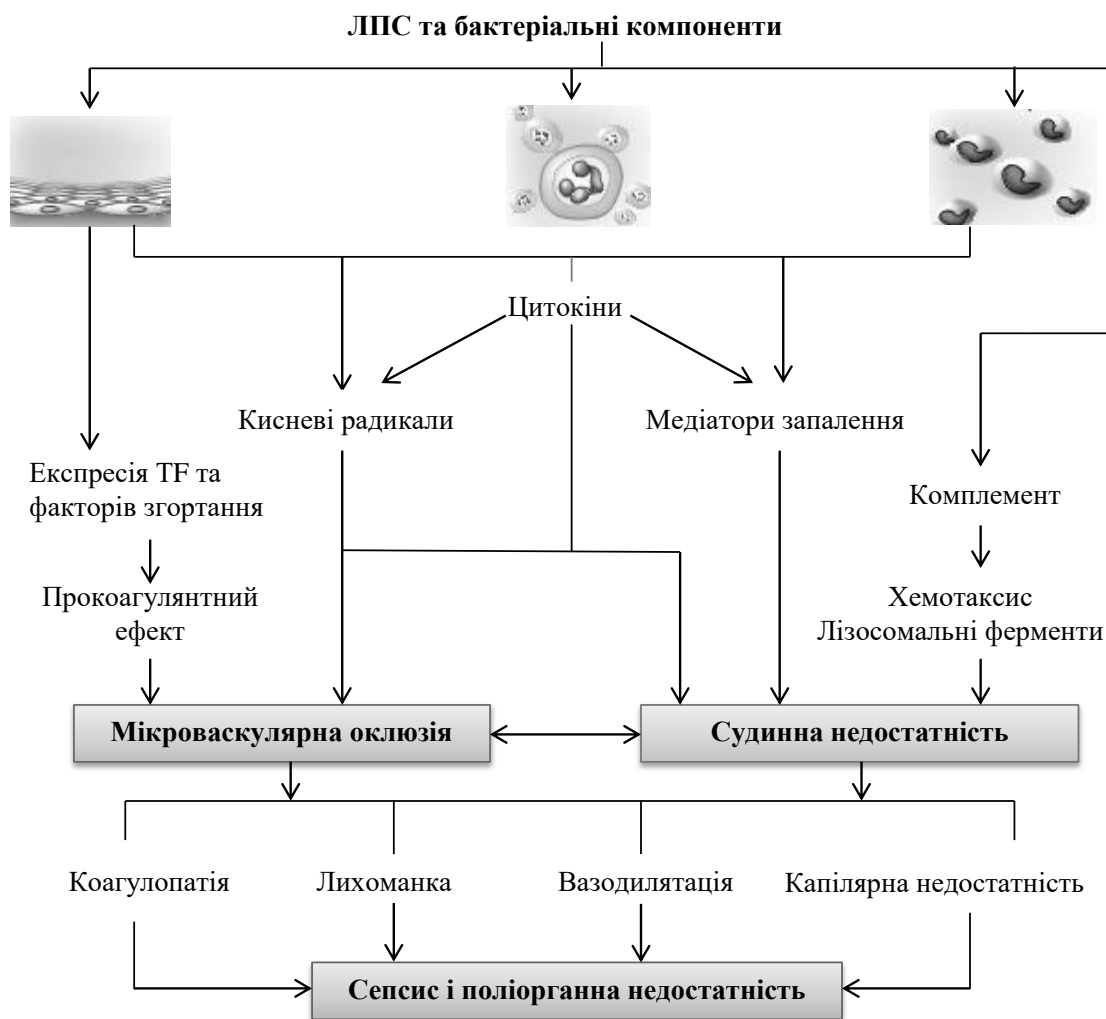


Рисунок 1.2 – Патогенез розвитку септичного шоку і ПОН [80]

У розвитку ПОН при сепсисі визначають 3 стадії: 1) індукована стадія – обумовлена підвищенням активності гуморальних і клітинних факторів, які активують ССЗР; 2) каскадна стадія – супроводжується надмірним продукуванням і активацією медіаторів запалення при недостатності факторів протизапальної системи; 3) стадія вторинної аутоагресії – вплив прозапальних медіаторів на власні тканини з розвитком синдрому клітинного гіперметаболізму, ендотоксикозу і ПОН з втратою здатності організму до самостійної регуляції гомеостазу [5].

Внаслідок дисфункції печінки, нирок, кишківника з'являються нові фактори пошкоджуючої дії, в ролі яких виступають проміжні і кінцеві продукти нормального обміну в високих концентраціях (лактат, сечовина, креатинін, білірубін), компоненти спотвореного обміну (альдегіди, кетони), речовини кишкового походження типу індолу, скатолу та ін. [53].

Найхарактернішою ознакою хірургічних інфекцій, викликаних умовнопатогенними мікробами є гнійне вогнище. Воно і є продуцентом субстанцій, що визначають виникнення, перебіг і прогноз інфекційного процесу. Причиною прогресування гнійної інфекції може стати перевищення числа мікробів над числом фагоцитів (або їх антибактеріальною активністю). При підвищенні рівня антигенів і токсинів над інактивуючою здатністю фагоциту настає гіперстимуляція останнього. Утворені при цьому токсичні продукти метаболізму фагоциту посилюють мікробне пошкодження тканин первинного вогнища, що сприяє розмноженню збудників. При досягненні критичного рівня концентрацій мікробів у первинному вогнищі ( $10^4$ - $10^5$  мікробних тіл на 1 г тканини) місцеві фактори захисту вже не здатні утримати вихід ушкоджуючих продуктів у кровотік, що призводить до генералізації інфекційного процесу. Нейтрофіли, активовані у вогнищі інфекції, набувають здатності до секвестрації в судинах і внутрішніх органах, спричиняючи їх пошкодження. У патогенезі цих реакцій велику роль відіграє каскадна активація у периферичній крові комплементу, системи згортання, медіаторів запалення та імунної відповіді. Пізніше пошкодження внутрішніх органів (через 2-4 тижні) обумовлене гіперактивацією макрофагів. Найчастіше розвивається порушення функції печінки,

зумовлене цитотоксичною дією купферовських клітин на гепатоцити. Часто спостерігається ураження нирок і легень [14, 134].

У патогенезі сепсису важливим фактором є втрата захисного бар'єру кишківника та проникнення мікроорганізмів і токсичних речовин у системний кровообіг. Крім того кишківник є джерелом прозапальних цитокінів [110, 116].

Наукові роботи останніх років виявили основні механізми патогенезу септичних станів та їх ускладнень. Але для глибшого розуміння патогенезу необхідні подальші дослідження, які відкриють нові можливості діагностики, лікування, профілактики розвитку ускладнень та зменшення летальності від сепсису.

Новим напрямком вивчення патогенезу виникнення гнійно-септичних захворювань є виявлення поліморфізмів генів регуляторних молекул. Які зумовлюють схильність до розвитку септичних станів і відіграють значну роль у перебігу і наслідках захворювання [39, 44].

Генетичний поліморфізм відіграє важливу роль в розвитку сепсису і його реакції на лікування. Детальний опис людського геному відкрив можливість ідентифікації між однонуклеотидним поліморфізмом (SNP - single nucleotide polymorphism) і хворобою. Гени, що кодують білки імунної системи, впливають на різний ступінь синтезу про- і протизапальних цитокінів, що обумовлює наслідки хвороби та розвиток ускладнень в окремих хворих. Незважаючи на наукові дослідження, які виявили вплив генетичних факторів на перебіг певних хвороб, частина спадкової мінливості не була повністю ідентифікована [67, 68, 81, 100].

Концептуальну основу предиктивної медицини складають уявлення про генетичний поліморфізм [46].

Під функціональним поліморфізмом розуміють поодинокі заміни нуклеотидів або тандемні повтори ділянок нуклеотидів у промоторній частині гену. Подібні зміни не відображаються на структурі білка, але в деяких випадках змінюють швидкість транскрипції мРНК (знижуючи або підвищуючи її) [52].

На відміну від мутацій, що призводять до патологічних змін і знижують життєздатність, генетичний поліморфізм виявляється у фенотипі менш виразно.

Разом із тим, генетичний поліморфізм далеко не завжди є нейтральним, значно частіше він призводить до появи білкових продуктів із дещо зміненими фізико-хімічними властивостями і, відповідно, параметрами функціональної активності. Так, «гени схильності» – алелі мутантів, які відразу після народження клінічно можуть не проявлятися, але, за певних несприятливих умов, призводять до розвитку того або іншого захворювання. [46, 102].

Сучасна концепція патогенезу інфекційних захворювань заснована на вивченні генетичних асоціацій специфічних кандидатних генів залучених у регуляцію імунної відповіді [25, 154].

Як показують наукові дослідження та клінічний досвід багатьох лікарів, відповідь індивідуума на інфекцію і антимікробну терапію значно відрізняється. Більшість пацієнтів можуть видужати без будь-яких ускладнень, а у деяких може розвинутися важкий сепсис, поліорганна недостатність, рефрактерна гіпотензія і, навіть, смерть. Як свідчать дані літератури, різноманітні одноточкові поліморфізми алелей генів цитокінів, або сигнальних систем зумовлюють силу відповіді на інфекційний агент, що в свою чергу обумовлює схильність до розвитку генералізованого інфекційного процесу, його перебіг і важкість [13, 36].

Отже, одним із важливих завдань досліджень проблем сепсису є пошук поліморфізмів генів, які визначають схильність/стійкість до його розвитку та ускладнень [25]. Генетичний та імунологічний аналізи можуть ідентифікувати дітей з високим ризиком розвитку сепсису і впливати на епідеміологію [182].

Варіації в генах, що кодують про- та антизапальні цитокіни, рецепторні білки імунних клітин, можуть впливати на їх баланс обумовлюючи загальну сприйнятливість дитини до сепсису [46].

C-реактивний протеїн – реагент гострої фази, зазвичай збільшується в умовах розвитку інфекційного та неінфекційного запального процесу, здатний активувати опсонізацію і модулювати синтез прозапальних цитокінів. У гомозигот з поліморфізмом СРБ 1444С/Т і 1444С/С більш високі базальні рівні СРБ у сироватці крові, порівняно з гетерозиготами з 286 С/Т/А поліморфізмом. У хворих із генотипом 1444 С/С, при потраплянні в їх організм ЛПС, розвивалася фебрильна



лихоманка та реєструвалися вищі рівні TNF- $\alpha$ , IL-6 у сироватці крові, що може бути ознакою підвищеної схильності до розвитку сепсису та важкості його перебігу [124].

Прозапальним цитокином, зі широким спектром біологічних функцій є TNF- $\alpha$ , який відіграє важливу роль у патогенезі сепсису. Експресія TNF- $\alpha$ , як і інших цитокинів, регулюється мутаціями і поліморфізмами (SNP single nucleotide polymorphism) їх генів у залежності від локалізації в промоторній ділянці. Ген TNF- $\alpha$  картований на короткому плечі 6 хромосоми (6p21.3) в локусі кодуючого молекули комплексу гістосумісності - HLA-A, B, C та HLA-DP, DQ, DR. Відомо 43 поліморфізми (34 SNP, 9 делецій), 9 з яких асоційовані з різними новоутвореннями, захворюваннями серцево-судинної системи та органів дихання [1, 52, 115, 144, 178].

Розташування в середній частині геному визначає велику варіабельність локусу, в особливості промоторна зона гену TNF- $\alpha$  включає вісім поліморфних ділянок з одинарними нуклеотидними замінами: -1031T/C, -863C/A, -857C/A, -575G/A, -376G/A, -308G/A, -244G/A, -238G/A, два з яких є найважливішими. Це поодинокі нуклеотидні заміни гуаніну на аденін в положеннях -308 (G/A) і -238 (G/A), які викликають зміни рівня продукції TNF- $\alpha$ , тобто являються функціональними і є найбільш розповсюджені серед європейської раси. Поліморфізм -308 підвищує транскриптивну активність гену TNF- $\alpha$  і, відповідно, продукцію цитокіну. Найактивніша транскрипція поліморфного гену TNF- $\alpha$  (-308A/A) відбувається в макрофагах: у них вона в 5 разів вища ніж транскрипція нормального гену -308G/G, що може відображатись на збільшенні розвитку запальних та імунних реакцій [52, 71, 115, 178].

Ще однією поліморфною ділянкою гену TNF- $\alpha$ , яка впливає на продукцію цитокіну, є -238. Однак, у даному випадку заміна гуаніну на аденін призводить не до підвищення, а до пониження продукції TNF- $\alpha$  [52, 154].

Враховуючи вплив TNF- $\alpha$  на розвиток сепсису і його ускладнень, було висунуто гіпотезу, що на результат бактеріальних інфекцій можуть впливати генетичні зміни, які відповідають за підвищену продукцію TNF- $\alpha$ . Підтвердження дана гіпотеза отримала при генотипуванні дітей інфікованих менінгококом. Результати показали, що наявність хоча б однієї копії високопродукуючої алелі -

308\*А у генотипі дитини підвищує вірогідність летального наслідку в 2,5 рази. На основі цього алель -308\*А гена TNF- $\alpha$  була визнана фактором ризику при менінгіті. Ризик летального наслідку також збільшувався серед новонароджених з малою масою, інфікованих госпітальною флорою. Смертність дітей з поліморфним генотипом -308 (A/G, A/A) була в 3 рази вищою, порівняно з носіями гомозиготного варіанту (-308 G/G) гену TNF- $\alpha$ . Іншими дослідженнями було визначено, що наявність хоча б одного алелю -308\*А в генотипі пацієнтів зі септичним шоком є предиктором летального кінця в 92 % випадків, тоді як при відсутності аланіну в даному алелі смертність складає 62 %[33, 39, 44].

При стимулюванні клітин крові ЛПС у людей з генотипом TNF- $\alpha$ -308А збільшується синтез TNF- $\alpha$  [68, 75, 144, 165, 175, 180]. Однак пошук генетичної асоціації між алелю TNF- $\alpha$ -308А і сепсисом у людини давали не послідовні результати. Так у дослідженні проведеному вченими на дітях, що проживали в Таїланді, було визначено відсутність зв'язку між поліморфізмом гену TNF- $\alpha$ -308G/A і розвитком сепсису та септичного шоку [101]. Разом з тим, у ряді спостережень представлені докази участі поліморфізму гену TNF- $\alpha$ -308G/A у розвитку септичних станів, особливо важкого септичного шоку та смерті [115, 178].

У дослідженні А. М. Мироманова та ін. (2013) було визначено, що гетерозиготний тип мутації гену TNF- $\alpha$ -308 вдвічі підвищує вірогідність розвитку запальних ускладнень при переломах довгих кісток кінцівок. Визначення -308A/A генотипу TNF- $\alpha$  може використовуватися в якості несприятливого прогностичного критерію у розвитку гнійно-септичних ускладнень у пізній післяопераційний період [45].

Багато дослідників констатують, що поліморфізм гену, який кодує TNF- $\alpha$ , впливає на клінічний перебіг та результати при менінгококовій інфекції, бактеріемії [46], а також на перебіг саркоїдозу [176].

В інших дослідженнях було показано, що хворі із гомозиготним варіантом алелю TNF- $\beta$ , а саме TNFB2 (B2/B2), демонструють вищу смертність від сепсису, ніж хворі з гетерозиготним (B1/B2) або гомозиготним (B1/B1) генотипом. Крім того, гомозиготність по алелю TNFB2 була пов'язана з підвищеним рівнем

циркулюючого TNF-  $\alpha$  і вищими балами за шкалою оцінки ПОН у хворих на сепсис [8].

Однак, дослідження генетичного поліморфізму регуляторних молекул і речовин при різноманітних захворюваннях, майже не торкались проблем гнійно-септичних ускладнень при різних патологічних станах у дітей. В Україні такі дослідження взагалі не проводилися. Тому вивчення генетичного поліморфізму цитокінів, які беруть участь у патогенезі сепсису різної етіології та його ускладнень є перспективним, як в теоретичному, так і практичному відношенні.

## 1.2 Діагностика сепсису на сучасному етапі

У 1991 році на погоджувальній конференції Американського коледжу торакальних хірургів - American College of Chest Physicians (ACCP) і Товариства спеціалістів критичної медицини - Society of Critical Care Medicine (SCCM) було уніфіковано термінологію септичних станів з використанням поняття синдрому системної запальної відповіді – systemic inflammatory response syndrome (SIRS) [72]. Були розроблені і впроваджені в практику критерії ССЗР, що дозволило розглядати сепсис як вогнище інфекції з наявністю двох і більше ознак ССЗР [59, 88, 164, 166]. Затверджені критерії ССЗР та сепсису, що використовувалися у дорослих, у 2002 р. на Міжнародній консенсусній конференції з питань педіатричного сепсису (IPSSC), результати роботи експертної комісії були опубліковані в 2005 р. [108, 129, 185]. Критерії діагностики сепсису і класифікації в таблиці [2, 20, 53, 59, 85, 162].

Таблиця 1.1 – Критерії діагностики і класифікації ССЗР та сепсису згідно IPSSC (2005) [108]

Патологічний процес	Клініко-лабораторні ознаки
<p>ССЗР – системна запальна реакція організму на дію різних чинників (інфекція, травма, оперативне втручання, та ін.)</p>	<p>Присутність щонайменше 2-х із наступних 4-х ознак, одна з яких обов'язково – аномальна температура або змінена кількість лейкоцитів:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Тахікардія (ЧСС, що перевищує 2 квадратичних відхилення від вікової норми, при відсутності зовнішніх стимулів, тривалого прийому лікарських засобів, больового стимулу, або будь який інший персистуючий підйом протягом 0,5-4 год) для дітей менше 1 року – брадикардія, (середня ЧСС менше 10-го вікового перцентиля при відсутності зовнішнього вагусного стимулу, призначення β-блокаторів чи вроджених вад серця, чи інша, з невизначеною причиною депресія тривалістю більше 0,5 години);</li> <li>- центральна температура <math>\geq 38,5^{\circ}\text{C}</math> або <math>\leq 36^{\circ}\text{C}</math>;</li> <li>- середня ЧД, перевищує 2 квадратичних відхилення від вікової норми, або є потреба в ШВЛ при гострому процесі, який не обумовлений нейром'язовими захворюваннями чи дією загальної анестезії;</li> <li>- число лейкоцитів збільшено або зменшено відповідно до вікових норм (тільки не лейкопенія індукована хіміотерапією), або кількість незрілих форм нейтрофілів перевищує 10%</li> </ul>
Інфекція	<p>Передбачувана чи доведена (висівання збудника, гістологічне підтвердження інфекції, або позитивні дані ПЛР), викликана будь-яким патогеном, або клінічний синдром, який з високою ймовірністю асоційований з інфекцією. Доведення інфекції включає в себе позитивні знахідки або клінічне пояснення методів візуалізації або лабораторних тестів (лейкоцити в стерильних рідинах, перфорація внутрішніх органів, рентгенологічні дані, які підтверджують пневмонію, петехіальний або пурпурний висип, або гостра пурпура)</p>
Сепсис	<p>ССЗР в присутності або, як результат передбачуваної чи доведеної інфекції</p>
Тяжкий сепсис	<p>Сепсис, який поєднується з серцево-судинною дисфункцією або РДС-синдромом або дисфункцією двох та більше органів.</p>
Септичний шок	<p>Сепсис з ознаками тканинної і органної гіперперфузії і артеріальною гіпотензією, які не усуваються інфузійною терапією і потребують введення катехоламінів.</p>

Позитивна гемокультура зазвичай є ознакою сепсису, але негативні результати посіву крові не виключають наявності сепсису, оскільки в половини хворих з картиною сепсису бактеріємія відсутня. Прогресування процесу в цих випадках обумовлене тригерною дією прозапальних цитокінів[17].

Для оцінки важкості сепсису та вираженості органної недостатності у педіатричній практиці використовуються такі шкали: PELOD (Pediatric Logistic Organ Dysfunction Score) та модифікована для педіатричної практики P-MODS (Pediatric Multiple Organ Dysfunction Score). Для оцінки ризику смерті – PIM-2 (Pediatric index of mortality) та PRISM - II (pediatric risk of mortality). Кожна зі шкал містить ряд показників, величина яких оцінюється в балах в залежності від суми балів робиться висновок про ступінь органної дисфункції та ризик розвитку летального кінця.

ССЗР може мати неінфекційну етіологію. Тому для диференційної діагностики необхідні специфічні чутливі маркери, але визначення більшості з них є дорогим [29, 49, 136]. Бактеріологічні дослідження можуть бути хибнопозитивними через контамінацію біоматеріалу, їх чутливість не перевищує 25-42 %, а негативні результати не виключають наявності інфекції [7, 48]. Ідеальний метод діагностики інфекційного ССЗР має бути не дорогим, не складним у виконанні, високоспецифічним і чутливим та сприяти ранній діагностиці сепсису [49].

Висока смертність від сепсису в більшості випадків обумовлена його пізньою діагностикою і неефективним моніторингом лікування. Рання діагностика сепсису дозволяє швидко розпочати антимікробну терапію, що дає шанс на виживання пацієнтів. Особливо актуально це питання стоїть у педіатрії [7, 48, 49, 98].

На міжнародній конференції, присвяченій педіатричному сепсису (2005 р.), одним з важливих питань діагностики, окрім основних клінічних характеристик, було запропоновано використовувати біохімічні маркери [75, 108]. Тому пошук чутливих маркерів ССЗР і сепсису залишається актуальним питанням [49, 89, 104, 136, 138, 171]. За даними одного з аналітичних оглядів за останні роки було вивчено більше ніж 178 біомаркерів сепсису. [49, 62, 63, 106].

Біомаркер – лабораторний показник, який може бути об'єктивно визначений і оцінений як індикатор біологічних процесів. Він повинен відповідати вимогам концепції SMART, тобто бути S – specific and sensitive – чутливим і специфічним, M – measurable – легко визначатися, A – available and affordable – доступним, R – responsive and reproducible – репродуктивним, T – timely – своєчасним [49, 62, 163].

З ідентифікацією медіаторів ССЗР виникли пропозиції використовувати деякі з них в якості маркерів сепсису. У септичних хворих спостерігається підвищення рівня цитокінів, включаючи IF- $\gamma$ , IL-6, 8, 10 [54, 70, 138]. Визначення рівня IF- $\gamma$  у сироватці крові є надзвичайно важким завданням, що зумовлено коротким періодом напіврозпаду [54, 70]. Багато досліджень показують, що у хворих на сепсис, у яких реєструється підвищена концентрація IL-6 у сироватці крові, частіше розвиваються ускладнення і летальний кінець [89, 107, 150]. У діагностиці розвитку ускладнень при сепсисі часто використовують рівень СРБ, який корелює з рівнем IL-6, але останій підвищується на 24-36 годин раніше [54, 70]. При Грам (-) сепсисі у новонароджених діагностична чутливість IL-6 складала 87 %, специфічність 50 % [163].

СРБ – який синтезує печінка, є білком гострої фази, вміст якого підвищується паралельно із рівнем цитокінів. Ряд авторів розцінюють його як показник чутливіший, ніж зміна кількості лейкоцитів чи температури тіла. Однак він є повільним реактантом і його підвищення спостерігається із запізненням, на 36-50 годин, що може призводити до несвоєчасно призначеного адекватного лікування [7, 48, 54, 73, 163]. Чутливість СРБ в діагностиці сепсису коливається від 44 % до 100 %, специфічність від 58 % до 98 %. СРБ - маркер запалення, а не бактеріальної інфекції, і може збільшуватися при інших патологіях, таких як вірусна інфекція, травми, онкопатологія та ін. [131, 163].

Діагностична чутливість TNF- $\alpha$  при бактеріологічно підтвердженому сепсисі складає 83,3%. Однак головний недолік використання його в якості маркера є короткий період напіврозпаду і висока вартість дослідження [163].

Еластаза поліморфноядерних нейтрофілів є специфічним маркером їхньої активації. Її концентрація у плазмі корелює з важкістю сепсису. За значенням дослідження еластази рівноцінне визначенню СРБ.

Розчинні E-селектини (sE-селектин) є маркерами активації ендотеліоцитів при ССЗР і ПОН [10]. При сепсисі також підвищується рівень таких медіаторів як адренomedулін, фосфоліпаза А<sub>2</sub>, ESM-1 (endothelial cell specific molecule), ліпополісахарид-зв'язуючий білок та ін. [54, 156].

У практиці сучасної неонатології використовується маркер пошкодження нервової тканини – специфічний білок астроцитарної глії S-100β. Який експресується астроцитами і мікроглією, бере участь у трансдукції сигналу, регуляції метаболізму нейронів, модулює проліферацію і диференціювання нейронів і глії. А з іншого боку його розглядають в якості перспективного маркера септичного процесу. Підвищення його рівня спостерігається у хворих дітей з бактеріологічно підтвердженим сепсисом і септичною енцефалопатією [7].

У теперішній час у клініці для діагностики сепсису використовуються лише декілька маркерів: ІЛ-6, СРБ, еластаза і прокальцитонін (ПКТ) [17, 73, 87, 88, 89, 131, 161].

До нових діагностичних критеріїв сепсису з 2008 року, Асоціацією медицини невідкладних станів США (Society of Critical Care Medicine) було включено концентрації СРБ і ПКТ [76, 126, 136, 166]. ПКТ також був схвалений FDA в якості маркера сепсису [164].

ПКТ на відміну від ІЛ-6, TNF-α володіє більшою стійкістю в розчині, його концентрація знижується за добу лише на 5 %. Концентрація ПКТ при сепсисі корелює з концентраціями цитокінів ІЛ-6, TNF-α та іншими обумовлює не доцільність їх визначення [11]. Отже, ПКТ є оптимальним маркером бактеріальної інфекції. Його чутливість і специфічність досягає 100 % у хворих окремих груп. Показано, що за рівнем ПКТ можна з високою достовірністю відрізнити сепсис Грам (-) і Грам (+) етіології [7, 48, 58, 87, 106, 156].

ПКТ – поліпептид з молекулярною масою 12795 кДа, який складається з 116 амінокислот і є попередником гормону кальцитоніну. Його структура записана в

геномі сімейства ПКТ, яке складається з 4-х генів, три з яких розташовані на короткому плечі 11-ої і один на 12-ій хромосомі. У фізіологічних умовах ПКТ синтезується С-клітинами щитовидної залози з препрокальцитоніну (преПКТ), який містить 141 амінокислотнимий залишок і має молекулярну масу 15466 кДа під впливом кальцій-залежних факторів. Препрокальцитонін є оригінальним продуктом гену *CALC-I* розташованого на 11 хромосомі (11p15.4), промотор якого зв'язаний з ділянками гену фактору транскрипції *NK-kB* [10, 11, 73, 102, 143, 180]. У подальшому в ендоплазматичному ретикулумі парафолікулярних клітин щитовидної залози від преПКТ відщеплюється 25 амінокислотних залишків і утворюється ПКТ [10, 11, 21, 49, 114, 143]. У результаті специфічного внутрішньоклітинного протеолізу за участю прогормон-конвертази, карбокси-пептидази і амінопептидази ПКТ розщеплюється на кальцитонін, катакальцин і N-кінцеву групу ПКТ. Увесь ПКТ метаболізується вказаним способом і не поступає у кровотік, тому його рівень у здорової людини дуже низький – близько 0,1 нг/мл [11, 49, 92, 124, 128]. При бактеріальній інфекції ПКТ виробляється поза щитовидною залозою практично в усіх органах [6, 89, 106, 105, 164]. Але ПКТ, який виробляється щитовидною залозою в нормі та ПКТ, що виробляється за її межами при сепсисі, виконують різні функції хоча мають подібну структуру [11].

Період напіврозпаду ПКТ складає 24 години і не залежить від функції нирок. До сьогодні не з'ясовано чим є ПКТ - цитокіном, гормоном чи білком активної фази. Це зумовлено тим, що він має характеристики усіх цих речовин. ПКТ також є індикатором важкості бактеріальної інфекції, на що вказує стійке підвищення його концентрації на тлі ПОН, при летальних випадках у дітей зі сепсисом [7, 48, 103, 114].

Встановлено, що головним і найсильнішим стимулятором продукції ПКТ є ендо- та екзотоксини. Дослідження концентрації ПКТ на здорових добровольцях, яким вводили ендотоксин *Escherichia coli* показало, що рівень ПКТ починав підвищуватися вже через 2 години і швидко збільшувався протягом 6-8 годин, досягаючи максимального плато через 12 годин. У наступні 2-3 доби його концентрація знижувалась до норми. Хоча точний механізм, який лежить в основі



стимуляції ПКТ при сепсисі, не з'ясований, отримані дані свідчать про тісний зв'язок продукції ПКТ з продукцією прозапальних цитокінів IL-6, TNF- $\alpha$  та ін. [8, 10, 12, 49, 137, 164].

Важливим аспектом практичного використання ПКТ є ідентифікація інфекційних і неінфекційних причин ССЗР [49, 58, 73, 164, 180]. Використання ПКТ в якості індикатора запалення і бактеріальної інфекції почалося з 1984 року, коли був виявлений феномен гіпокальціємії у жінок з стрептококовим септичним шоком. При подальшому дослідженні патогенезу шоку було виявлено, що гіпокальціємію викликає підвищений рівень ПКТ, який тоді називався «імунореактивний кальцитонін». Під дією бактеріальних токсинів і цитокінів збільшується транскрипція гену CALC-I, що призводить до активного синтезу ПКТ в концентраціях, які перевищують звичайні в 100-1000 разів. Чим більше підвищується рівень ПКТ у хворого при бактеріальній інфекції, тим несприятливіший прогноз [7, 10, 12, 73, 113]. Прозапальний ефект ПКТ обумовлений його здатністю з'єднуватися з рецепторами пептиду, зв'язаного з геном кальцитоніну (CGRP), який володіє протизапальним ефектом, та інактивується високими концентраціями ПКТ. Крім того, ПКТ підсилює хемоатрактацію лейкоцитів і синтез NO ендотеліоцитами [7, 10, 12, 21, 113]. ПКТ може спричиняти пошкодження тканин при сепсисі, а введення ПКТ-нейтралізуючої сироватки збільшує виживання тварин в експерименті. ПКТ збільшує експресію рецепторів CD16 і CD14 як і ЛПС, а також підвищує концентрацію внутрішньоклітинних іонів кальцію на зразок дії IL-8 [143].

Існують дані про можливі протизапальні властивості ПКТ. У експерименті показано, що ПКТ пригнічує синтез простагландинів і тромбоксану в лімфоцитах *in vitro* [11] може безпосередньо нейтралізувати ЛПС, чим зменшувати прозапальні ефекти останнього [65, 141, 143].

Рівень ПКТ при ССЗР неінфекційної етіології, як правило, менший за 1 нг/мл. При локальній бактеріальній інфекції без системних проявів рівень ПКТ зростає незначно (0,3-1,5 нг/мл). При важких вірусних інфекціях рівні ПКТ або не збільшуються або мають помірні концентрації. Рівень ПКТ від 0,5 до 2 нг/мл

знаходиться в «сірій зоні», в якій діагноз сепсису встановити неможливо, однак може свідчити про початок його розвитку. В таких випадках рекомендується повторити вимір через 6-24 години. Рівень ПКТ вище від 2 нг/мл з високою вірогідністю свідчить про інфекційний процес зі ССЗР. Рівні ПКТ вищі від 10 нг/мл спостерігаються виключно у хворих з важким сепсисом або септичним шоком [7, 10, 11, 12, 69, 137, 140].

Дослідженнями Ahmadinejad Z. et al. (2008) було показано, що ПКТ є надійним маркером диференціації ССЗР інфекційної етіології від інших причин ССЗР та його прогнозу [95]. Також ПКТ, у залежності від концентрації, може чітко диференціювати сепсис від септичного шоку у дітей [140].

Разом з тим, у педіатричній практиці, ПКТ використовується для ранньої диференційної діагностики вірусних і бактеріальних менінгітів. При бактеріальних менінгітах рівні ПКТ досягають значення 25,5 нг/мл і вище, а при вірусних - 0,5-0,8 нг/мл [11].

ПКТ добре зарекомендував себе як маркер неонатального сепсису і є чутливішим, ніж СРБ та ІЛ-6 [94, 107, 111, 139, 150, 152].

Одне з досліджень показує, що рівень ПКТ у дітей зі сепсисом складає 94,6 нг/мл, з бактеріальним менінгітом – до 25,5 нг/мл, з локалізованими бактеріальними інфекціями - 2,9 нг/мл, при вірусних інфекціях - 0,8 нг/мл, у контролі - 0,5 нг/мл. Рівень ПКТ при якому можливий прогноз розвитку септичного шоку складає більше 20 нг/л. Концентрація ПКТ більше 2 нг/мл спостерігалась у всіх хворих з менінгітом і/або септичним шоком [97].

Charles P. E. та ін. визначили, що у хворих на сепсис Грам (-) етіології рівні ПКТ вищі, ніж при Грам (+) етіології [160].

При менінгококовій інфекції та менінгококовому сепсисі у дітей ПКТ є чутливим і специфічним маркером, середня концентрація якого складає  $38,85 \pm 0,27$  нг/мл [137].

Доведено, що визначення ПКТ є ефективним засобом ранньої діагностики бактеріального опікового сепсису. Цей тест має чутливість 91,6 %, специфічність 85,9 % [15].

Таким чином, можна вважати, що підвищений рівень ПКТ є високоспецифічним маркером, потрапляння в системний кровотік структурних елементів бактерій. Але він менспецифічний для діагностики грибкобкового сепсису. За допомогою ПКТ можлива рання (в перші 6-12 годин) діагностика сепсису та септичного шоку, інфекційних ускладнень. Це дозволяє своєчасно призначити антибіотикотерапію та покращити результат лікування захворювання [11, 70, 103, 106, 135, 136, 137, 140, 149, 1].59

Однак, за даними Chan Y-L.etal. (2004), ПКТ, у порівнянні зі СРБ, має більшу чутливість (69,5 % та 67,2 %), але нижчу специфічність (64,6 % та 93,0 %) [138]. Потенціал досліджень ПКТ у дітей при сепсисі досить обмежений, що потребує подальших досліджень для визначення його діагностичної ролі у порівнянні з іншими маркерами сепсису [164].

В останні роки з'явився значний інтерес до білка гострої фази, розчинного CD14 (sCD14-ST) – пресепсину (ПСП), як високоспецифічного маркера сепсису.

CD14 існує у двох формах: розчинний (sCD14) та зв'язаний з мембраною (mCD14), останій знаходиться на мембранній поверхні моноцитів і макрофагів і слугує рецептором для ЛПС [103, 187].

Біомаркер ПСП є білком з молекулярною масою 13 кДа, специфічний для фагоцитозу. Утворюється внаслідок каскаду реакцій з mCD14 – мембранного рецептора макрофагів при зв'язуванні бактерій рецептором TLR4 [7, 62, 149].

Мембранний рецептор mCD14 після зв'язування з ендотоксинами активує запальну відповідь, після чого mCD14 відщеплюється від макрофагів і вже в розчинній формі (як sCD14) попадає в кровотік. Після активації фагоцитозу катепсин D та інші протеїнази розщеплюють циркулюючий sCD14 з утворенням його вкороченого фрагменту sCD14-ST (субтипу), який і отримав назву пресепсин [9, 62, 90, 149, 169]. У нормі його концентрація дуже низька [103].

ПСП був відкритий у 2005 році в Японії і в 2011 запатентований як біохімічний маркер рівня фагоцитозу. Показано, що його рівень у крові підвищується вже через 1,5-2 години після індукції фагоцитозу [7, 169].

Метааналіз досліджень виявив, що чутливість і специфічність ПКТ, СРБ та ІЛ-6 ставлять під сумнів здатність відрізнити сепсис від ССЗР. У порівнянні з іншими маркерами ПСП має найбільшу специфічність і чутливість для діагностики сепсису. При концентрації 400 пг/мл чутливість для діагностики сепсису складає 80,3 % і специфічність 78,5 %. Рівень у 600 пг/мл був взятий в якості порогового значення при якому чутливість складає 87,8 %, специфічність - 81,4 %, позитивна прогностична цінність - 88,6 %, негативна прогностична цінність - 80,3 % [103, 187].

Необхідно відзначити, що чутливість ПСП незначно відрізняється між хворими на Грам (-) і Грам (+) сепсис [187].

Згідно Yin K et al. (2011), чутливість ПСП у діагностиці сепсису склала 91,9 %, ПКТ - 89,9 %, ІЛ-6 – 88,9 % і бактеріологічного дослідження крові 35,4 %. Бактеріологічне дослідження виконувалось протягом 48-72 годин, ПКТ збільшувався в крові через 4 години після початку інфекції і досягав плато через 8-24 години. У той же час, рівень ПСП зростав у сироватці крові вже протягом перших 2х годин від початку інфекційного процесу і досягав максимуму через 3 години [187].

У дослідженні Shozushima T. et al. (2011) ПСП був кращим маркером для діагностики сепсису, порівняно з ПКТ. Концентрація ПСП 415 пг/мл мала чутливість 80,1 %, специфічність 81,0 % і збільшувалася лише у хворих на сепсис, на відміну від ПКТ, який збільшувався вже при ССЗР [179].

Крім того, рівні ПСП добре корелюють зі шкалами APACHEIIiSOFA[90, 158].

Як виявилось пізніше, ПСП як біомаркер був корисним не тільки у діагностиці сепсису, а також у визначенні важкості та прогнозу сепсису у дорослих. У дослідженні Vodnik T. et al. (2013) рівень ПСП у померлих від сепсису складав у середньому 2268 пг/мл (1145-4305 пг/мл), а у хворих, які вижили - 1184 пг/мл (855-2158 пг/мл), різниця між групами достовірна  $p=0,001$ . Також на сьому добу у хворих, які вижили, середній рівень ПСП зменшився і складав 974 пг/мл(674-1927 пг/мл). Крім того, рівень ПСП корелював зі шкалою синдрому ПОН, а 90-денна летальність у хворих з високим рівнем ПСП була значно вищою, ніж у хворих з низьким рівнем (75 % і 42 % відповідно). У передопераційній діагностиці сепсису

рівень ПСП 630 пг/мл мав чутливість 100 % і специфічність 98 %, тоді як ПКТ з рівнем 0,494 нг/мл мав чутливість 87 %, а специфічність 97 % [143].

Останні дослідження показали, що ПСП є високоспецифічним маркером сепсису і фагоцитозу. ПСП точно діагностує локальну інфекцією, сепсис і септичний шок і диференціює їх від ССЗР, що не пов'язаний із інфекціями [7, 9, 33, 38, 120, 180, 187].

На сучасному етапі є лише поодинокі роботи, спрямовані на вивчення ПСП, як маркера сепсису різної етіології у дорослих. Дослідження ПСП і його значення в діагностиці сепсису, його важкості та прогнозу у дітей в Україні взагалі не проводились, що робить таке дослідження надзвичайно актуальним, зважаючи на розповсюдженість сепсису та високу летальність від нього і запізнілу діагностику.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Матеріали дослідження

У роботі використані матеріали, отримані в ході обстеження 115 дітей віком від одного місяця до 18 років із локалізованими бактеріальними інфекціями та сепсисом, які перебували на лікуванні в реанімаційних відділеннях Хмельницької міської дитячої, Хмельницької обласної дитячої, Хмельницької міської інфекційної лікарень за період з 2009 по 2016 р., та 56 практично здорових дітей

Сепсис було діагностовано у 47 дітей, які склали основну групу, у 68 дітей мала місце локалізована бактеріальна інфекція. Ці діти були включені у групу порівняння. Група контролю сформована із 56 дітей без ознак запального процесу. Середній вік дітей основної групи склав 7,3 Ді 95 % [5,5-9,0] роки; групи порівняння – 9,2 [8,0-10,4] років, контрольної групи – 10,8 Ді 95 % [9,6-12,0] роки. Групи формували шляхом випадкової вибірки. В таблиці 2.1 відображено групи обстежених дітей в залежності від віку і статі.

Таблиця 2.1 – Розподіл обстежених дітей відповідно віку та статі

Вік	Основна група, n-47		Група порівняння n-68		Контрольна група n-56		Всього n-171	
	хлопці	дівчата	хлопці	дівчата	хлопці	дівчата	хлопці	Дівчата
1 – 12 міс.	5	3	2	1	0	1	7	5
2 – 5 р.	7	8	11	3	5	6	23	17
6 -12 р.	5	5	18	13	11	10	34	28
13-18 р.	7	7	13	7	12	11	32	25
Всього	24 (51 %)	23 (49 %)	44 (65 %)	24 (35 %)	28 (50 %)	28 (50 %)	96 (56 %)	75 (43 %)

Як видно із таблиці, розподіл дітей по статі був практично однаковий, дещо переважали хлопчики у групі порівняння, але різниця була статистично не значима ( $p > 0,05$ ), тому групи по статі були репрезентативні.

В таблиці 2.2 відображено розподіл дітей основної групи та групи порівняння в залежності від місця проживання.

Таблиця 2.2 – Розподіл дітей основної групи та групи порівняння в залежності від місця проживання

Місце проживання	Основна група n-47		Група порівняння n-68		Контрольна група n-56		Всього n-171	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Місто	20	42,6	39	57,4	28	50,0	87	50,9
Село	27	57,4	29	42,6	29	50,0	85	49,1

Як видно з таблиці, розподіл між сільськими та міськими жителями був практично однаковий, в основній групі незначно переважали сільські діти, однак різниця по місцю проживання в основній та групі контролю була статистично не значима ( $p > 0,05$ ), тому можна зробити висновок що групи були також репрезентативні. В групі контролю діти по місцю проживання були представлені з однаковою частотою.

У дітей, включених в групи дослідження, в залежності від первинної локалізації бактеріального вогнища гнійного запалення було діагностовано наступні нозологічні форми: черевна порожнина – первинний перитоніт, гангренозний та флегмонозний апендицит; грудна порожнина – тотальна пневмонія, розлитий гнійний плеврит; ЛОР органи – полісинусити; кістково - м'язова система та інфекції м'яких тканин – гематогенний остеомієліт, абсцеси та флегмони підшкірно–жирової клітковини; ЦНС та менінгококова інфекція – менінгіт, менінгококемія.

Критеріями включення в основну групу були діти віком від одного місяця до 18 років з наявністю вогнища бактеріальної інфекції і двох та більше ознак ССЗВ, однієї та більше ознак органної дисфункції або ознаки септичного шоку.

Критеріями виключення були діти віком до одного місяця, діти із ознаками ССЗВ неінфекційного генезу.

Ознаки ССЗВ та органної дисфункції визначалися згідно критеріїв, затверджених на Міжнародній консенсусній конференції по педіатричному сепсису

(IPSSC, 2005). ССЗВ діагностувався при наявності мінімум двох із чотирьох наступних критеріїв, один серед яких обов'язково аномальна температура тіла або змінена кількість лейкоцитів:

1. Центральна температура вище 38,5 С або нижче 36,0 С.
2. Тахікардія, підвищення ЧСС більше ніж на 2 квадратичних відхилення від вікової норми, при відсутності зовнішніх стимулів, а у дітей до року і брадикардія.
3. Середня ЧД, яка перевищує вікову норму на 2 квадратичних відхилення, або необхідність в ШВЛ при гострому процесі.
4. Кількість лейкоцитів в периферичній крові, яка підвищена або знижена відповідно до вікової норми, або вміст незрілих форм лейкоцитів більше 10%.

В таблиці 2.3 відображено критерії ССЗВ в залежності від віку згідно IPSSC, 2005 [108].

Таблиця 2.3 – Критерії ССЗВ відповідно до вікових груп згідно IPSSC, 2005

Вікові групи	ЧСС в 1хв		ЧД в 1хв	Кількість лейкоцитів, $10^9/л$	Систолічний тиск, мм рт. ст.
	Тахікардія	Брадикардія			
1 -12 міс.	> 180	< 90	> 34	> 17,7 < 5	< 100
2-5 років	> 140	-	> 22	> 15,5 < 6	< 94
6-12 років	> 130	-	> 18	>13,5 < 4,5	< 105
13-18 років	> 110	-	> 14	> 11 < 4,5	< 117

Септичний шок діагностувався при ознаках сепсису, які поєднувалися із загальною гіпотонією та при потребі застосування вазопресорних препаратів.

Діти основної групи розподілялись на підгрупи в залежності від кількості ознак ССЗВ (2, 3 чи 4) та окремо діти із септичним шоком. Відповідно до цього розподіл дітей був наступним (таблиця 2.4):

Таблиця 2.4 – Розподіл дітей основної групи в залежності від важкості стану

Ступінь важкості	Кількість дітей	%
Сепсис ССЗВ 2	13	27,7
Сепсис ССЗВ 3	14	29,8
Сепсис ССЗВ 4	4	8,5
Важкий сепсис	16	34,0



Верифікація діагнозу проводилась на підставі клініко-епідеміологічних даних, результатів серологічних, імунологічних, генетичних, бактеріологічних та інструментальних досліджень.

## 2.2 Методи дослідження

У дітей, які були включені в дослідження, вивчали анамнез хвороби та життя, зокрема з'ясовувались особливості перебігу раннього неонатального періоду, психомоторного розвитку дитини, наявності супутніх хвороб. Клінічне обстеження включало щоденний огляд пацієнта під час перебування у відділенні інтенсивної терапії та реанімації з оцінкою симптомів інтоксикації, синдрому системної запальної відповіді, ознак розвитку поліорганної недостатності.

Проводились загальноприйняті лабораторні дослідження: гемограма, біохімічні аналізи крові, якісне визначення С-реактивного білка, бактеріологічні дослідження. Відповідно до мети наукової роботи додатково хворим та здоровим дітям проводили визначення біомаркерів сепсису (прокальцитонін, TNF- $\alpha$ , пресепсин), а дітям основної та групи порівняння - генетичне дослідження.

Основними матеріалами для нашого дослідження були сироватка крові дітей, цільна кров, для бактеріологічного обстеження використовували кров, вміст поверхні рани, ліквор, плевральну рідину. Обстеження усіх дітей проводили при поступленні або при появі ознак генералізації інфекційного процесу. На кожную дитину заповнено протокол клініко-лабораторних показників та визначення біомаркерів сепсису.

Метод імуноферментного аналізу (ІФА) для визначення прокальцитоніну  
(ПКТ) в сироватці крові

Прокальцитонін використовується для диференційної діагностики ССЗВ бактеріальної та небактеріальної природи, а також для своєчасного виявлення генералізації інфекційного процесу бактеріальної етіології. Підвищення рівня останнього відбувається в перші 6-12 годин після початку запального процесу

викликаного бактеріальними інфекціями, оскільки його синтез індукується ендотоксином.

Визначення рівня прокальцитоніну в сироватці крові нами проводилося за допомогою кількісного імуоферментного аналізу (ІФА) RayBio Human Procalcitonin ELISA (RayBiotech, Inc. США) на аналізаторі “Stat Fax 303 Plus”, який є відкритою системою. Імуоферментний тест оснований на принципі конкурентного ІФА. Мінімальна концентрація, яка визначається даним набором, є менше 30 пг/мл. Мікропланшет покритий антитілами специфічними до людського прокальцитоніну. Стандарти та зразки в кількості 100 мкл вносили в кожну із чарунок та інкубували 2,5 години при кімнатній температурі, при цьому присутній в них прокальцитонін зв'язався з чарунки через прикріплені антитіла. Чарунки промили та додали біотинильовані антитіла до прокальцитоніну в кількості 100 мкл в кожен із зразків та інкубували одну годину при кімнатній температурі. Після промивки та видалення незв'язаних біотинильованих антитіл вносили 100 мкг стрептовідину кон'югованого із HRP. Знову інкубували 45 хвилин. Чарунки повторно промили, внесли 100 мкл тетраметилбензидину в буфері (ТМБ субстрат) та інкубували 30 хвилин, при чому відбулась реакція із пофарбуванням. Інтенсивність колориметричного сигналу прямо пропорційна кількості прокальцитоніну. Внесли стоп-розчин (2М сірчаної кислоти), колір змінився із голубого на жовтий та змінилась інтенсивність кольору, після чого негайно порахували кількість прокальцитоніну при довжині хвилі 450 нм. Після дослідження концентрація ПКТ в зразках сироватки крові вираховувалась за допомогою калібрувальних графіків. Концентрація ПКТ в зразках виражалася в пг/мл. У здорової людини незалежно від віку може визначатися до 0,05 пг/мл. Даним методом було обстежено 115 дітей: 31 основної групи, 54 групи порівняння та 30 дітей групи контролю.

Додатково 30 дітям (16 основної групи та 14 групи порівняння) нами було проведено визначення прокальцитону хемілюмінісцентним методом на аналізаторі Cobas e 411 з використанням реактивів Elecsys BRAMS PCT, з метою проведення оцінки цінності маркера в порівнянні з пресепсином.

Принцип методу «сандвіч». Загальна тривалість визначення 18 хв.

Перша інкубація: антиген у зразку (30 мкл), біотинильоване моноклональне прокальцитонін-специфічне антитіло та моноклональне прокальцитонін-специфічне антитіло, яке помічене рутенієвим комплексом, вступили в реакцію з формуванням сандвіч-комплексу.

Друга інкубація: після додавання мікрочастинок, які покриті стрептовідином, утворені комплекси зв'язалися з твердою фазою за допомогою біотину та стрептавідину.

Реакційну суміш аспірували в вимірювальну чарунку, де мікрочастинки осіли на поверхню електроду внаслідок магнітної взаємодії. Далі за допомогою ProCell/ProCell M видалили рештки, які не зв'язались. Далі прикладена до електроду напруга викликала хемілюмінісцентну емісію, яка була виміряна фотомножником.

Результати визначили за допомогою двох-точковою калібровочною кривою, яка була отримана для даного інструмента, референсної каліброваної кривої, дані якої повідомлені в штрих - коді набору реагентів.

Даний метод проводився в умовах закритої автоматизованої системи.

Діапазон вимірювань 0,02-100 нг/мл. У здорових людей незалежно від віку ПКТ визначається менше 0,05 нг/мл.

#### Метод хемілюмінісцентного імуноферментного аналізу рівня пресепсину (ПСП) в сироватці крові

Рівень пресепсину є високоспецифічним раннім біомаркером сепсису викликаного, як Гр (+) так і Гр (-) мікрофлорою та грибками, при вірусних інфекціях підвищення рівня ПСП не спостерігається. Може використовуватися як для діагностики так і для моніторингу стану та ефективності терапії сепсису [187].

Кількісне визначення ПСП проводилось нами на автоматичному хемілюмінісцентному імуноферментному аналізаторі PATHFAST. Повний цикл визначення відбувається за 17 хвилин.

Для визначення використовували плазму зібрану в пробірки з ЕДТА та тест-систему для визначення ПСП в форматі хемілюмінісцентного імуноферментного аналізу (CLEIA) з використанням технології MAGTRATION® (технологія розподілу зв'язаного та вільного матеріалу з промивкою магнітних частинок в наконечнику). В

цій процедурі використовували поліклональні антитіла до пресепсину, зв'язані з лужною фосфатазою, та моноклональні антитіла до пресепсину на магнітних частинках, які змішувалися зі зразком. ПСП зразка зв'язався з антитілами до нього, утворивши імунокомплекси з міченим ферментом антитілами та антитілами на магнітних частинках. Після видалення зв'язаного матеріалу до імуного комплексу додався хемілюмінісцентний субстрат. Після короткої інкубації під дією ферментної реакції в суміші почалась люмінісценція, інтенсивність якої залежить від концентрації ПСП у зразку. Розрахунок результату проводився по стандартній каліброваній кривій.

У касету для картриджів на приладі встановили картридж з реагентами, потім внесли близько 10 мкл зразку (плазми крові) у чарунку для зразка на картриджі, встановлювали в гніздо для наконечників на приладі новий наконечник напроти картриджу, опустили кришку та запустили прилад для роботи. Через 17 хв результат було виведено на дисплей та на друк.

Діапазон вимірювань складає 20-20000 пг/мл. Референтні значення у здорової людини до 200 пг/мл.

Було обстежено 56 дітей, з яких 16 із основної групи, 14 групи порівняння та 26 дітей контрольної групи.

#### Метод імуноферментного аналізу (ІФА) для визначення туморнекротичного фактору $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) в сироватці крові

Нами визначався рівень TNF- $\alpha$  в сироватці крові за допомогою ферментозв'язуючого імуносорбентного аналізу. Дослідження проводилось при використанні наборів ІФА для кількісного визначення людського TNF- $\alpha$  компанії Ордженіум Лабораторіз (Human TNF- $\alpha$  ELISA Kit, Фінляндія), на аналізаторі "Stat Fax 303 Plus", який є відкритою системою. Діапазон вимірювань - 0-1000 пг/мл, чутливість - менше 15 пг/мл.

Стандарти та зразки в кількості 50 мкл вносили в кожен із чарунк та інкубували протягом однієї години при кімнатній температурі, при цьому присутній в них TNF- $\alpha$  зв'язується з чарунками через прикріплені антитіла. Чарунки промивали 5 разів та додавали біотинильовані антитіла до TNF- $\alpha$  в кількості 50 мкл

в кожен із зразків і інкубували 0,5 години при кімнатній температурі. Після п'ятикратної промивки та видалення незв'язаних біонильованих антитіл вносили 50 мкл стрептовідин пероксидази хрому. Знову інкубували 30 хвилин. Чарунки повторно промили, вносили 50 мкл тетраметилбензидину в буфері (ТМБ субстрат) та інкубували 20 хвилин. Відбулась реакція із пофарбуванням. Інтенсивність колориметричного сигналу прямо пропорційна кількості TNF- $\alpha$ . Внесли стоп-розчин в кількості 25 мкл (0,9 Н розчин сірчаної кислоти), колір змінився з голубого на жовтий та змінилась інтенсивність кольору, після чого негайно порахували кількість при довжині хвилі 450 нм. Після дослідження концентрація TNF- $\alpha$  в зразках сироватки крові вираховувалась за допомогою калібрувальних графіків. Концентрація TNF- $\alpha$  в зразках виражалася в пг\мл. Референтні значення у здорової людини незалежно від віку складають 0 – 90 пг/мл.

Було обстежено 115 дітей серед яких 31 дитина основної групи, 54 групи порівняння та 30 дітей групи контролю.

Визначення мутації гену, що кодує TNF- $\alpha$ , за допомогою методу аналізу довжини рестриктивних ділянок (ПДРФ-аналіз).

Дослідження алельного поліморфізму проводилося дітям із основної групи та групи порівняння. Всього було обстежено 55 хворих, із яких 28 із сепсисом та 27 із локалізованою бактеріальною інфекцією.

Поліморфізм досліджувався в промоторній ділянці гену TNF- $\alpha$  в точці 308(G/A) за допомогою непрямого методу з використанням аналізу поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ – аналіз).

Геномну ДНК виділяли із сухої краплі за допомогою набору реагентів D1Atom™ DNA Prep100. Плями крові подрібнювались та розміщувались у лізуючий реагент. Пробірка із сумішшю ставилась у термостат на 1 год при температурі 65°C. Промоторні ділянки гену TNF- $\alpha$  ампліфікували з використанням таких пар праймерів: 5'-AGG-CAA-TAG-GTT-TTG-AGG-GCC-AT-3', 5'-ACA-CTC-CCC-ATC-CTC-CCG-GCT-3'. Продукти ампліфікації (PCR-RFLP) піддавались рестрикції за допомогою ендонуклеази Styl. Отримані продукти ампліфікації змішувались в пробірці із рестрикційним буфером та ферментом, суміш після перемішування

центрифугували 2-3 секунди та ставили в термостат при температурі 37°C на 12 год. Електрофоретичний поділ фрагментів проводили в 7 % акріламідному гелі протягом години. Після проведення рестрикції на гелі реєструються смуги у випадку алеля G – 128+20 п. н., у випадку алеля A – 148 п. н. Контрольна ДНК – A/G, довжина ампліфікованого фрагмента 148 п. н. Ідентифікацію електрофореграми ДНК індивідів здійснювали за кількістю фрагментів: за наявності одного фрагмента – реєструвались гомозиготні носії G/G, двох фрагментів – гетерозиготні носії A/G.

Для розрахунку рівня статистичної значимості поліморфізму гену TNF- $\alpha$  застосовували ієрархічний логлінійний аналіз, який проводився за критерієм згоди Пірсона – хи-квадрат ( $\chi^2$ ). Критерій  $\chi^2$  з поправкою Йейтса на безперервність застосовувався для одного ступеня вільності. В усіх випадках розбіжності вважали статистично значимими при  $p < 0,05$ . Для оцінки ймовірності виникнення ознаки (захворювання, або певної клінічної характеристики) залежно від генетичного варіанта (алеля, генотипу) застосовувався критерій відношення шансів (ВШ) з розрахунком 95 % довірчого інтервалу.

Отриманий цифровий матеріал було оброблено на персональному комп'ютері Pentium у рамках статистичних пакетів Microsoft Excel 10.0; Statistica 6,0; графічне відображення результатів досліджень виконувались у межах пакету Excel-2010, Coreldraw 7,0. При проведенні статистичного аналізу отриманих даних обчислювали значення середньої арифметичної (M), або медіани, довірчого інтервалу 95% для середньої арифметичної та інтерквартильного інтервалу для медіани.

Рівень вірогідності розходжень (P) між порівнювальними групами визначали з використанням параметричного критерію Ст'юдента (t). Різниця між показниками різних груп вважалась достовірною при  $p < 0,05$ .

Для визначення ступеню взаємозв'язку і залежності між показниками проводився кореляційний аналіз за допомогою критерію рангової кореляції Спірмена з обчисленням коефіцієнта кореляції (r) за формулою:

$$r = \frac{\sum d_x \times d_y}{\sqrt{(\sum d_x^2 \times d_y^2)}}, \text{ де } d_x - \text{ різниця між } x \text{ та } x \text{ середнім значенням,}$$

$d_y$  - різниця між  $y$  та  $y$  середнім значенням.

При цьому позитивне значення коефіцієнта кореляції вказувало на прямий зв'язок результативного і фактичного показника, негативне – на зворотній зв'язок між ними. Величина коефіцієнта від 0 до 0,29 свідчила про кореляційний зв'язок слабкої сили, від 0,3 до 0,7 – про зв'язок середньої сили, від 0,71 до 1,0 – про сильний зв'язок між досліджувальними показниками.

Відсоткове співвідношення показників з визначенням достовірності проводили за допомогою непараметричного методу Mann-Whitney. Різницю розцінювали як достовірну при  $p < 0,05$ .

Оформлення та друкування роботи проводили в текстовому редакторі Word.

## РОЗДІЛ 3

### КЛІНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ СЕПСИСУ У ДІТЕЙ

У доступній літературі майже відсутні дані з клінічних особливостей перебігу інфекційного процесу в залежності від етіологічного чинника та ступеня розповсюдженості інфекційного процесу, відмінність загальних симптомів інфекції при різній локалізації первинного вогнища запалення. Визначення даних особливостей дало б змогу більш вчасно призначати раціональну антибактеріальну терапію, що в свою чергу покращить результати лікування.

Мало приділяється уваги віковим відмінностям загальних проявів системного запалення та невизначені більш уразливі органи та системи при розвитку сепсису у дітей.

#### 3.1 Особливості перебігу сепсису та локалізованого бактеріального запалення в залежності від розміщення первинного вогнища інфекції.

Нами також було проведено дослідження структури локалізації вогнища інфекції у дітей із сепсисом та локалізованою бактеріальною інфекцією. На рисунку 3.1. відображена отримана нами структура локалізації вогнища інфекції у дітей основної та групи порівняння.

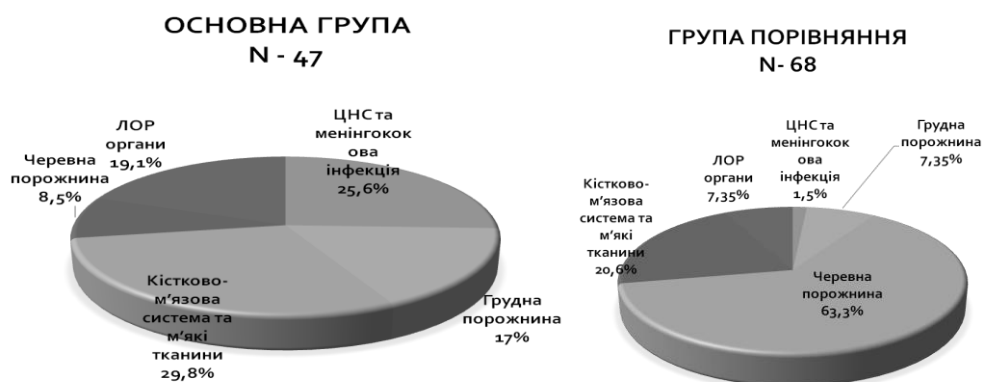


Рисунок 3.1 – Структура локалізації первинного вогнища інфекції у дітей основної та групи порівняння.



Як видно з малюнка, в основній групі первинне вогнище інфекції локалізувалось практично з однаковою частотою в кістково-м'язовій системі та м'яких тканинах - у 29,8 % (14 дітей – гострий гематогенний остеомієліт, абсцес обох сідниць) і в ЦНС – 25,5 % (12 дітей – менінгококовий менінгіт, менінгококемія, гнійний менінгіт), в 19,2 % (9 дітей) - в ЛОР-органах (гострий гнійний пансинусит, середній отит, гнійний гайморит), у 17,0 % (8 дітей) – в грудній порожнині (піопневмоторокс з норицею, гостра тотальна пневмонія, гострий гнійний плеврит, емпієма плеври) та у 8,5 % (4 дитини) – в черевній порожнині (парапроктит, абсцес черевної порожнини, абсцес печінки, гангренозно-перформативний апендицит).

У дітей з групи порівняння в 63,3 % випадків (43 дитини) було зареєстровано інфекцію локалізовану в черевній порожнині ( гострий гангренозно-перфоративний та флегмонозний апендицит, абсцес черевної порожнини, первинний гнійний перитоніт, ілеоректальний парапроктит, гострий пієлонефрит), в 20,5 % (14 дітей) були діти із інфекцією кістково-м'язової системи та м'яких тканин (гострий та підгострий гематогенний остеомієліт, підапоневротичний абсцес передньої черевної стінки, гнійний артрит, флегмона м'яких тканин), в 7,4 % випадків (5 дітей) діагностовано інфекцію ЛОР-органів (гострий гнійний гайморит, мастоїдит, полісинусит), ще в 7,4 % випадків (5 дітей) – бактеріальне запалення в грудній порожнині (деструктивна пневмонія, гостра полісегментарна пневмонія, гнійний плеврит), та лише одна дитина (1,5 %) групи порівняння мала інфекцію локалізовану в ЦНС ( гострий гнійний менінгіт).

Таблиця 3.1 – Ризик розвитку сепсису при різній локалізації первинного вогнища інфекції

Локалізація	Показник	Значення показника	Середня похибка, s	ДІ 95 %
ЦНС та менингококова інфекції	ВР	2,70	0,16	1,97-3,40
	ВШ	2,20	0,31	1,20-4,00
Кістково-м'язова система та м'які тканини	ВР	1,31	0,23	1,16-1,48
	ВШ	1,64	0,42	0,70-3,70
Грудна порожнина	ВР	1,60	0,29	0,90-2,83
	ВШ	2,58	0,31	1,41-4,71
Черевна порожнина	ВР	0,13	0,48	0,05-0,33
	ВШ	0,05	0,49	0,02-0,14
ЛОР-органи	ВР	1,73	0,24	1,12-2,77
	ВШ	2,98	0,11	2,37-3,74

Враховуючи дані таблиці 3.1, ризик розвитку сепсису найвищий при локалізації інфекції в ЛОР-органах, грудній порожнині та ЦНС, в той час як локалізація первинного вогнища інфекції в черевній порожнині практично не призводить до розвитку септичного стану в дитячому віці.

В залежності від кількості ознак ССЗВ та наявності септичного шоку діти основної групи по первинному вогнищу розподілялись наступним чином: (Таб 3.2)

Таблиця 3.2. – Розподіл дітей відповідно локалізації первинного вогнища інфекції та важкості стану

Локалізація первинного вогнища інфекції	Сепсис ССЗВ 2 (n-13)	Сепсис ССЗВ 3 (n-14)	Сепсис ССЗВ 4 (n-4)	Септичний шок (n-16)
Черевна порожнина (n – 4)	0	4 (28,6 %)	0	0
Грудна порожнина (n – 8)	2 (15,4 %)	3 (21,4 %)	1 (25,0 %)	2 (12,5 %)
ЛОР органи (n – 9)	2 (15,4 %)	2 (14,3 %)	1 (25,0 %)	4 (25,0 %)
Кістково-м'язова система та м'які тканини (n -14)	6 (46,1 %)	1 (7,2 %)	2 (50,0 %)	5 (18,75 %)
ЦНС та менінгококова інфекція (n – 12)	3 ( 23,1 %)	4 (28,6 %)	0	5 (18,75 %)

Як видно із таблиці, найчастіше до септичного шоку призводять інфекції із первинним вогнищем в ЛОР-органах, кістково-м'язовій системі та ЦНС. Різниця статистично значима у порівнянні з локалізацією вогнища в грудній та черевній порожнині ( $p < 0,05$ ). Слід зазначити, що серед обстежених було троє померлих дітей - у 2-х випадках воротами бактеріальної інфекції була кістково-м'язова система (гострий гематогенний остеомієліт та абсцес обох сідниць) і в однієї дитини – ЛОР органи (пансинусит).

На рисунку 3.2. відображену вікову структуру дітей в залежності від локалізації первинного вогнища.

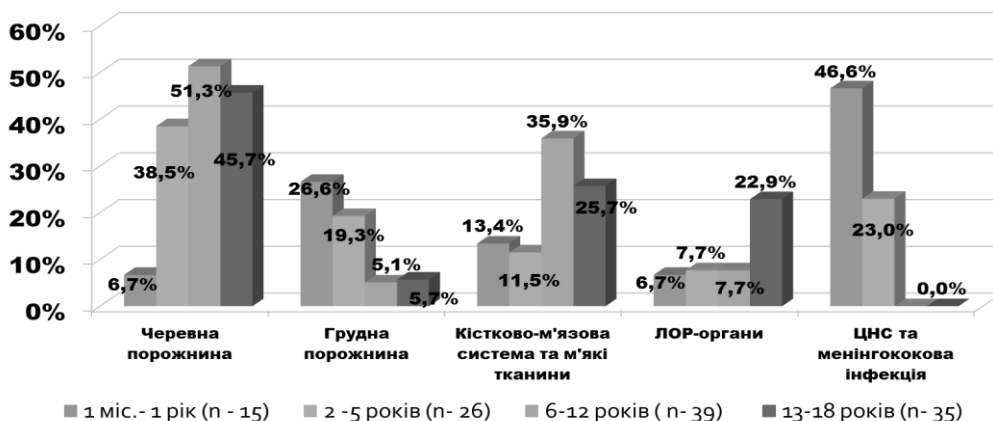


Рисунок 3.2 – Вікова структура обстежених дітей в залежності від локалізації первинного вогнища інфекції.

Дані рисунку свідчать, що майже у половини (46,6 %) дітей вікової групи 1 міс - 1 рік первинне вогнище інфекції зустрічалось в ЦНС та практично не зустрічалось в черевній порожнині (6,7 %) та ЛОР-органах (6,7 %). У 38,5 % дітей віком від двох до п'яти років первинне вогнище інфекції локалізувалось в черевній порожнині і майже в однаковій кількості дітей зустрічалось у грудній порожнині (19,3 %) та ЦНС (23,0 %). У дітей старшого віку (від шести років) переважала локалізація вогнища інфекції в черевній порожнині і зовсім не зустрічалось в ЦНС. Відмінність у локалізації вогнища інфекції між дітьми віком 6 – 12 років та 13-18 років полягала лише в тому, що майже у кожній четвертій дитині віком старше 13 років інфекція локалізувалась в ЛОР-органах.

Тривалість перебування дітей в ВАІТ в залежності від первинного вогнища інфекції представлена на рисунку 3.3.

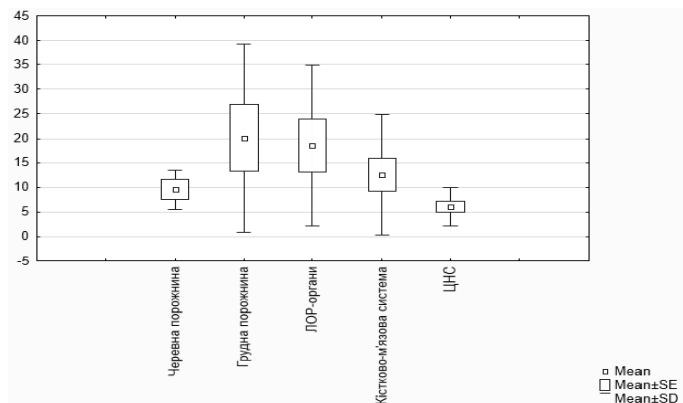


Рисунок 3.3 – Тривалість перебування дітей основної групи у ВАІТ в залежності від первинного вогнища інфекції.

Як видно з малюнку найдовше в ВАІТ перебували діти при локалізації первинного вогнища в грудній порожнині, що складало  $20,1 \pm 3,3$  дні, незначно менше отримували лікування в ВАІТ діти із локалізацією первинного вогнища у ЛОР-органах –  $18,6 \pm 5,4$  дні. При виявленні первинного вогнища у кістково-м'язовій системі та черевній порожнині діти перебували у ВАІТ  $12,6 \pm 3,3$  дні та  $9,5 \pm 2,0$  дні відповідно. Найменше в реанімаційному відділенні перебували діти із локалізацією первинного вогнища в ЦНС –  $6,1 \pm 1,1$  дні. Статистично значима різниця в тривалості перебування дітей в ВАІТ відмічалась при локалізації первинного вогнища в грудній порожнині та ЛОР-органах, в порівнянні із ЦНС ( $p < 0,05$ ), у всіх інших випадках різниця була статистично не значима.

### 3.2 Етіологічна структура сепсису та локальної бактеріальної інфекції у дітей.

Дітям основної та групи порівняння в залежності від локалізації первинного вогнища інфекції проводилось бактеріологічне дослідження різних біологічних рідин (кров, ліквор, сеча), ранового вмісту, мазків зі слизових (носа, зіва), змивів із трахеобронхіального дерева, дренажних трубок, периферичних та центральних катетерів.

Нами отримано такі дані – при сепсисі виявлення причинного збудника було лише в 51,0 % (24 дитини), в групі порівняння – в 14,7 % (10 дітей). Невелика кількість випадків виділення збудника гнійного процесу у дітей із локалізованою гнійною інфекцією у порівнянні із групою дітей із сепсисом, можна пояснити тим, що бактеріологічні дослідження в дітей даної групи проводились однократно і з одного середовища, в той час як при сепсисі - із декількох середовищ та по декілька разів.

На рис. 3.4 представлена етіологічна картина гнійних інфекцій основної групи та групи порівняння. Відсоток причинних мікроорганізмів вираховувався від кількості осіб в групах, у яких були позитивні бактеріологічні дослідження.

### Структура збудників бактеріальних інфекцій у дітей

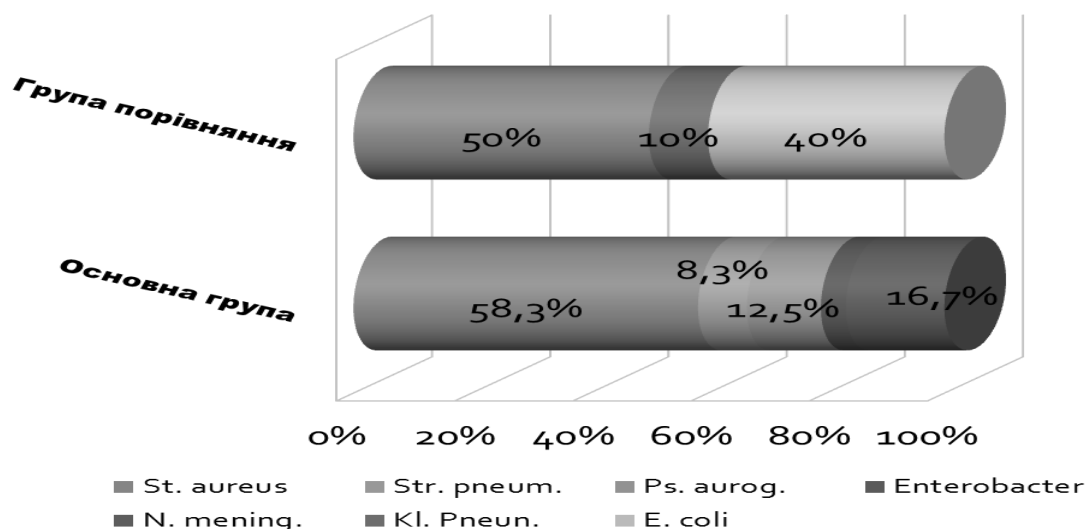


Рисунок 3.4 – Структура бактеріальних збудників при локалізованих та генералізованих гнійних інфекціях у дітей.

Як видно з малюнка в 66,6 % дітей основної групи та в 50,0 % дітей групи порівняння причиною інфекції були Гр (+) мікроорганізми.

Проаналізувавши структуру збудників в залежності від первинного вогнища інфекції нами були отримані такі данні (рис. 3.5)

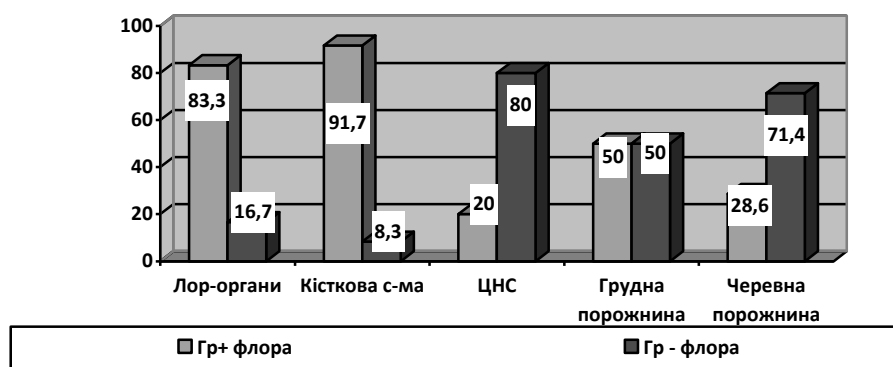


Рисунок 3.5 – Співвідношення Гр (+) та Гр (-) флори в залежності від первинного вогнища інфекції.

Як видно з малюнка при локалізації первинного вогнища в ЛОР-органах та кістково-м'язовій системі переважали Гр (+) мікроорганізми, при локалізації гнійного вогнища в грудній порожнині з однаковою частотою зустрічалися Гр (+) та Гр (-) бактерії, при вогнищі, що локалізувалось в черевній порожнині та в ЦНС в більшості випадків виділялися Гр (-) збудники. Переважання Гр (-) флори при

локалізації первинного вогнища в ЦНС обумовлено частотою менінгококової інфекції, яка викликається, як відомо, Гр (-) збудником.

3.3 Клінічні особливості перебігу сепсису та локалізованої бактеріальної інфекції у дітей.

Згідно міжнародних критеріїв сепсис діагностували за наявністю 2-4 ознак ССЗВ або розвитку септичного шоку. Беручи до уваги останні рекомендації Сепсис-3, всі діти групи сепсису мали дві та більше ознак органної дисфункції.

В таблиці 3.3 відображено розподіл дітей обох груп в залежності від статі та віку.

Таблиця 3.3 – Вікова та статева структура дітей основної та групи порівняння

Ступінь важкості	Стать				Вік							
	Дівчата		хлопці		1-12 міс		2-5 років		6-12 років		13-18 років	
	Абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Основна група (n -47)	23	49,0	24	51,0	8	17,0	15	32,0	10	21,2	14	29,8
Група порівняння (n -68)	24	35,3	44	64,7	3	4,4	14	20,6	31	45,6	20	29,4*
Примітка: * - статистична значимість різниці дітей основної групи та групи порівняння за віком та статтю (p<0,05).												

Як видно з таблиці, розподіл по статі не відрізнявся в основній групі, тобто генералізованою інфекцією однаково хворіють діти обох статей, хоча в групі порівняння дещо переважали хлопчики (64,7 %). Незважаючи на відмінність в процентному співвідношенні дітей за статевою ознакою в обох групах, статистична різниця є не значимою (p=0,14), тому групи можна вважати репрезентативними по статі.

По віковому складу в групі порівняння переважали діти віком від 6 до 12 років, їх була майже половина - 45,6 % (31 дитина), практично однаковою була

кількість дітей віком 2-5 та 13-18 років – 23,5 % та 29,4 %, відповідно, та лише троє дітей були віком до 1 (4,4 %) року.

Серед дітей основної групи переважали діти віком 2-5 та 13-18 років – 32,0 % та 29,8 %, відповідно. Дітей вікової групи 6-12 років та віком до 1 року було дещо менше – 21,2 % та 17,0 %, відповідно.

Таблиця 3.4 – Ризик розвитку сепсису в залежності від віку

Вік	Показник	Значення показника	Середня похибка, s	Ді 95 %
1 міс.- 1 рік	ВР	1,92	0,22	1,24 - 2,94
	ВШ	1,74	0,29	0,98-3,00
2-5 років	ВР	1,37	0,22	0,88-2,09
	ВШ	1,50	0,43	0,65-3,49
6-12 років	ВР	0,49	0,29	0,27-0,87
	ВШ	0,69	0,48	0,27-1,77
13 – 18 років	ВР	1,02	0,24	0,63-1,63
	ВШ	1,17	0,45	0,48-2,83

Як видно з таблиці 3.4, у дітей віком від 1 місяця до 1 року ризик розвитку сепсису у 1,92 разу вищий, що пояснюється нездатністю до локалізації інфекційного процесу. В інших вікових групах показники ризику сепсису не були статистично вірогідним.

Діти в основній групі в залежності від кількості ознак ССЗВ та септичного шоку практично не відрізнялись по статі, дещо більше було хлопчиків в підгрупі септичного шоку (62,5 %) та переважали дівчата в підгрупі дітей з 4-ма ознаками ССЗВ, що, найбільш ймовірно, обумовлено малою чисельністю підгрупи. В підгрупі дітей із 2-ма ознаками ССЗВ була лише одна дитина (7,6 %) віком до 1-го року, діти останніх вікових груп були представлені з однаковою частотою - 30,8 %. Серед дітей, у яких було діагностовано три ознаки ССЗВ, переважали діти 2-5 та 13-18 років (35,7 %), дітей до 1 року було 21,4 %, та лише 1 дитина (7,2 %) була вікової групи 6-12 років. Діти підгрупи із чотирма ознаками ССЗВ були представлені дітьми старших вікових груп – 6-12 та 13-18 років - по 50,0 %. У підгрупі септичного шоку



переважали діти молодших вікових груп - в 25,0 % це були діти до 1 року та 37,5 % діти 2-5 років. Септичний шок у старших дітей було діагностовано з однаковою частотою ( по 18,7 %) в віковому проміжку 6-12 та 13-18 років.

Середній термін перебування у ВАІТ (відділенні анестезіології, реанімації та інтенсивної терапії) у дітей групи порівняння склав 5,14 днів ДІ 95 % [4,42-5,87], а дітей основної групи - 13,1 днів ДІ 95 % [9,16-17], що було в 2,5 рази довше ( $p < 0,01$ ).

В таблиці 3.5 наведені дані тривалості перебування у ВАІТ дітей основної групи в залежності від кількості ознак ССЗВ та наявності септичного шоку.

Таблиця 3.5 – Тривалість перебування в ВАІТ дітей основної групи в залежності від важкості стану

Підгрупа	Середня тривалість перебування в ВАІТ, дн.	ДІ 95 %, дн.
Сепсис ССЗВ 2 (n-13)	6,38*	3,70-9,07
Сепсис ССЗВ 3 (n-14)	8,86*	5,37-12,34
Сепсис ССЗВ 4 (n-4)	15,00	6,68-23,31
Септичний шок (n-16)	24,36*	13,50-35,20
Примітка: * ( $p < 0,05$ ) – статистично значима різниця між тривалістю перебування в ВАІТ дітей досліджуваної підгрупи та дітей із септичним шоком.		

Тривалість перебування у ВАІТ дітей із септичним шоком та чотирма ознаками ССЗВ була різною, але статистично значимої різниці між цими показниками не було ( $p \geq 0,05$ ), в той час як перебування дітей із двома ознаками ССЗВ було в 3,8, а з трьома ознаками ССЗВ - в 2,7 рази меншою, у порівнянні із дітьми з септичним шоком ( $p < 0,01$ ).

У таблиці 3.6 відображено показники та тривалість гіпертермічного синдрому у дітей обох груп.

Таблиця 3.6 – Показники та тривалість гіпертермічного синдрому у дітей основної групи та групи порівняння

Група	Середня температура, °С	Ді 95 %, °С	Тривалість гіпертермії, дні	Ді 95 %, дні
Основна група (n-47)	39,0*	38,8-39,2	10,1*	7,3-12,8
Група порівняння (n-68)	38,0*	37,9-38,2	3,7*	3,3-4,1
Примітка: *( $p < 0,05$ ) – статистично значима різниця між основною групою та групою порівняння.				

У дітей основної групи середні показники гіпертермії були достовірно вищими та тривала лихоманка в 2,7 рази довше ( $p < 0,05$ ), ніж у дітей групи порівняння.

Таблиця 3.7 – Показники та тривалість гіпертермічного синдрому у дітей основної групи в залежності від кількості ознак ССЗВ

Група	Середня температура, °С	Ді 95 %, °С	Тривалість гіпертермії, дні	Ді 95 %, дні
Сепсис ССЗВ 2 (n-13)	38,6*	38,3-38,8	5,2*	3,1-7,2
Сепсис ССЗВ 3 (n-14)	39,0	38,7-39,2	7,5	4,9-10,1
Сепсис ССЗВ 4 (n-4)	39,6	37,5-41,6	11,8	4,9-16,6
Септичний шок (n-16)	39,2	38,8-39,7	16,9	9,7-24,2
Примітка: *( $p < 0,05$ ) – статистично значима різниця між підгрупами основної групи.				

У підгрупах основної групи статистично значима різниця у рівні та тривалості гіпертермії була між дітьми з септичним шоком та дітьми з двома ознаками ССЗВ ( $p < 0,05$ ). Між дітьми інших підгруп різниця у показниках була статистично не значимою ( $p \geq 0,05$ ).

Тахікардія у дітей групи порівняння спостерігалась лише у 30,8 % (21 дитина) випадків, в той час, як в основній групі майже всі діти (93,6 %) мали пришвидшений пульс. Середній рівень тахікардії основної групи склав 150,85 уд/хв. Ді 95 % [144,57-157,13], яка тривала 6,6 днів Ді 95 % [4,72-8,38], в той час як в групі порівняння – 123,70 уд/хв Ді 95 % [118,30-129,10] та 2,1 дні Ді 95 % [1,26-2,92],

відповідно. Таким чином в основній групі тахікардія тривала довше ніж в 3 рази та рівень тахікардії був достовірно вищим ( $p < 0,01$ ).

У таблиці 3.8 відображено рівень та тривалість тахікардії у дітей основної групи в залежності від важкості стану.

Таблиця 3.8 – Рівень ЧСС та тривалість тахікардії у дітей основної групи в залежності від важкості стану

Підгрупа	Рівень ЧСС, уд/хв.	ДІ 95 %	Тривалість тахікардії, дні	ДІ 95 %
Сепсис ССЗВ 2 (n-13)	136,0*	124,4-147,9	2,90*	1,50-4,20
Сепсис ССЗВ 3 (n-14)	151,3	142,4-160,3	5,21	3,60-6,90
Сепсис ССЗВ 4 (n-4)	137,5	118,5-156,5	6,75	4,40-9,10
Септичний шок (n-16)	165,8	155,4-176,2	11,31	6,99-15,60
Примітка: * - статистично значима різниця між дітьми із септичним шоком та іншими підгрупами ( $p < 0,05$ )				

В залежності від кількості ознак ССЗВ та наявності септичного шоку у дітей основної групи також спостерігалися певні відмінності у рівні та тривалості тахікардії. Слід відзначити, що статистично значима різниця спостерігалась між групами дітей із септичним шоком та дітей із двома ознаками ССЗВ. Брадикардія не була зафіксована у жодної дитини із груп спостереження.

Аналізуючи показники рівня та тривалості тахіпноє, були отримані аналогічні результати: в основній групі статистично значима різниця відмічалась, як по рівню задишки, так і по її тривалості (38,55 дих/хв. ДІ 95 % [34,88-42,22] та 8,10 днів ДІ 95 % [5,90-10,23]) у співставленні із показниками групи порівняння (27,90 дих/хв. ДІ 95 % [25,88-29,96] та 2,40 днів ДІ 95 % [1,70-3,10]) ( $p < 0,05$ ). У групі порівняння у 16 (23,50 %) дітей не фіксувалась задишка взагалі і лише одна дитина (1,5 %) потребувала оксигенотерапії, в той час як в основній групі 19 (40,4 %) дітей потребували оксигенотерапії.

У таблиці 3.9 наведені показники тахіпноє у дітей основної групи в залежності від кількості ознак ССЗВ та наявності ознак септичного шоку.

Таблиця 3.9 – Рівень ЧД та тривалість тахіпноє у дітей основної групи в залежності від важкості стану

Підгрупа	Рівень ЧД, дих./хв.	Ді 95 %	Тривалість тахіпноє, дні	Ді 95 %
Сепсис ССЗВ 2 (n-13)	31,4*	24,9-37,8	4,0*	1,6-6,4
Сепсис ССЗВ 3 (n-14)	39,8	33,4-46,3	6,5	4,0-8,9
Сепсис ССЗВ 4 (n-4)	29,0	18,4-39,5	10,0	4,3-15,6
Септичний шок (n-16)	45,6	39,1-52,1	14,4	9,4 – 19,5
Примітка: * - статистично значима різниця між дітьми із септичним шоком та іншими групами ( $p < 0,05$ )				

Статистично значима різниця ( $p < 0,05$ ) відмічалась між групою дітей із двома ознаками ССЗВ та групою септичного шоку, в інших групах, незважаючи на відмінність показників, різниця була статистично не значима ( $p \geq 0,01$ ). Крім того, рівень тахіпноє найнижчий у групі дітей із чотирма ознаками ССЗВ можна пояснити вищим середнім віком дітей, які ввійшли у цю групу, малою чисельністю групи, появою у частини дітей парадоксального дихання.

У залежності від кількості ознак ССЗВ та наявності септичного шоку, у дітей в різних підгрупах основної групи були отримані наступні результати рівня сатурації, які відображені в таблиці 3.10.

Таблиця 3.10 – Рівень сатурації в залежності від кількості ознак ССЗВ та наявності септичного шоку

Підгрупа	Рівень сатурації, %	ДІ 95 %
Сепсис ССЗВ 2 (n-13)	95,7*	93,4-97,9
Сепсис ССЗВ 3 (n-14)	96,1*	95,5-96,7
Сепсис ССЗВ 4 (n-4)	96,5	94,4-98,5
Септичний шок (n-16)	92,3	90,0-94,6

Примітка: \* - статистично значима різниця між дітьми із септичним шоком та іншими групами (  $p < 0,05$  )

В основній групі в залежності від кількості ознак ССЗВ та наявності септичного шоку оксигенотерапія проводилась у 19 (40,0 %) дітей, зокрема, в однієї дитини (7,6 %) із двома ознаками ССЗВ, у двох (14,3 %) дітей із трьома ознаками ССЗВ, у однієї дитини (25,0 %) – чотирма ознаками ССЗВ та в 15 (93,8 %) дітей із септичним шоком. У більшій половині (56,3%) дітей із проявами септичного шоку киснева терапія проводилась у вигляді ШВЛ. Оксигенотерапія через маску в групі септичного шоку тривала 4,1 дні ДІ 95 % [2,5- 5,6], а ШВЛ підтримка – 12,9 днів ДІ 95 % [2,9- 22,9].

Діти основної групи мали ознаки гемодинамічних та мікроциркуляторних розладів, які ми фіксували при наявності мармуровості, акроціанозу та подовження наповнення периферичних капілярів кров'ю довше трьох секунд (симптом білої плями). На рисунку 3.6 відображенні основні показники порушення цих функцій в залежності від кількості ознак ССЗВ та наявності септичного шоку.

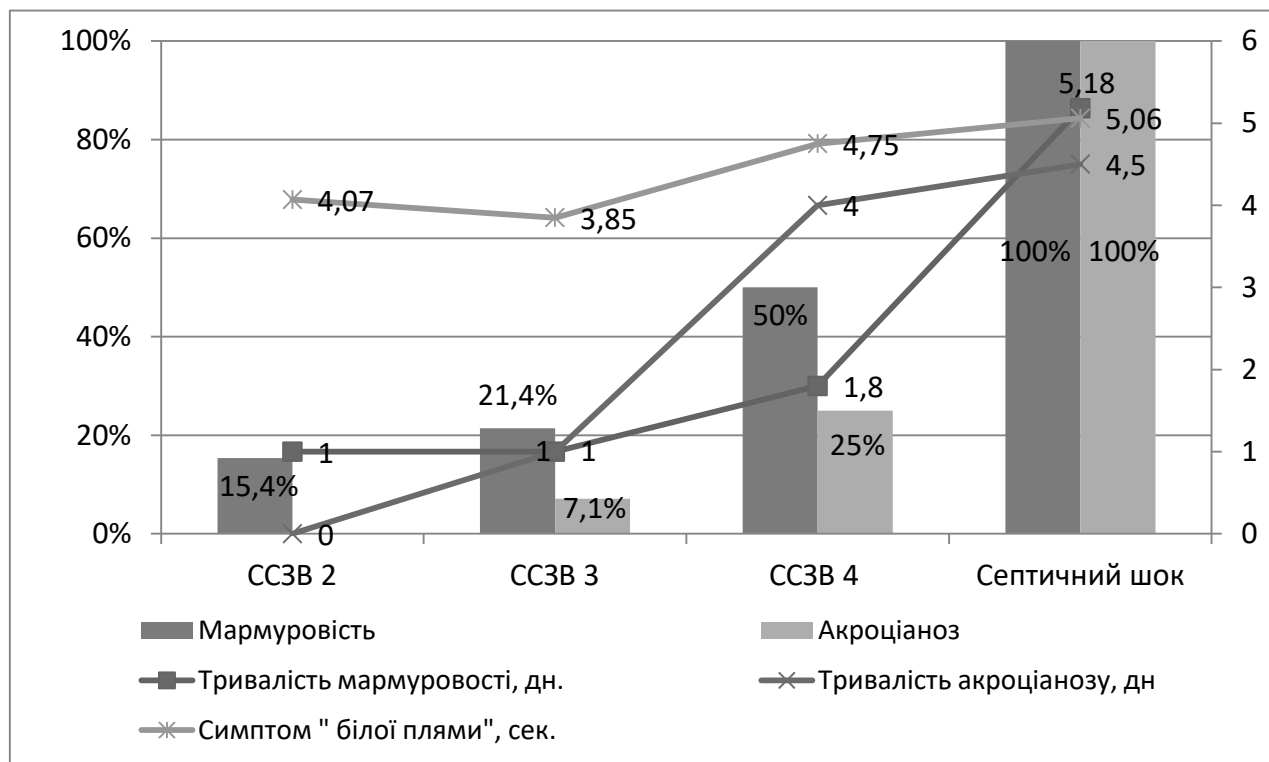


Рисунок 3.6 – Вираженість та тривалість мікроциркуляторних порушень у дітей основної групи в залежності від важкості стану

У дітей із двома ознаками ССЗВ лише в 15,4 % (двох дітей) спостерігалась мармуровість, яка тривала 1 день, та в жодної дитини не спостерігався акроціаноз, симптом «білої плями» був подовжений у всіх дітей і в складав, у середньому, 4,07 сек ДІ 95 % [3,80-4,20]. У дітей підгрупи з трьома ознаками ССЗВ мармуровість спостерігалась в 21,4 % (3 дит.), акроціаноз - в 7,1 % (1 дит.) та тривали вони, в середньому, 1 день, симптом «білої плями» був подовжений і тривав 3,85 секунд ДІ 95 % [3,50-4,20]. У половини дітей із чотирма ознаками ССЗВ спостерігалась мармуровість та в 25,0 % акроціаноз, які тривали 1,8 дн. та 4,0 дн., відповідно. Симптом «білої плями» був подовжений у всіх дітей та тривав 4,75 секунд ДІ 95 % [3,95-5,54]. У всіх дітей при розвитку септичного шоку спостерігалось порушення мікроциркуляції - мармуровість тривала, в середньому, 5,2 дні, а акроціаноз – 4,5 дні. Симптом «білої плями» був подовжений і в середньому складав 5,06 сек. ДІ 95 % [4,90-5,20]. Статистично значима різниця в подовженні заповнення периферичних капілярів кров'ю ( $p < 0,01$ ) спостерігалась між дітьми із септичним шоком, чотирма ознаками ССЗВ у порівнянні із дітьми з двома-трьома ознаками ССЗВ.

У всіх дітей підгрупи дітей зі септичним шоком спостерігалось зниження систолічного артеріального тиску і вони потребували іотропної підтримки, середня тривалість якої складала 4,6 дні ДІ 95 % [1,8-7,3]. Всім дітям іотропна підтримка проводилась допаміном в дозі від 5 до 10 мкг/кг/хв, у залежності від клінічного ефекту та вираженості гіпотонії. Окрім того у 43,8 % дітей спостерігались периферичні набряки та в 62,5 % - олігурія, яка була зумовлена гемодинамічними розладами.

У таблиці 3.11 відображено клінічні прояви сепсису в залежності від локалізації первинного вогнища.

Таблиця 3.11 – Клінічні прояви сепсису в залежності від первинного вогнища інфекції

Клінічні прояви	Черевна порожнина (n - 4)	Грудна порожнина (n - 8)	ЛОР органи (n - 9)	Кістково-м'язова система та м'які тканини (n - 14)	ЦНС та менінгококова інфекція (n - 12)
Тахікардія уд/хв	142,7	159,8	147,3	145,3	156,7
Ді 95 %, уд./хв	112,8-172,7	142,0-177,0	131,4-159,2	131,7-162,9	144,3-169,0
Тривалість тахікардії, дні	4,0	9,8*	8,7**	7,3	2,8*
Ді 95 %, дні	1,1-6,9	4,8-14,9	3,8-13,5	2,6-11,9	1,8-3,7
Задишка, р/хв	35,5	47,8***	30,9****	33,0*****	45,7**
Ді 95 %, р/хв..	22,2-48,8	37,8-57,7	24,1-37,7	26,8-39,2	38-53,2
Тривалість задишки, дні	6,5	15,4***	10,2	6,2	5,1*
Ді 95 %, дні	3,2-9,8	7,7-23,0	3,1-17,3	3,4-8,9	2,7-7,4
Гіпертермія, °С	39,1	38,8	39,4	39,2	38,8
Ді 95 %, °С	38,3-39,9	38,4-39,1	38,4-40,3	38,9-39,5	38,4-39,2
Тривалість гіпертермії, дні	8,3	14,6*	13,6**	9,9	5,3
Ді 95 %, дні	0,8-15,5	3,4-25,6	4,9-22,1	4,8-15	3,2-7,4

Примітки: \* ( $p < 0,01$ ) – статистично значима різниця між дітьми із локалізацією первинного вогнища у грудній порожнині та ЦНС.

\*\* ( $p < 0,01$ ) - статистично значима різниця між дітьми із локалізацією первинного вогнища ЛОР-органах та ЦНС.

\*\*\*( $p < 0,01$ ) – статистично значима різниця між дітьми із локалізацією первинного вогнища у грудній порожнині та кістково-м'язовій системі.

\*\*\*\*( $p < 0,01$ ) – статистично значима різниця між дітьми із локалізацією первинного вогнища у грудній порожнині та ЛОР-органах.

\*\*\*\*\* ( $p < 0,01$ ) – статистично значима різниця між дітьми із локалізацією первинного вогнища у кістково-м'язовій системі та ЦНС.



Як видно з таблиці, найбільш виражена тахікардія була при локалізації первинного вогнища інфекції в грудній порожнині, але статистично значимої різниці між дітьми із різною локалізацією первинного вогнища нами виявлено не було. Тахікардія найдовше утримувалась при первинному вогнищі в ЛОР-органах та грудній порожнині, найменше - у дітей із первинним вогнищем інфекції в ЦНС. Статистично значима різниця відмічалась між дітьми із первинним вогнищем інфекції в грудній порожнині, ЛОР-органах у порівнянні з дітьми, в яких бактеріальний процес локалізувався в ЦНС ( $p < 0,01$ ).

Найвищий рівень задишки спостерігвся у дітей із первинною інфекцією в грудній порожнині та ЦНС. Аналогічно як і показники тахікардії, найнижчі показники тахіпноє відмічались при локалізації первинного вогнища в ЛОР-органах. Задишка була більш виражена у дітей із первинним вогнищем в грудній порожнині по відношенню до дітей із інфекцією кістково-м'язової системи і ЛОР-органів ( $p < 0,01$ ) та у дітей із первинним вогнищем в ЦНС по відношенню до дітей із первинним бактеріальним процесом в кістково-м'язовій системі та м'яких тканинах ( $p < 0,01$ ). Тривалість задишки була найдовшою у дітей із первинним вогнищем в грудній порожнині та ЛОР-органах, найшвидше нормалізувалась частота дихань у дітей із бактеріальною інфекцією в ЦНС. Статистично значима різниця відмічалась між дітьми з первинним вогнищем у грудній порожнині по відношенню до дітей із інфекцією, локалізованою в ЦНС та кістково-м'язовій системі.

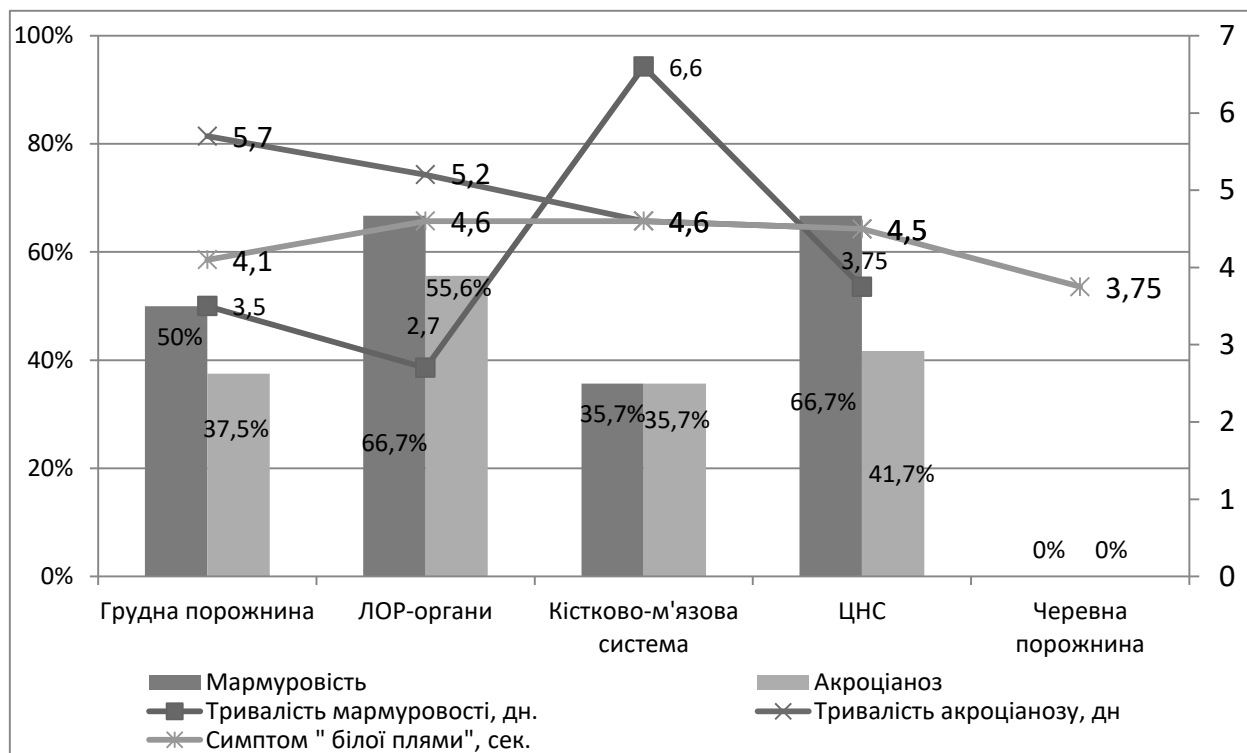
В основній групі дітей із первинним вогнищем інфекції в грудній порожнині у 50,0 % випадків (4 дит.) проводилась оксигенотерапія через маску, середня тривалість якої склала (медіана, інтерквартильний проміжок) 3,5 дні [3,0-10,0], ШВЛ підтримка - в 12,5 % осіб (1 дитина) та тривала 31,0 день. У дітей із бактеріальним вогнищем у кістково-м'язовій системі та м'яких тканинах у 35,7 % випадків (5 дітей) проводилась оксигенотерапія спочатку через маску, а пізніше всі вони були переведені на ШВЛ, середня тривалість якої була 14,0 дні [1,0-20,0]. У 44,4 % хворих дітей (4 дитини) із первинним вогнищем, локалізованим у ЛОР-органах, потребували оксигенотерапії через маску, яка тривала 2,5 дні [1,5-5,0], та 22,2 % дітей (2 дитини) потребували ШВЛ підтримки, яка тривала 4,5 дні [3-6]. При

бактеріальній інфекції ЦНС 50,0 % дітей (6 дітей) отримували оксигенотерапію і лише одна дитина (8,3 %) із них потребувала ШВЛ підтримки, яка тривала 5,0 дн., інші діти отримували оксигенотерапію через маску, яка тривала 3,5 дн. [2,0-6,0]. Діти із локалізацією первинного вогнища в черевній порожнині взагалі не потребували оксигенотерапії. Статистично значимої різниці в тривалості оксигенотерапії та ШВЛ підтримки не було між дітьми із різною локалізацією первинного вогнища.

Найвища гіпертермія фіксувалась у дітей із інфекцією в ЛОР-органах, хоча слід зазначити, що суттєвої розбіжності в показниках гіпертермічного синдрому в залежності від локалізації первинного вогнища не спостерігалось в усіх досліджуваних випадках ( $p > 0,05$ ). Найдовше гіпертермія тривала у дітей із інфекцією локалізованою в грудній порожнині та ЛОР-органах, в той час як у дітей із інфекцією ЦНС вона була не тривала, між дітьми цих підгруп відмічалась статистично значима різниця показників ( $p < 0,01$ ).

Узагальнюючи отримані дані можна зробити висновок, що найбільш виражені клінічні показники (тахікардія, гіпертермія, задишка) відмічались у дітей із локалізацією інфекції у грудній порожнині, та утримувалися найдовше, в той час, як у дітей із первинним бактеріальним вогнищем локалізованим у ЦНС, незважаючи на високі їх показники тривалість їх була найкоротша.

Ми проаналізували наявність мікроциркуляторних розладів у дітей в залежності від локалізації первинного вогнища інфекції, що відображено на рисунку 3.7.



Риунок 3.7 – Вираженість та тривалість мікроциркуляторних порушень у дітей основної групи в залежності від локалізації первинного вогнища інфекції.

Як видно з рисунку, при локалізації первинного вогнища в черевній порожнині у дітей не спостерігалось порушення мікроциркуляції, окрім незначного подовження «симптому білої плями» - 3,75 секунд ДІ 95 % [2,90-4,50]. Частка дітей із мармуровістю та акроціанозом практично не відрізнялась в залежності від локалізації первинного вогнища інфекції, дещо в меншій кількості дітей мікроциркуляторні порушення спостерігались при первинному вогнищі в кістково-м'язовій системі (35,7 %), хоча тривалість мармуровості була найдовша у цих дітей - 6,6 дні ДІ 95 % [4,3-8,8]. Найшвидше прояви мармуровості зникали у дітей із первинним вогнищем локалізованим у ЛОР-органах – 3,2 дня ДІ 95 % [0,5-5,9]. Симптом «білої плями» тривав однаково при інфекції кістково-м'язової системи і ЛОР органів - 4,6 секунд ДІ 95 % [4,2-4,9] та був статистично значимо довший, в порівнянні із дітьми з інфекцією черевної порожнини – 3,75 секунд ДІ 95 % [2,90-4,50] ( $p < 0,05$ ).

Іонотропної підтримки найбільше потребували діти із первинним вогнищем у ЛОР-органах – 44,4 % випадків, зовсім не її потребували діти із локалізацією

первинного вогнища в черевній порожнині. У 41,7 %, 35,7 % та 25,0 % діти потребували іонотропної підтримки при локалізації первинного вогнища в ЦНС, кістково-м'язовій системі та грудній порожнині, відповідно. Середня тривалість іонотропної підтримки (медіана, інтерквартильний інтервал) складала при локалізації первинного вогнища в кістково-м'язовій системі – 4 дні [2-5], в ЛОР-органах – 2 дні [1,5-2,5], в ЦНС – 3 дні [2-6] та в грудній порожнині - 11 днів [1-21], статистично значимої різниці між показниками ми не спостерігали ( $p > 0,05$ ).

Підводячи підсумок з'ясуємо що при локалізації інфекції у черевній порожнині дають рідко генералізований інфекційний процес, у той час, як інфекції ЛОР-органів та кістково-м'язовій системі та м'яких тканинах є фактором ризику генералізації та дітям із такою локалізацією бактеріальної інфекції має приділятися увага на появу ознак генералізації та розвитку сепсису. Гр (+) флора є першочерговим збудником, як для локалізованих так і для генералізованих форм інфекції, хоча в залежності від локалізації первинного вогнища є певні відмінності в переважній кількості випадків.

Клінічні особливості перебігу локалізованих та генералізованих бактеріальних інфекцій у дітей викладено у таких друкованих працях:

1. Пипа Л.В. Мургіна М.М. Порівняльний аналіз інформативності сучасних біомаркерів сепсису у дітей. Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології. 2017. Т.11. № 1. С. 14-22.
2. Пипа Л.В. Мургіна М.М. Сучасні уявлення про патогенез і діагностику гнійно-септичних станів у дітей. Інфекційні хвороби. 2017. № 2 (88). С. 32-40.
3. Мургіна М.М. Клінічні особливості перебігу локалізованих та генералізованих бактеріальних інфекцій у дітей. Актуальна інфектологія. 2017. Т. 5. № 3. С. 32-37.

## РОЗДІЛ 4

### ЛАБОРАТОРНІ ЗМІНИ ТА РІВНІ ПРОКАЛЬЦИТОНІНУ, TNF- $\alpha$ , ПРЕСЕПСИНУ ПРИ СЕПСИСІ ТА ЛОКАЛІЗОВАНИХ БАКТЕРІАЛЬНИХ ІНФЕКЦІЯХ У ДІТЕЙ

Висока смертність від сепсису в більшості випадків обумовлена його пізньою діагностикою і недосконалим моніторингом лікування. Рання діагностика сепсису дозволяє швидко розпочати ефективну антимікробну терапію, що дає шанс на виживання тисячам пацієнтів. Особливо актуально це питання стоїть у педіатрії [7, 49].

Неспецифічність клінічних проявів та загальнолабораторних показників при септичних станах у дітей ставить перед дослідниками питання про пошук надійних біомаркерів генералізації інфекційного процесу.

У доступних літературних джерелах є роботи по значенню прокальцитоніна, як діагностичного маркера сепсису у дітей в той час як новий біомаркер пресеписин не досліджувався для діагностики сепсису в дитячому віці.

#### 4.1. Особливості загальноклінічних лабораторних показників у дітей із сепсисом.

У ході загальноклінічного обстеження дітям проводили загальний аналіз крові із підрахунком лейкоцитарної формули, біохімічні дослідження, які відображали функціональний стан органів та систем (загальний білок, СРБ, АЛТ, АСТ, загальний білірубін, сечовина, креатинін, рівень калію, натрію, глюкози).

У загальному аналізі крові у дітей основної та групи порівняння оцінювався рівень лейкоцитів, як один із критеріїв ССЗВ. Лейкопенія, як критерій ССЗВ, у дітей основної групи відмічався у чотирьох випадках, у групі порівняння - в одній дитині. Лейкоцитоз спостерігався у 97,8% (46) дітей основної групи та у 73% (50)

дітей групи порівняння. У таблиці 4.1 відображенні дані про рівень та тривалість лейкоцитозу у дітей основної та групи порівняння.

Таблиця 4.1 – Рівень та тривалість лейкоцитозу у дітей досліджуваних груп

Група	Лейкоцитоз 10 <sup>9</sup> /л	Ді 95 %, 10 <sup>9</sup> /л	Тривалість лейкоцитозу, дні	Ді 95 %, дні
Основна група (n-47)	24,2*	22,1-27,1	9,6*	6,7-12,4
Група порівняння (n-68)	17,1	15,2-18,8	3,5	2,4-4,6
Примітка: * статистична значимість різниці між показниками лейкоцитозу та його тривалості у дітей з сепсисом та локалізованою бактеріальною інфекцією				

Дані таблиці свідчать, що у дітей основної групи лейкоцитоз сягав значно вищих цифр і тривалість його була в 2,6 рази довша, ніж у дітей групи порівняння ( $p < 0,01$ ).

В основній групі в залежності від кількості ознак ССЗВ та септичного шоку також відмічалась певна різниця в тривалості та рівні лейкоцитозу, про що свідчать дані таблиці 4.2

Таблиця 4.2 – Рівень та тривалість лейкоцитозу у дітей основної групи в залежності від кількості ознак ССЗВ та наявності септичного шоку

Підгрупа	Лейкоцитоз 10 <sup>9</sup> /л	Ді 95 %, 10 <sup>9</sup> /л	Тривалість лейкоцитозу, дні	Ді 95 %, дні
2 ССЗВ (n-13)	17,3*	12,3-22,4	4,2**	2,5-5,9
3 ССЗВ (n-14)	27,0	20,3-33,7	6,5***	4,7-8,2
4 ССЗВ (n-4)	26,8	16,0-37,7	13,5**	7,6-19,3
Септичний шок (n-16)	26,7	21,4-32,1	15,7	8,2-23,1
Примітки: * $p < 0,05$ між підгрупою дітей з 2 ССЗВ та іншими підгрупами ** $p < 0,05$ статично значима різниця між підгрупами дітей з 2 ССЗВ та 4 ССЗВ *** $p < 0,01$ статично значима різниця між підгрупами дітей з 2 ССЗВ та септичним шоком **** $p < 0,05$ статично значима різниця між підгрупами дітей з 3 ССЗВ та септичним шоком.				

Як видно із даних таблиці середні показники рівня лейкоцитозу практично не відрізнялись у дітей з трьома, чотирма ознаками ССЗВ та наявністю септичного шоку, статистично значима різниця відмічалась лише у дітей із підгрупи із двома ознаками ССЗВ в порівнянні з іншими підгрупами, тобто, тривалість лейкоцитозу зростала із зростанням важкості стану. У дітей із септичним шоком лейкоцитоз тривав в 3,7 рази довше, ніж у дітей із двома ознаками ССЗВ.

Зсув лейкоцитарної формули вліво спостерігався у 100,0 % дітей основної групи та у 55,9 % групи порівняння. Кількість паличкоядерних форм нейтрофілів у дітей із сепсисом в середньому становила 16,4 % ДІ 95 % [13,4-19,5], а при локалізованій бактеріальній інфекції – 8,3 % ДІ 95 % [6,6-10,0]. Різниця між групами була статистично значима ( $p < 0,01$ ), чого не спостерігалось між підгрупами основної групи (в залежності від кількості ознак ССЗВ та наявності септичного шоку).

Прискорення ШОЕ спостерігалось в обох групах спостереження, однак середнє значення в основній групі було в 1,5 раз вище, ніж в групі порівняння і складало 41,1 мм/год ДІ 95 % [35,8-46,4] та 28,0 мм/год ДІ 95 % [24,6-31,4], різниця була статистично значима ( $p < 0,01$ ). Тривалість прискорення ШОЕ також у дітей із сепсисом була в 2,4 рази вища, ніж у дітей із локалізованою бактеріальною інфекцією, та складала 12,9 дні ДІ 95 % [9,2-16,6] і 5,3 дні ДІ 95 % [4,1-6,4], відповідно.

З боку «червоної крові» у дітей основної групи спостерігалась анемія у 36 обстежених, що складало 76,6 %, в той час як в групі порівняння анемічний синдром відмічався в 3,7 разів рідше - у 14 дітей, що склало 20,6 %. У групі порівняння в 11 дітей (78,6 %) анемія була легкого ступеню і лише в трьох дітей (21,4 %) вона була зі середнім ступенем важкості. В основній групі у 66,7 % дітей було зафіксовано легкий і в 33,3 % дітей - середній та важкий ступінь анемії. Анемічний синдром тривав в основній групі дещо довше у співставленні з дітьми із локалізованою бактеріальною інфекцією - 9,96 дні ДІ 95 % [7,10-12,60] та 7,02 дні ДІ 95 % [4,20-9,80], відповідно, статистично значимої різниці не відмічалось ( $p = 0,35$ ).

Тромбоцитопенія у дітей із сепсисом спостерігалась в 27,7 % випадків (13 дітей), серед яких 1 дитина без ознак септичного шоку та 12 дітей із проявами

септичного шоку, в т.ч. у трьох померлих дітей. У групі порівняння всього в 4,4 % (3 дитини) випадків спостерігалось незначне зниження числа тромбоцитів периферичної крові, тобто, в 6,2 разів рідше ( $p < 0,001$ ).

Із біохімічних змін у майже третини дітей (27,9 %) із локалізованою бактеріальною інфекцією спостерігалась помірна гіпопротеїнемія. У таблиці 4.3 представлені дані про відхилення біохімічних показників у дітей основної групи, що було критеріями органної дисфункції.

Таблиця 4.3 – Зміни в біохімічних аналізах крові у дітей основної групи

Показник	Кількість дітей	%
Гіпопротеїнемія	20	42,5
Гіпербілірубінемія	5	10,0
Підвищення рівня АЛТ, АСТ	12	25,5
Підвищення рівня креатиніну	6	12,8
Гіперкаліємія	5	10,0
Гіпокаліємія	9	19,1
Гіперглікемія	16	34,0
Гіпоглікемія	6	12,8

Як видно із таблиці, у дітей із сепсисом найчастіше спостерігалось зниження рівня загального білка та порушення вуглеводного обміну. У кожній четвертій дитини відмічались ознаки ураження печінки, що лабораторно проявлялось підвищенням рівня трансаміназ, але пігментна функція печінки порушувалась менше і гіпербілірубінемія фіксувалась лише в 10,0 % обстежених дітей. Майже в два рази частіше фіксувалась гіпокаліємія в порівнянні з гіперкаліємією.

Таким чином, у дітей із сепсисом лейкоцитоз є більш вираженим у порівнянні із дітьми з локалізованою бактеріальною інфекцією, але в залежності від важкості перебігу септичного стану чіткої закономірності між величиною лейкоцитозу та важкістю ми не спостерігали, однак тривалість останнього зростала при важчому перебігу сепсису та розвитку септичного шоку. Анемія супроводжує септичний стан майже в 75,0 % випадків, тому на це слід звертати увагу, оскільки вона призводить до загальної гіпоксії, що погіршує перебіг захворювання. Тромбопенія практично



завжди супроводжує розвиток септичного шоку, що обумовлено як секвестрацією крові, так і споживанням тромбоцитів при розвитку ДВЗ-синдрому. При сепсисі у дітей найчастіше страждає печінкова функція, що призводить до гіпопротеїнемії, підвищення рівня трансаміназ. Діти потребують постійного контролю рівня глюкози, оскільки у третини із них розвивається гіперглікемія.

#### 4.2 Рівень СРБ у дітей із сепсисом локалізованими інфекціями.

При визначенні середніх рівнів СРБ нами отримані наступні результати (рис. 4.1)

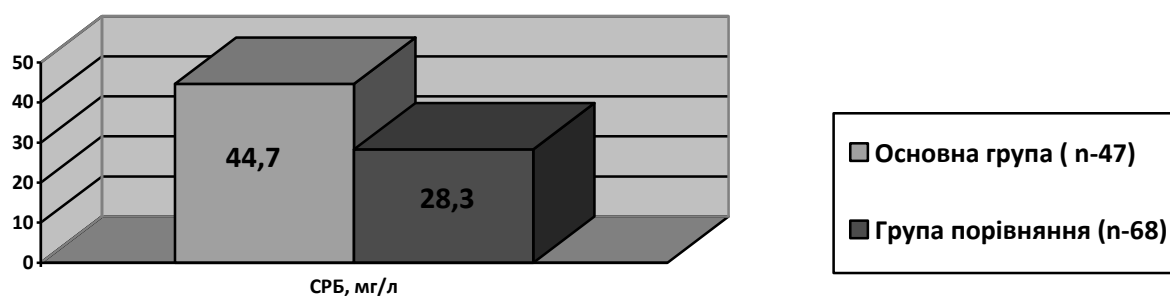


Рисунок 4.1 – Концентрація СРБ у дітей із сепсисом та локалізованою бактеріальною інфекцією. ( $p < 0,01$ )

Як видно з рисунку рівень СРБ був вищим у дітей із сепсисом (44,7 мг/л ДІ 95 % [35,0 -54,3]). У порівнянні із дітьми із локалізованим бактеріальним запальним процесом (28,3 мг/л ДІ 95 % [22,4-34,2]). При аналізі рівня СРБ в підгрупах дітей основної групи результати представлені в таблиці 4.4

Таблиця 4.4 – Рівень СРБ у дітей основної групи в залежності від кількості ознак ССЗВ та наявності септичного шоку

Підгрупа	Рівень СРБ мг/л	ДІ 95 %
2 ССЗВ (n-13)	23,5*	9,5-37,5
3 ССЗВ (n-14)	47,6	27,8-67,3
4 ССЗВ (n-4)	54,0	5,9-102
Септичний шок (n-16)	57,0	39,1-74,8

Примітка: \*  $p < 0,05$  – між дітьми з 2-ма ССЗВ та іншими підгрупами.

Як видно з таблиці, зі зростанням важкості стану зростає концентрація СРБ в сироватці крові дітей із сепсисом, але статистично значима різниця відмічається лише з дітьми, в яких діагностували дві ознаки ССЗВ.

Для оцінки чутливості та специфічності діагностичного тесту – рівня СРБ сироватки крові, ми користувались референтними значеннями, отриманими шляхом розрахунку довірчих інтервалів середніх значень у групах, оскільки літературні дані чіткого визначення референтних значень не дають. Локалізована інфекція діагностувалась при рівні СРБ 22-34 мг/л, а генералізована - 35 мг/л та вище.

Таблиця 4.5 – Чутливість, специфічність та позитивна прогностична цінність рівня СРБ для діагностики сепсису та локалізованої бактеріальної інфекції

Стан	Чутливість, %	Специфічність, %	ПЦПР, %
Локалізована бактеріальні інфекція	55,3	63,4	63,6
Сепсис	46,8	51,5	52,4

Таким чином, невисока чутливість та специфічність не дають можливості використовувати СРБ для диференційної діагностики сепсису та локалізованого бактеріального процесу.

#### 4.3 Рівень TNF- $\alpha$ у дітей із сепсисом

Дослідження проводилось в перший день при поступленні дитини у стаціонар.

На рис. 4.2 представлені результати визначення рівня TNF- $\alpha$ .

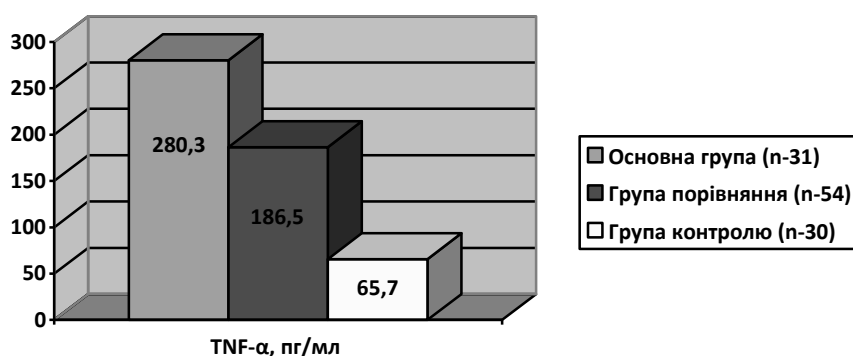


Рисунок 4.2 – Середній рівень TNF- $\alpha$  у дітей досліджуваних груп та групи контролю.

Як видно із представлених даних, середній рівень TNF- $\alpha$  у дітей основної групи складав 280,3 пг/мл ДІ 95 % [243,9-316,7], що було в 1,5 рази вище ніж у дітей із локалізованим бактеріальним процесом, де середній рівень даного цитокіну був 186,5 пг/мл ДІ 95 % [163,1-209,9], та в 4,2 рази вище в порівнянні із дітьми групи контролю (65,7 пг/мл ДІ 95 % [56,7-74,8]). У дітей із групи порівняння рівень TNF- $\alpha$  був в 2,8 рази вище при співставленні із дітьми без ознак запального процесу. Різниця між показниками груп була статистично значима ( $p < 0,01$ ).

Аналізуючи рівні TNF- $\alpha$  у дітей основної групи в залежності від кількості ознак ССЗВ та наявності септичного шоку, статистичної значимої різниці ми не виявили, але слід зазначити що найвищий рівень TNF- $\alpha$  був у дітей із двома ознаками ССЗВ та практично не відрізнявся у дітей зі зростанням кількості ознак ССЗВ, при діагностованому септичному шоці рівень TNF- $\alpha$  був найнижчим, що можна пояснити розвитком «паралічу імунної системи» при даному стані та зумовлює важкість захворювання.

Так як немає розроблених величин для диференційної діагностики за допомогою TNF- $\alpha$  сепсису та локалізованої бактеріальної інфекції, для визначення специфічності та чутливості даного маркера ми керувались визначеними довірчими інтервалами середньої величини. При визначенні специфічності, чутливості та прогностичної цінності позитивного результату (ПЦПР) рівня TNF- $\alpha$  у дітей із локалізованим та генералізованим інфекційним процесом отримані нами дані представлені в таблиці 4.6

Таблиця 4.6 – Чутливість, специфічність та прогностична цінність позитивного результату рівнів TNF- $\alpha$  для діагностики локалізованої бактеріальної інфекції та сепсису

Стан	Чутливість, %	Специфічність, %	ПЦПР, %
Локалізована бактеріальні інфекція	44	90	56
Сепсис	61	81	65

Як видно із таблиці чутливість методу є низькою, тому не дозволяє нам з впевненістю діагностувати сепсис чи локалізовану бактеріальну інфекцію за допомогою рівнів TNF- $\alpha$  сироватки крові. Однак, вища специфічність (90% та 81%

при локалізованій бактеріальній інфекції та сепсисі, відповідно) при низькому рівні TNF- $\alpha$  без ознак шоку свідчить про відсутність сепсису чи бактеріальної інфекції.

Отже не висока чутливість для діагностики, як сепсису, так і локалізованої бактеріальної інфекції, не дозволяє використовувати TNF- $\alpha$ , як надійний діагностичний маркер. Крім того, як і СРБ, так і TNF- $\alpha$ , не є специфічними маркерами саме бактеріальної інфекції, оскільки підвищення їх рівнів спостерігається і при не інфекційному запаленні.

#### 4.4 Рівень прокальцитоніну у дітей із сепсисом та локалізованими бактеріальними інфекціями

Потенціал досліджень ПКТ у дітей при сепсисі досить обмежений, особливо серед вітчизняних дослідників, що потребує подальшого вивчення для визначення його діагностичної ролі у порівнянні з іншими маркерами сепсису [164].

В основній групі середній рівень ПКТ був 4,060 нг/мл ДІ 95 % [2,340-5,690], а в групі порівняння – 0,860 нг/мл ДІ 95 % [0,770- 1,030], в групі контролю - 0,024 нг/мл ДІ 95 % [0,020-0,030], між групами різниця була статистично значима ( $p < 0,01$ ). Дані представлені на рис. 4.3

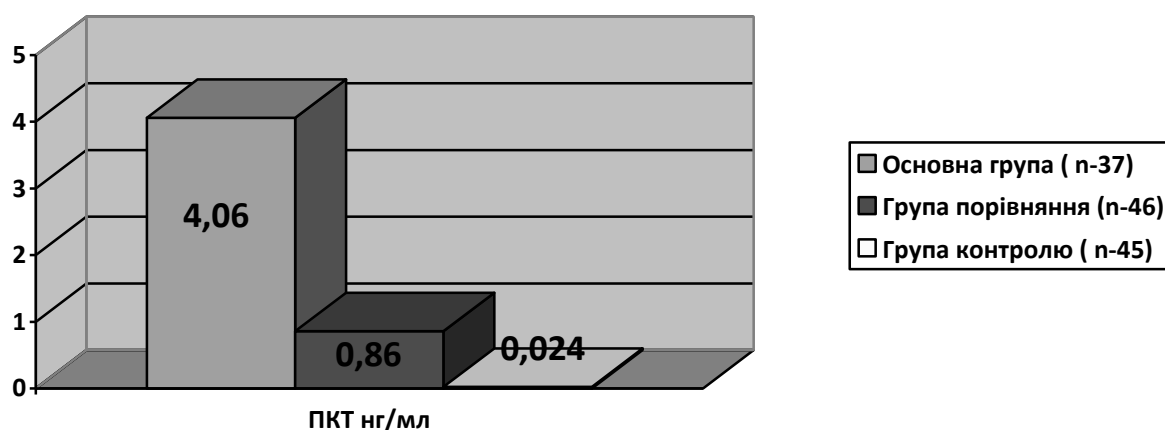


Рисунок 4.3 – Рівень ПКТ у дітей досліджуваних груп

У залежності від важкості перебігу септичного стану у дітей основної групи були отримані результати, які відображені в таблиці 4.7 Оскільки дітей із чотрьма

ознаками ССЗВ було лише двоє, доцільно їх об'єднати для аналізу з дітьми із трьома ознаками в одну підгрупу.

Таблиця 4.7 – Рівень ПКТ в залежності від кількості ознак ССЗВ та наявності септичного шоку у дітей основної групи

Підгрупа	Рівень ПКТ нг/мл	ДІ 95 %
2 ССЗВ (n-9)	3,10	1,90-4,30
3 ССЗВ та 4 ССЗВ (n-13)	3,80	3,10-4,40
Септичний шок (n-13)	4,99	3,50-6,40

Як видно із таблиці, рівень ПКТ зростає зі зростанням важкості стану, але статистично значимої різниці ми не спостерігали ( $p > 0,05$ ). Можна зробити припущення, що це обумовлено тим, що ПКТ не відображає розвиток сепсису «on-line», тому проведення аналізу в перші години після поступлення потребує повторного визначення даного маркеру в динаміці.

У дітей при виявленні рівня прокальцитоніну сироватки крові вище 2 нг/мл відносний ризик розвитку сепсису дорівнює - 5,3 (ДИ 95 % [3,45-8,16],  $S = 0,27$ ), в той час як відношення шансів – 30 (ДИ 95 % [11,7-76,7],  $S = 0,48$ ), тобто, при рівні ПКТ вище 2 нг/мл у 30 разів вище ризик розвитку сепсису, ніж у дітей із нижчим рівнем даного маркеру.

У таблиці 4.8 відображені дані про чутливість та специфічність ПКТ для діагностики сепсису і бактеріальної інфекції. За референтні значення для розрахунку бралися загальноприйняті показники – 0,5-2 нг/мл при локалізованих бактеріальних інфекціях та вище 2 нг/мл – сепсис.

Таблиця 4.8 – Чутливість та специфічність рівня ПКТ

Стан	Чутливість, %	Специфічність, %	ПЦПР, %
Локалізована бактеріальні інфекція	83	84	65
Сепсис	87	90	78

Отже, виходячи з представлених розрахунків, можна зробити висновок, що ПКТ є надійнішим біомаркером для діагностики локалізованої бактеріальної інфекції та сепсису в порівнянні з СРБ та TNF- $\alpha$ , що дозволяє його використовувати як для діагностики сепсису так і для бактеріальної інфекції в локалізованій формі.

#### 4.5 Рівень пресепсину у дітей із сепсисом

Останні дослідження показали, що ПСП є високоспецифічним маркером сепсису і фагоцитозу. ПСП точно діагностує локальну інфекцією, сепсис і септичний шок і диференціює їх від ССЗР, що не пов'язаний із інфекціями [7, 9, 120, 180, 187].

Нами проведено визначення рівня пресепсину сироватки крові у 56 дітей, які були розподілені на групи. Основну групу склали 16 дітей (діти із генералізованою інфекцією (двох і більше ознак ССЗВ, доведене бактеріальне вогнище, дисфункція однієї або більше систем). Група порівняння – 14 дітей із локалізованим інфекційним процесом (доведене вогнище інфекції, 1-2 симптоми ССЗВ). Група контролю – 26 практично здорових дітей. У дослідження були включені діти віком від чотирьох місяців до 16 років, кі перебували на лікуванні в ХМДЛ, ХІЛ, ХОДЛ протягом 2014-2016 років.

Середній вік дітей основної групи склав 3,7 років ДІ 95 % [1,4-6,4], групи порівняння - 8,6 років ДІ 95 % [6,3-10,9], групи контролю – 11,4 ДІ 95 % [9,3-13,5]. В основній групі було приблизно однакова кількість хлопчиків та дівчаток - 56,2 % та 43,8 %, відповідно, в групі порівняння та контролю переважали діти чоловічої статі - 71,4 % та 61,5 %, відповідно.

По локалізації первинного вогнища бактеріальної інфекції діти основної та групи порівняння розподілялись наступним чином: (рис. 4.4)

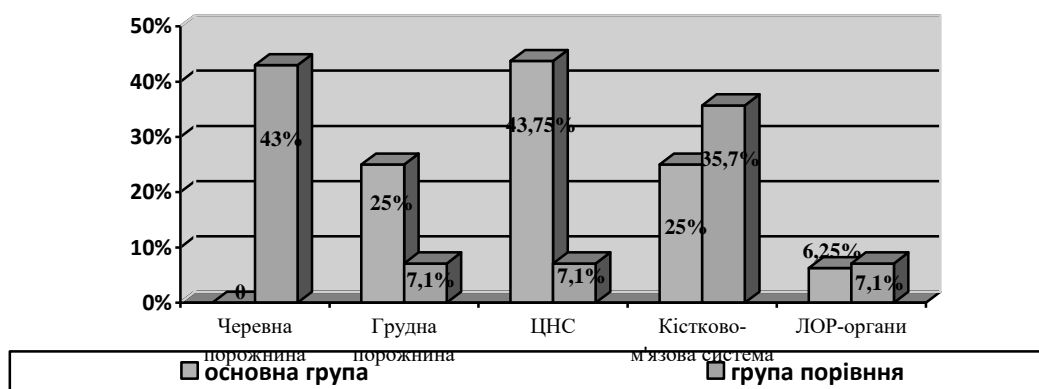


Рисунок 4.4 – Розподіл дітей обох груп у залежності від локалізації первинного вогнища інфекції.

Як видно з малюнка, в основній групі переважали діти із інфекцією локалізованою в ЦНС, а в групі порівняння – в черевній порожнині.

Оскільки групи дослідження були невеликими, а розподіл відрізнявся від нормального для описової статистики, ми використовували медіану( $m$ ) та інтерквартильний інтервал(IQR).

У результаті дослідження було отримано такі результати: в основній групі ( $n=16$ ) рівень пресепсину складав 1887,5 пг/мл (505,5-3702,5 пг/мл); в групі порівняння ( $n=14$ ) - 313,5 пг/мл (208-376 пг/мл). Різниця між групами статистично значима ( $p < 0,01$ ): U-критерій Манна-Уїтні - 6,5 при критичному значенні 50. У здорових дітей (група контролю  $n=26$ ) рівень пресепсину – 109,0 пг/мл (77,5-160,0 пг/мл), що також статистично відрізнялось від медіани групи порівняння ( $p < 0,05$ ): U-критерій Манна-Уїтні – 15 при критичному значенні 112. На рисунку 4.5 відображено рівні пресепсину у дітей досліджуваних груп.

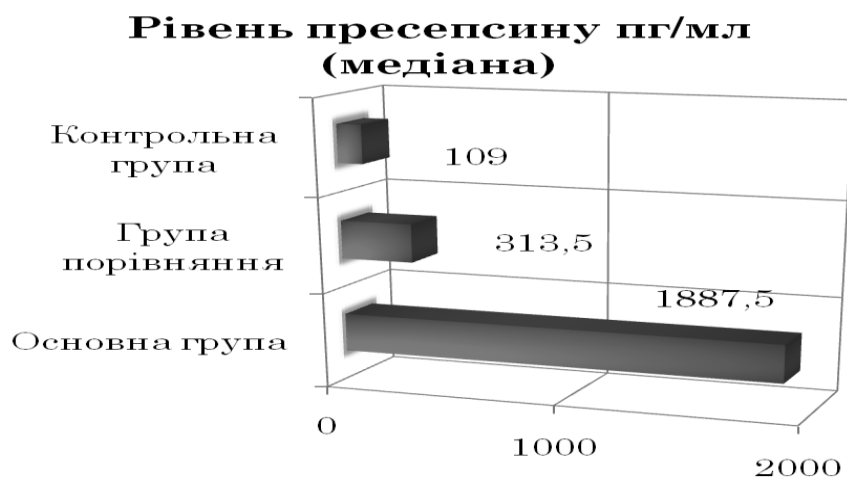


Рисунок 4.5 – Рівні пресепсину у дітей з локалізованою і генералізованою інфекцією та у здорових дітей

Дані рівня пресепсину у дітей основної групи в залежності від кількості ознак ССЗВ та наявності септичного шоку відображено в таблиці 4.9

Таблиця 4.9 – Рівень ПСП в залежності від кількості ознак ССЗВ та наявності септичного шоку у дітей основної групи

Підгрупа	Рівень ПСП пг/мл (m)	Інтерквартильний інтервал	P
2 ССЗВ (n-4)	553	380-790	
3 ССЗВ та 4 ССЗВ (n-7)	1029	507-1890	p > 0,05
Септичний шок (n-5)	18154	4622-20000	p1 < 0,01 p2 < 0,01

Примітка: p – статистична значимість різниці між підгрупою 2 ССЗВ та 3 та 4 ССЗВ  
P1 – статистична значимість різниці між підгрупою септичного шоку та 2 ССЗВ  
P2 – статистична значимість різниці між підгрупою септичного шоку та підгрупою дітей із 3 та 4 ознаками ССЗВ.

Як видно із таблиці, рівень пресепсину чітко відображає ступінь важкості перебігу сепсису у дітей, тому саме цей маркер можна використовувати не лише для диференційної діагностики локалізованої бактеріальної інфекції та сепсису, а й для оцінки важкості перебігу сепсису.

При розрахунку відносного ризику та відношення шансів розвитку сепсису у дітей при рівні пресепсину сироватки крові були отримані такі результати: ВР – 4,95 (ДИ 95 % [1,78-13,46], S – 0,52), ВШ – 56,3 (ДИ 95 % [20,9-151,4], S – 0,51), тобто при рівні ПСП вище 500 пг/мл ризик розвитку сепсису є значно вищим (в 56,3 рази) в порівнянні із дітьми рівень ПСП сироватки крові яких є меншим за 500 пг/мл.

Чутливість та специфічність визначення рівня пресепсину при сепсисі у дітей складає, відповідно, 92 % та 93 %, ПЦПР – 87 %. Для діагностики наявності бактеріальної інфекції у дітей чутливість складає 97 %, а специфічність – 96 %, ПЦПР – 91 %.

Таким чином, пресепсин є найчутливішим та специфічним маркером бактеріального запалення, що дозволяє використовувати його для ранньої та точної діагностики сепсису.



#### 4.6 Кореляційні зв'язки між лабораторними біомаркерами, які досліджувалися для діагностики сепсису

Вивчаючи діагностичну цінність лабораторних маркерів для діагностики сепсису у дітей, нами було проведено визначення кореляційного зв'язку між рівнями СРБ, TNF- $\alpha$ , ПКТ, ПСП та кількістю виявлених ознак ССЗВ і наявності септичного шоку. Кореляційний аналіз проводився шляхом визначення рангової кореляції Спірмена. Отримані дані представлені на рис. 4.6.

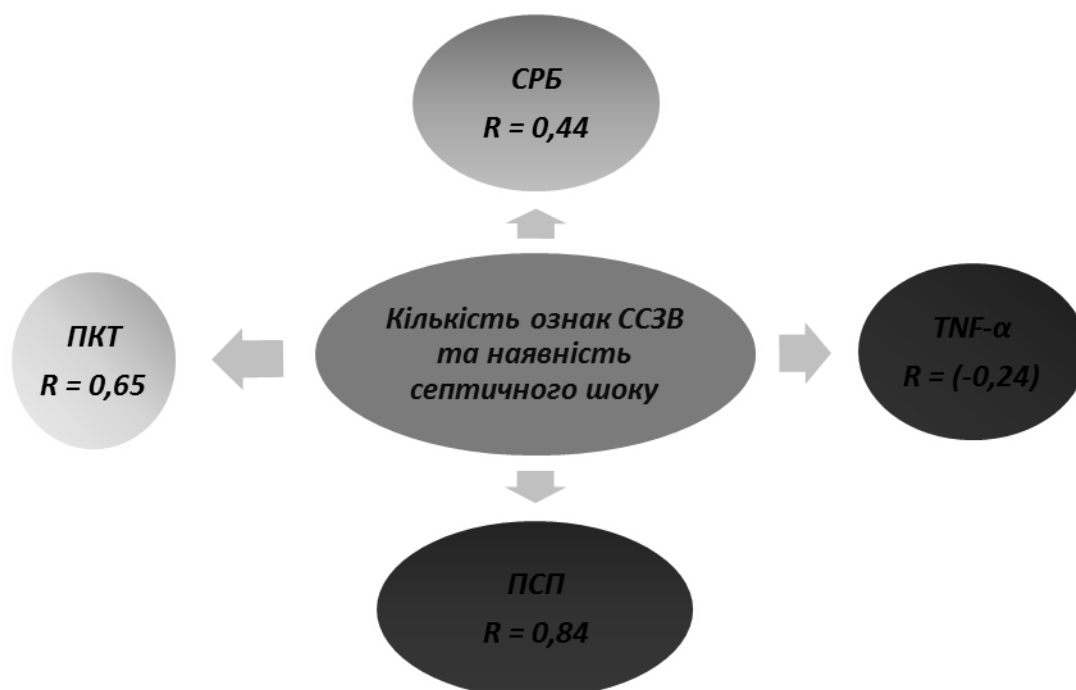


Рисунок 4.6 – Кореляційний зв'язок між кількістю ознак ССЗВ та рівнем біомаркерів

Як видно із рис. 4.6, найтісніший прямий кореляційний зв'язок між кількістю ознак ССЗВ та наявністю септичного шоку спостерігався при визначенні рівня пресепсину ( $R = 0,84$ ,  $p < 0,01$ ), прямий кореляційний зв'язок середньої сили ми визначали для рівня прокальцитоніну та СРБ - 0,65 та 0,44 ( $p < 0,01$ ) відповідно. Слід зазначити, для рівня TNF- $\alpha$  статистично значимого рівня кореляції не відмічалось, але тенденція була до зворотнього кореляційного зв'язку слабкого ступеню ( $R = -0,24$   $p > 0,05$ ) що і підтверджувалось показниками середніх величин в підгрупах

основної групи, тобто зі зростанням кількості ознак ССЗВ та наявності септичного шоку рівень TNF- $\alpha$  знижувався.

Також нами було проведено вивчення залежності рівнів біомаркерів між собою. У проведених розрахунках виявилось, що прямий зв'язок середнього ступеню ( $r = 0,53$ ) спостерігається між рівнем пресепсину та прокальцитоніну, у дітей зі септичним шоком та чотирма ознаками ССЗВ ( $n=7$ ), та менш виражений ( $r=0,37$ ) у всіх дітей основної групи, яким проводилось визначення пресепсину ( $n=16$ ), однак високої статистичної значимості цих даних не виявлено ( $p > 0,05$ ).

Аналізуючи кореляційні зв'язки між рівнями біомаркерів у групі порівняння статистично значимих показників ми не спостерігали, тому можна зробити висновок, що для вибору діагностичного маркера для діагностики наявності бактеріальної інфекції слід орієнтуватися на специфічність та чутливість кожного із методів лабораторної діагностики, які були розраховані вище.

Беручи до уваги отримані дані стосовно чіткої кореляції між важкістю стану дітей основної групи та рівнем біомаркерів, ми поставили за мету розрахувати відносний ризик (ВР) та відношення шансів (ВШ) для розвитку септичного шоку у дітей із різним рівнем біомаркерів, оскільки саме розвиток септичного шоку і зумовлює найвищу летальність від сепсису.

Точкою відсічення для визначення ризику та відношення шансів розвитку септичного шоку було прийнято для СРБ – 40 мг/л, для прокальцитоніну – 4 нг/мл, для пресепсину 4500 пг/мл. Оскільки рівень TNF- $\alpha$  при розвитку септичного шоку може знижуватися, при цих розрахунках ми його не розглядали. Отримані результати представлені в таблиці 4.10.

Таблиця 4.10 – Відносний ризик (ВР) та відношення шансів (ВШ) для розвитку септичного шоку у дітей основної групи

Біомаркер	Показник	Значення показника	Середня похибка, s	ДІ 95%
СРБ	ВР	0,88	0,44	0,37-2,08
	ВШ	0,83	0,48	0,32-2,08
ПКТ	ВР	2,50	0,36	1,23-5,00
	ВШ	5,25	0,43	2,27-12,18
ПСП	ВР	8,88	0,98	1,30-60,30
	ВШ	40,00	0,94	15,60-99,50

Як видно із даних таблиці, показники ВР та ВШ СРБ невисокі, ДІ містить одиницю, що свідчить про відсутність статистично значимого даного рівня СРБ для діагностики та прогнозування септичного шоку.

У дітей при виявленні рівня ПКТ вище 4 нг/мл вірогідність розвитку септичного шоку в 5,25 рази більша, в порівнянні із дітьми, у яких рівень ПКТ є нижчим цього показника. При рівні ПСП в сироватці крові вище 4500 пг/мл в 40,00 разів частіше діагностується септичний шок у порівнянні із дітьми, в яких рівень ПСП є нижчим.

Отже, рівень ПСП є маркером, що найшвидше реагує на важкість перебігу сепсису і може надійно слугувати для діагностики септичного шоку, з меншою надійністю з цією метою можна використовувати рівень ПКТ, але варто пам'ятати, що останній повільніше реагує на зміну важкості стану та генералізацію бактеріальної інфекції, тому може виникнути потреба у повторних визначеннях його рівня в динаміці.

Підсумовуючи отримані дані референтних значень та даних чутливості, нами розроблено алгоритм диференційної діагностики сепсису та локалізованої бактеріальної інфекції із використанням рівнів прокальцитоніну та пресепсину в сироватці крові, рис. 4.7.

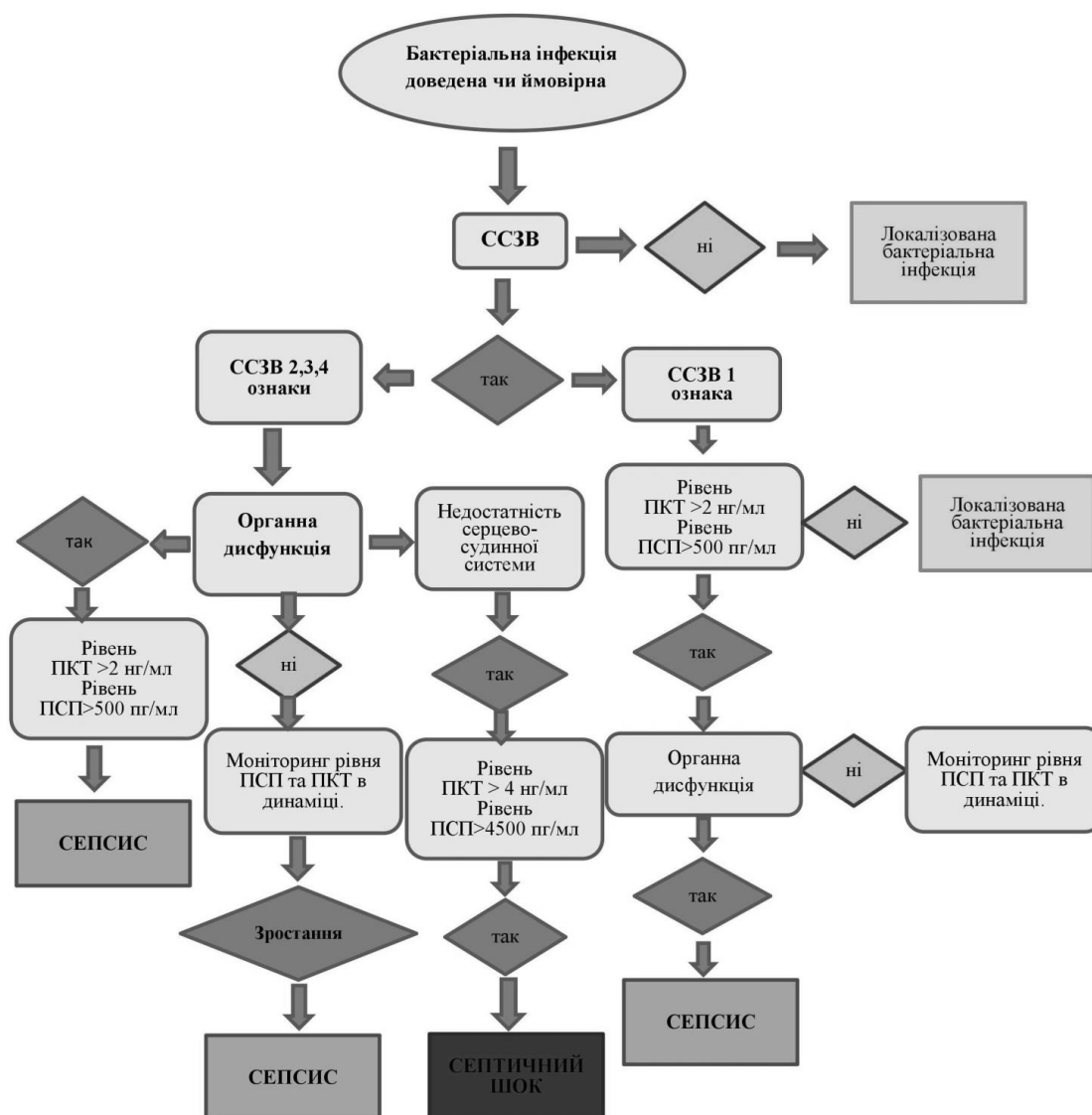


Рисунок 4.7 – Алгоритм диференційної діагностики сепсису та локалізованої бактеріальної інфекції у дітей

Лабораторні зміни рівнів біомаркерів при локалізованих бактеріальних інфекціях та сепсисі, їх аналіз викладено у таких роботах:

1. Пипа Л.В. Мургіна М.М. Порівняльний аналіз інформативності сучасних біомаркерів сепсису у дітей. Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології. 2017. Т.11. № 1. С. 14-22.
2. Пипа Л.В. Мургіна М.М. Сучасні уявлення про патогенез і діагностику гнійно-септичних станів у дітей. Інфекційні хвороби. 2017. № 2 (88). С.32-40.

3. Pyra L.V., Murhina M.M. Laboratory changes and levels of biomarkers in localized bacterial infections and sepsis in children. *Jornal of Education, health and sport*. 2017. Vol. 7. № 8. P. 701-711.
4. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Пат. № 114595 Україна МПК (2006.01) G01N 21/76, (2006.01) G01N 21/77, (2006.01) G01N 33/48 . Спосіб диференційної діагностики генералізованого та локалізованого гнійно-септичного тану у дітей. № u 2016 10031; заявл. 03.10.2016; опубліковано 10.03.2017, Бюл. № 5.
5. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Інформаційний лист про нововведення у сфері охорони здоров'я № 306-2012 «Диференційна діагностика локалізованих та генералізованих форм бактеріальних інфекцій у дітей».
6. Мургіна М.М. Роль рівня прокальцитоніну в сироватці крові в диференційній діагностиці локалізованих та генералізованих бактеріальних інфекцій у дітей. *Український науково-практичний молодіжний журнал*. 2012. №3 (спец. випуск). С. 286.
7. Пипа Л.В., Мургіна М.М., Гейващук Я.М. Рання діагностика генералізованої бактеріальної інфекції у дітей. *Мат. всеукр. наук.-практ. конф.: тези доп.* Суми. 2013. С. 83-84.
8. Мургіна М.М., Лисиця Ю.М. Сучасні імунологічні маркери діагностики септичних станів у дітей. *Мат. всеукр. наук.-практ. конф.: тези доп.* Суми. 2015. С. 72-73.
9. Пресепсин – новий біомаркер для ранньої діагностики сепсису у дітей./ Пипа Л.В., Мургіна М.М., Гейващук Я.М. та ін.// *Мат. ІХ з'їзду інфекціоністів України: тези доп.* Тернопіль. 2015. С.267-268.
10. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Порівняльний аналіз інформативності сучасних біомаркерів сепсису у дітей. *Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології*. 2017. Т.11. № 1. С. 14-22.
11. Мургіна М.Н., Борисенко Т.Д. Пресепсин - біомаркер ранней диагностики сепсиса у детей. *Мат. VIII Съезда врачей клиничко-лабораторной службы*

Министерства здравоохранения Республики Беларусь: Тез. доп. Минск. 2016. С.128-129.

12. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Інформативність визначення рівня пресепсину для диференційної діагностики локалізованих та генералізованих форм інфекційного процесу у дітей. Мат. всеукр. наук.-практ. конф.: тези доп. Суми. 2017. С. 215-217.

## РОЗДІЛ 5

### ГЕНЕТИЧНІ ПРЕДИКТОРИ ГЕНЕРАЛІЗАЦІЇ ІНФЕКЦІЙНОГО ПРОЦЕСУ ТА СТУПІНЬ ЕКСПРЕСІЇ СИНТЕЗУ TNF- $\alpha$ У ДІТЕЙ ІЗ СЕПСИСОМ.

Генетичний поліморфізм відіграє важливу роль в розвитку сепсису і його реакції на лікування. Детальний опис людського геному відкрив можливості ідентифікації між однонуклеотидним поліморфізмом (SNP – single nucleotide polymorphism) і хворобою. Гени, що кодують білки імунної системи, впливають на різний ступінь синтезу про- і протизапальних цитокінів, що обумовлює наслідки хвороби та розвиток ускладнень в окремих хворих. Незважаючи на наукові дослідження, які виявили вплив генетичних факторів на перебіг певних хвороб, частина спадкової мінливості не була повністю ідентифікована [67, 68, 81, 100].

Враховуючи вплив TNF- $\alpha$  на розвиток сепсису і його ускладнень, висунуто гіпотезу, що на результат бактеріальних інфекцій можуть впливати генетичні зміни, які відповідають за підвищену продукцію TNF- $\alpha$ .

Від варіанту поліморфізму гену залежить рівень синтезу запального цитокіну, що у свою чергу, обумовлює силу та швидкість розвитку запальної реакції в організмі та може слугувати тригером у генералізації інфекційного процесу. У літературі є роботи, які вивчали залежність одноалельного поліморфізму гену TNF- $\alpha$  та розвитком сепсису у хворих із важкою травмою та великим оперативним втручанням в черевній порожнині [2]. У дітей такі дослідження не проводились, тому визначення залежності генотипу промоторної ділянки гену TNF- $\alpha$  в точці (-308) може бути використано, як предиктор генералізації інфекційного процесу.

#### 5.1 Алельний поліморфізм гену, що кодує синтез TNF- $\alpha$ , у дітей із сепсисом

Метою даного дослідження було встановити зв'язок однонуклеотидної заміни G $\rightarrow$ A в точці (-308) промоторної ділянки гену, що кодує синтез TNF- $\alpha$ , і ступенем розповсюдженості інфекційного процесу, оцінити прогностичну цінність

визначення варіанту заміни, як предиктора генералізації інфекційного процесу. Отримані результати дозволять виявляти групи осіб зі схильністю до розвитку сепсису, проводити превентивні заходи та призначати таким дітям своєчасне і в повному об'ємі лікування.

Нами проведено дослідження поліморфізму гену, що кодує синтез TNF-  $\alpha$  у точці (-308), у 55 дітей з генералізованою та локалізованою бактеріальною інфекцією.

Визначали мутований та дикий варіант даного алелю. При наявності дикого варіанту в точці (-308) гомозиготно знаходиться гуанін, при мутованому гетерозиготному варіанті одна із молекул гуаніну замінена на аденін, при гомозиготному варіанті мутації обидві молекули гуаніну заміщуються на аденін.

Основну групу склали 28 дітей із генералізованим інфекційним процесом, група порівняння складалась із 27 дітей, у яких було діагностовано локалізовану форму бактеріальної інфекції. Вік дітей від 3 міс до 17 років. У таблиці 5.1. показано характеристику обстежених дітей в залежності від статі та місця проживання.

Таблиця 5.1 – Характеристика дітей з основної та групи порівняння в залежності від статі та місця проживання

Групи	Стать				Проживання			
	Хлопці		Дівчата		Місто		Село	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Основна група (n - 28)	15	55,6	13	46,4	13	46,5	15	53,5
Група порівняння (n - 27)	20	74,1	7	25,9	15	55,6	12	44,4

В обох групах незначно переважали діти чоловічої статі, за місцем проживання практично порівну були жителі міста та села, тобто, за даними показниками групи репрезентативні.

Середній вік обстежених становив 7,3 роки ДІ 95 % [5,8-8,8]. Діти основної групи були дещо молодшими, оскільки середній вік дітей складав 5,1 року ДІ 95 % [2,9-7,1], а дітей групи порівняння – 9,7 років [7,8-11,6]. У таблиці 5.2 відображено статево-віковий склад дітей обох груп.



Таблиця 5.2 – Статеві-віковий склад дітей основної та групи порівняння

Групи	Основна група, n=28				Група порівняння, n=27				Всього n=55			
	Хлопці n-15		Дівчата n-13		Хлопці n-20		Дівчата n-7		Хлопці n-35		Дівчата n-20	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
3 – 12 міс.	6	40,0	4	30,7	0		0		6	17,1	4	20,0
2-5 роки	4	26,7	5	38,5	5	25,0	0		9	25,7	5	25,0
6-12 років	2	13,3	1	7,7	8	40,0	5	71,4	10	28,6	6	30,0
13-18 років	3	20,0	3	23,1	7	35,0	2	28,6	10	28,6	5	25,0

Дані таблиці свідчать, що серед дітей з генералізованою і локалізованою інфекцією діти всіх вікових груп були представлені рівномірно, тільки дещо менше було дітей віком до одного року (10 дітей). В основній групі переважали діти до 5 років, у той час як в групі порівняння дітей цієї вікової групи взагалі не було. Різниця у віці обумовлена важчим перебігом бактеріальної інфекції у дітей молодшого віку.

В таблиці 5.3. представлено дітей обох досліджуваних груп в залежності від локалізації вогнища інфекції.

Таблиця 5.3 – Характеристика дітей з досліджуваних груп в залежності від вогнища інфекції

Локалізація вогнища	Основна група, n=28		Група порівняння, n=27	
	абс.	%	абс.	%
Черевна порожнина	1	3,6	13	48,1
Грудна порожнина	5	17,9	2	7,4
Кістково-м'язева система	6	21,4	9	33,4
Лор органи	4	14,3	2	7,4
ЦНС	12	42,8	1	3,7

Як видно з таблиці, у дітей основної групи переважала локалізація вогнища інфекції в ЦНС (42,8 %), а у дітей групи порівняння - в черевній порожнині (48,1 %).

При генетичному обстеженні дітей обох груп в основній групі у 13 дітей (46,4 %) було виявлено мутований варіант алелю та в 15 дітей (53,6 %) - дикий. У групі порівняння мутований варіант було виявлено лише у чотирьох дітей, що складало 14,8 %, всі інші діти мали дикий варіант алелю (85,2 %). Потрібно відзначити, що в групі порівняння не було дітей із гомозиготним варіантом мутованого алелю. На рисунку 5.1 відображено процентне співвідношення дітей із різними варіантами алелю.

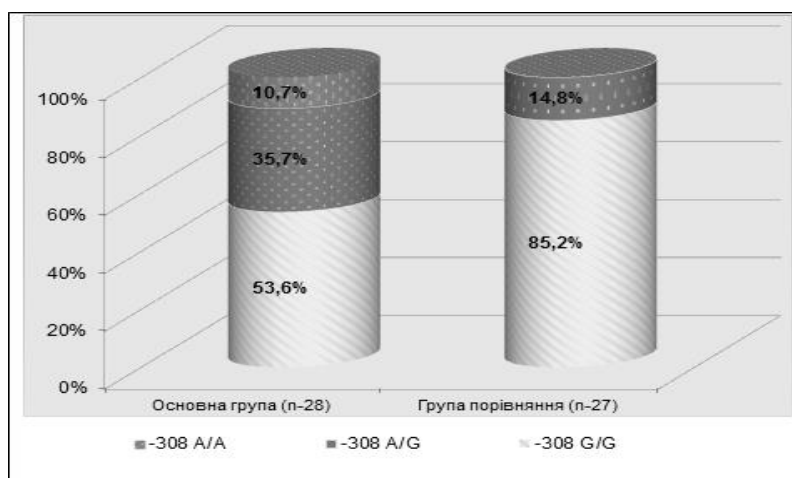


Рисунок 5.1 – Поліморфізм TNF- $\alpha$  у дітей з генералізованою та локалізованою бактеріальною інфекцією

Як видно із вищенаведеного, у дітей основної групи мутований варіант точки (-308) в гені, що кодує синтез TNF- $\alpha$ , зустрічається у 3,1 разу частіше, тому розрахувавши точний критерій Фішера для даних виборок, можна зробити висновок, що наявність мутованої алелі є предиктором розвитку генералізованого інфекційного процесу ( $p = 0.006$ ). Розрахувавши співвідношення шансів (СШ), було виявлено, що у дітей із наявністю аденіну в точці (-308) в 5 разів (ДІ 1,54-16,14) частіше реєструється генералізований інфекційний процес.

При мутованому варіанті досліджуваної точки гену, що кодує синтез TNF- $\alpha$ , гомозиготний стан спостерігався в трьох випадках (11,0 %), інфекційне вогнище у цих дітей локалізувалось по одному випадку: в ЦНС, опорно-руховому апараті та грудній порожнині.

У групі порівняння мутований варіант алелю (-308) гену TNF-а визначений у чотирьох дітей (14,8 %), у трьох з яких вогнище інфекції локалізувалось в черевній порожнині і у однієї дитини в ЛОР органах.

Наявність мутованої алелі у дитини з гнійносептичним захворюванням є предиктором розвитку генералізованого інфекційного процесу ( $p = 0.006$ ). Розрахувавши співвідношення шансів (СШ), було виявлено, що у дітей із наявністю аденіну в точці (-308) в 5 разів (ДІ 95 % 1,54-16,14) частіше реєструється генералізований інфекційний процес. Тобто, генотип (-308 A/A) та (A/G) є маркером схильності, а генотип (-308 G/G) - маркером резистентності що до розвитку генералізованої бактеріальної інфекції у дітей.

## 5.2 Кореляція між варіантами алельного поліморфізму та рівня синтезу TNF- $\alpha$

Метою дослідження було покладено виявити залежність варіанту алельного поліморфізму та рівня синтезу TNF- $\alpha$  при потраплянні в організм інфекційного агенту. Для досягнення цієї мети 27 дітям з сепсисом паралельно із визначенням варіанту алельного поліморфізму було проведено визначення рівня TNF- $\alpha$  сироватки крові. Серед обстежених було 10 (37 %) осіб жіночої статі та 17 (63 %) - чоловічої. Середній вік склав 8,4 років ДІ 95 % [6,1-10,6]. Вогнище інфекції локалізувалось у 10 дітей (37,0 %) у черевній порожнині, у семи дітей (26,0 %) - в ЦНС, в п'яти дітей (18,5 %) – в кістково-м'язовій системі, у трьох дітей (11,1 %) – в ЛОР-органах та у двох дітей (7,4 %) в грудній порожнині. Генералізована інфекція була задокументована у 14 дітей, у 13 дітей було діагностовано локалізований інфекційний процес. Серед обстежених у п'яти (18,5 %) дітей було виявлено мутований гетерозиготний варіант точки (-308) в гені, що кодує синтез TNF- $\alpha$ .

В усіх дітей було виявлено підвищення рівня TNF- $\alpha$  сироватки крові у порівнянні із нормою. Середній рівень TNF- $\alpha$  у обстежених дітей складав 249,8 пг/мл ДІ 95 % [200,2-299,4]. У дітей із генералізованою інфекцією рівень TNF- $\alpha$  сягав 318,2 пг/мл ДІ 95 % [244,5-391,9], у дітей із локалізованою інфекцією – 176,1 пг/мл ДІ 95 % [133,3-218,9].

Як зазначалось вище, мутований гетерозиготний варіант алелю зустрічався у п'яти дітей (18,5 %), серед яких одна дитина із групи порівняння а чотири дитини із основної групи.

У таблиці 5.4 відображені данні рівня TNF- $\alpha$  в залежності від варіанту одноалельного поліморфізму промоторної ділянки гену що кодує синтез TNF- $\alpha$  в точці (-308).

Таблиця 5.4 –Рівень TNF- $\alpha$  в залежності від варіанту одноалельного поліморфізму промоторної ділянки гену, що кодує синтез TNF- $\alpha$  в точці (-308)

Варіант алелю в точці (-308)	Рівень TNF- $\alpha$ , пг/мл	ДІ 95 % пг/мл	P	r Спірмана
G/G	201,9	168,6-235,2	<0,001	0,66
G/A	460,6	379,2-541,9	<0,001	

Як видно із таблиці, різниця між рівнем синтезу TNF- $\alpha$  в сироватці крові та видом одноалельного поліморфізму в гені, що кодує його синтез в точці (-308), є статистично значимим та між цими показниками існує середньої сили прямий кореляційний зв'язок ( $r = 0,66$ ,  $p = 0,0002$ ).

Отже, наявність мутованого варіанту гену, що кодує синтез TNF- $\alpha$ , є фактором інтенсивнішого синтезу пускового запального цитокіну, що пояснює вищу схильність дітей із мутованим варіантом гену до розвитку генералізованого бактеріального процесу.

Приводимо власне клінічне спостереження.

**Хворий О.**, 14 років, історія хвороби № 4361, доставлений виїзною бригадою невідкладної та інтенсивної терапії в Хмельницьку міську дитячу лікарню 15.05.2016 року із Деражнянської ЦРЛ у важкому стані зі скаргами на біль в лівому коліному суглобі, підвищення температури тіла до 40°C, утруднене дихання, серцебиття та перебої в роботі серця, загальну слабкість, в'ялість зниження апетиту.

З анамнезу хвороби відомо, що дитина захворіла 12.05.2016 року, коли було відмічено укусу невідомої комахи у праву руку, який було екскоріовано та на його місці утворився фурункул, після чого з'явився набряк лівого коліного суглобу та

температура тіла підвищилась до субфебрильних показників. Стан дитини погіршувався наростав набряк м'яких тканин лівої кінцівки, температура тіла сягала піретичних показників ( $39^{\circ}\text{C}$ - $40^{\circ}\text{C}$ ) з'явилась задишка та пришвидшене серцебиття, після чого 15.05.2016 р. батьки з дитиною звернулися в Деражнянську ЦРЛ. Проведено ЗАК – зсув лейкоцитарної формули вліво. ЗАС – білок 1 г/л, рентгенографія ОГК – ознаки РДС, УЗД ОЧП – ознаки нефриту. Лікування - інфузійна терапія з метою дезінтоксикації (глюкозо-сольові розчини), антибактеріальна терапія - цефтріаксон у віковому дозуванні, антипіретична терапія (парацетамол в/в), кардіометаболічна терапія, оксигенотерапія – вільний потік кисню через маску. Покращення стану дитини не спостерігалось, тому дитина була транспортована до Хмельницької міської дитячої лікарні виїзною педіатричною бригадою невідкладної допомоги та інтенсивної терапії.

Анамнез життя: дитина від другої фізіологічної вагітності, других термінових пологів. вага при народженні 3800, закричав відразу, в пологовому залі прикладений до грудей. Грудне вигодовування до трьох місяців. Перенесені захворювання нечасті ГРВІ, дитячими інфекційними хворобами не хворів. Щеплення згідно календаря. Алергологічний анамнез не обтяжений. Контакт по туберкульозу заперечують батьки. Садковість не обтяжена.

При поступленні об'єктивний статус: загальний стан дитини дуже важкий, шкірні покриви блідо-сірого кольору, одиничні геморагіні висипи на бокових поверхнях тулуба, пустульозний висип на передній черевній стінці. Кінцівки холодні на дотик, помірно виражений акроціаноз, симптом білої плями 5 секунд. Тургор тканин та еластичність шкіри знижена.

Слизові чисті бліді, сухі. Язик обкладений білим нальотом. Зів рожевий. Загальних набряків немає.

Тони серця приглушені ритмічні, ЧСС – 138 уд./хв., короткий систолічний шум на верхівці.

Дихання самостійне, в акті дихання бере участь допоміжна мускулатура, кисневозалежний, проводиться оксигенотерапія вільним потоком через маску, оскільки без кисневої терапії сатурація – 82-85%. ЧД – 40 дих./хв. Перкуторно над

легенями притуплення легеневого звуку в нижніх відділах з обох сторін. Аускультативно - дихання різко ослаблене, крипітуючі хрипи по всій поверхні, більше в нижніх відділах.

Живіт вздутий, перистальтика практично не вислуховується. Печінка +1 см з під краю реберної дуги, селезінка не пальпується. Нирки не пальпуються, симптом Пастернацького негативний з обох сторін. Діурез стимульований, самостійного стільця не було.

Status localis – ліве коліно збільшене у розмірах болюче, шкіра гіперемійована, на латеральній поверхні коліна геморагійний висип (гематома). Рухи в колінному суглобі обмежені через сильну болючість та набряк.

Обстеження:

Загальний аналіз крові - еритроцити –  $5,6 \times 10^{12}/\text{л}$ , гемоглобін – 153 г/л, MCV – 68,5 фл, MCH – 27,3 пг, лейкоцити –  $3,4 \times 10^9/\text{л}$ , тромбоцити -  $138 \times 10^9/\text{л}$ , ШОЕ – 25 мм/год, гематокрит - 0,38, лейкоцитарна формула – еозинофіли – 1%, мієлоцити – 3%, юні – 2%, паличкоядерні – 6%, сегментоядерні – 58%, лімфоцити – 19%, моноцити – 11%.

Біохімічний аналіз крові – загальний білок – 55 г/л, глюкоза крові 11,4 ммоль/л, АЛТ – 29 ОД/л, АСТ – 46,1 ОД/л, загальний білірубін – 23,3 мкмоль/л, сечовина – 13,7 ммоль/л, креатинін – 103,9 мкмоль/л

СРБ – 12 мг/л, АСЛО – негат.

Коагулограма – АЧТЧ – 23,3 сек, , фібриноген – 4,6 г/л, МНВ – 1,38, РФМК –  $21,0 \times 10^{-2}$  г/л, Бетанафталовий тест – позитивний (2+).

Загальний аналіз сечі – колір – с/ж, прозорість – неповна, питома вага – 1022, білок – 0,15 г/л, глюкоза – негат., кетонові тіла – негат., мікроскопія осаду – епітелій перехідний – 10-12 в п/з, лейкоцити – 1-2 в п/з, еритроцити – 0-1-002 в п/з.

Бак. посів гнійного вмісту – St.aureus.

У перший день після поступлення, до проведення оперативного втручання дитині було проведено визначення рівня прокальцитоніну, пресепсину та визначено поліморфізм гену TNF- $\alpha$  в точці 308, були отримані наступні результати -

ПКТ – 5,18 нг/мл, ПСП – 18154 пг/мл в точці 308 гену TNF- $\alpha$  виявлено гетерозиготний мутований варіант– G/A.

Ренгенографія ОГК – двохстороння пневмонія. Не виключено РДС, кардіомегалія.

УЗД ОЧП – незначно виражена гепатомегалія, виражений холестааз, спленомегалія, ознаки токсичної нефропатії.

ЕхоКГ – фракція викиду – 57%, знижена скоротливість лівого шлуночка. Тахікардія. ПМК I ст. без ознак гемодинамічних порушень.

**Клінічний діагноз:** Сепсис. Гострий гематогенний остеомієліт, дистального метафазу лівої стегнової кістки, септична форма, гнійний артрит лівого колінного суглобу. Двобічна пневмонія, ДН II, СПОН: ССН, НК IIб, ДВЗ синдром, парез кишечника, токсичний нефрит.

Дитині проведено два оперативних втручання (15.05 та 17.05.2016 р.) для санації та дренивання гнійного вогнища в стегновій кістці (остеоперфорація та дренивання стегнової кістки).

Призначено лікування антибіотикотерапія (меропенем, амікацин, лінкоміцин) у вікових дозах, інфузійну терапію – глюкозо-сольові розчини (50-80 мл/кг), іонотропна підтримка – дофамін (20-30 мкг/кг/год), гемо статична терапія (каріоплазма, тромбоконтрат), імунотропна терапія – внутрішньовенний імуноглобулін в дозі 400 мг/кг/добу, антипіретична терапія (інфузія парацетамолу), оксигенотерапія через маску вільним потоком.

Стан дитини погіршувався наростаючою дихальною недостатністю, що зумовило переведення на 4 день госпіталізації на ШВЛ підтримку яка тривала 35 діб, без іонотропної підтримки відмічалась виражена гіпотонія, як ознака септичного шоку, іонотропна підтримка тривала 5 діб, олігурія утримувалась 26 діб, весь час діурез стимульований діуретичними засобами, перистальтика відсутня протягом 10 діб та різко ослаблена 16 діб, дитина перебувала у відділенні реанімації та інтенсивної терапії 45 діб. Гіпертермія в фебрильних та вище показниках тривала 23 доби, розлади мікроциркуляції (мармуровість, акроціаноз, подовження симптому «білої плями») тривали 6 діб.

**Заключний діагноз:**

**Основний** - Сепсис, гострий гематогенний остеомієліт дистального метафазу лівої стегнової кістки, септико-піємічна форма. Гнійний артрит лівого колінного суглоба.

**Ускладнення** – синдром поліорганної недостатності ( НК II б, ДН 3, ДВЗ – синдром, парез кишківника). Двобічна пневмонія. Токсичний нефрит.

Таким чином, як видно із прикладу, у дитини виявлено гетерозиготний варіант промоторної ділянки гену TNF- $\alpha$ , при якому одна молекула гуаніну замінена на аденін, що є предиктором для розвитку сепсису. Рівень пресепсину вище 4500 пг/мл в перший день при поступленні свідчив про високий ризик розвитку септичного шоку, що і реалізувалось у даної дитини. Рівень прокальцитоніну також зафіксовано високий (вище 4 нг/мл), що пов'язане з високим ризиком розвитку септичного шоку, в той час як рівень СРБ був низьким (12 мг/л). Таким чином рівень пресепсину та прокальцитоніну сироватки крові є чутливими ранніми маркерами розвитку, як сепсису так і його важкого перебігу (септичного шоку).

Література, в якій відображено положення даного розділу:

1. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Поліморфізм гену TNF- $\alpha$  при локалізованих і генералізованих гнійно-септичних захворюваннях у дітей. Современная педиатрия. 2013. №3 (51). С.39-41.
2. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Сучасні уявлення про патогенез і діагностику гнійно-септичних станів у дітей. Інфекційні хвороби. 2017. № 2 (88). С.32-40.
3. Пипа Л.В., Мурігна М.М. Поліморфізм гену TNF- $\alpha$  при локалізованих і генералізованих гнійно-септичних захворюваннях у дітей. Biomedical and biosocial antropology. 2013. № 20. С. 48-51.
4. Пипа Л.В., Мургіна М.М., Гейвашук Я.М. Пат. № 77626 Україна МПК (2006.01) G01N 33/50. Спосіб прогнозування генералізації інфекційного процесу у дітей № u 2012 08373; заявл. 07.07.2012; опубліковано 25.02.2013, Бюл. № 68.



## АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Протягом багатьох століть розвитку медицини проблема сепсису залишалась актуальною і маловивченою. Кожен рік у світі реєструється біля 18 млн. випадків сепсису, 10-30% з них закінчується смертельно, в тому числі у новонароджених та дітей інших вікових груп. Наявність рефрактерного шоку при поступленні в ВАІТ збільшує ризик смерті в 3,8 рази [175]. Статистика сепсису є недосконалою, що в певною мірою обумовлено недосконалою термінологією та критеріями діагностики останнього.

На жаль МКХ-10 не містила термін сепсис, а його замінив термін септицемія, яку поділяли за видом збудника. Сам сепсис тривало вважався ускладненням інфекційного захворювання. Накопичені знання дозволяють виділяти сепсис як один з клінічних варіантів перебігу інфекції.

Міжнародна термінологія, прийнята на засіданні Американської колегії торакальних хірургів і товариства спеціалістів інтенсивної терапії (ACCP/SCCM Consensus Conference Committee, 1992), включала бактеріємію, синдром системної запальної відповіді (ССЗВ), сепсис, тяжкий сепсис, септичний шок, синдром поліорганної недостатності (СПОН) [151].

Критерії ССЗВ та сепсису у дітей були затвердженні на міжнародній консенсусній конференції з питань педіатричного сепсису (IPSSC), яка була прийнята у 2002р.. Вони ґрунтуються на дорослій класифікації із врахуванням вікових показників. Результати роботи експертної комісії були опубліковані у 2005 р. [108].

Критерії діагностики ССЗВ та сепсису, згідно IPSSC (2005) включають: **інфекція** - передбачувана чи доведена (висівання збудника, гістологічне підтвердження інфекції, або позитивні дані ПЛР), або клінічний синдром, який з високою ймовірністю асоційований з інфекцією. Виділяють дві форми інфекції: локальну форму при якій імунно-запальні реакції обмежені вогнищем бактеріальної інфекції і генералізовану форму, при якій імунно-запальна відповідь виходить за межі вогнища інфекції, набуває системного характеру, проявляючись клінікою

синдрому системної запальної відповіді, сепсису, важкого сепсису або септичного шоку:

- **ССЗВ** у дітей - це присутність щонайменше двох із наступних чотирьох ознак, одна з яких обов'язково аномальна температура або змінена кількість лейкоцитів: тахікардія (ЧСС, що перевищує два квадратичних відхилення від вікової норми, при відсутності зовнішніх стимулів, тривалого прийому лікарських засобів, больового стимулу, або будь який інший персистуючий підйом протягом 0,5-4 год), для дітей менше 1 року – брадикардія, (середня ЧСС менше 10-го вікового перцентиля при відсутності зовнішнього вагусного стимула, призначення  $\beta$ -блокаторів чи вроджених вад серця, чи інша, з невизначеною причиною депресія тривалістю більше 0,5 години); центральна температура  $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$  або  $\leq 36,0^{\circ}\text{C}$ ; середня частота дихання, перевищує два квадратичних відхилення від вікової норми або є потреба в ШВЛ при гострому процесі, який не обумовлений нейроп'язовими захворюваннями чи дією загальної анестезії; число лейкоцитів збільшено або зменшено відповідно до вікових норм (тільки не лейкопенія індукована хіміотерапією), або кількість незрілих форм нейтрофілів перевищує 10%;

- **сепсис** - ССЗВ в присутності або, як результат передбачуваної чи доведеної інфекції;

- **тяжкий сепсис** - сепсис, який поєднується з дисфункцією двох та більше органів;

- **септичний шок** - сепсис з ознаками тканинної і органної гіперперфузії і артеріальною гіпотензією, які не усуваються інфузійною терапією і потребують введення катехоламінів.

Однак, термінологія і критерії діагностики сепсису залишались недосконалыми, що могло привести як до гіпо-, так і до гіпердіагностики. На з'їзді експертів European Society of Intensive Care Medicine у 2015 році прийнято рішення переглянути класифікацію сепсису. Проведена третя міжнародна узгоджувальна конференція по сепсису ESICM/SCCM встановила нові визначення: Сепсис-3 [173, 174].

На сайті ВООЗ у 2016 році (<http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2016>) з'явилась остання редакція МКХ 10 що до діагнозу сепсис у дорослих [108, 109]. У цій версії змінені деякі дефініції сепсису.

Згідно сучасної термінології, сепсис – життєвонебезпечна органна дисфункція в результаті дисрегульованої відповіді організму на інфекцію (гостре підвищення кількості балів  $\geq 2$  по шкалі SOFA у порівнянні з вихідним станом хворого) [72, 173]. У дітей ці зміни ще не затверджені.

Визначальним у прогнозі сепсису є рання діагностика до початку розвитку ПОН та септичного шоку, летальність при якому складає 40 % [163]. У зв'язку з цим ведеться пошук біомаркерів для ранньої діагностики генералізації інфекційного процесу та розвитку сепсису.

Модель біомаркерів педіатричного сепсису допомагає ідентифікувати дітей високого ризику розвитку септичного шоку і летального кінця, вчасно діагностувати розвиток сепсису і, відповідно, швидко прийняти вірну тактику ведення хворого, а також служить критерієм якості проводимої терапії сепсису та септичного шоку [159].

Отже, необхідність пошуку ранніх біохімічних маркерів сепсису та визначення предикторів схильності до його розвитку визначило вибір теми дисертації, її мету та завдання.

За даними Saha R. [170] серед етіологічних чинників сепсису: Грам (+) флора складає 30-50 %, Грам (-) флора – 25-30 %, змішана – 11-19 %, гриби та рикетсії – 1-4 %. Найчастішими причинами сепсису є *Staphylococcus aureus* та *E. Coli*, висока летальність характерна для *Pseudomonas aeruginosa*. Однак, негативні результати посіву крові не виключають наявності сепсису, оскільки в половини хворих з картиною сепсису бактеріємія відсутня. Прогресування процесу в цих випадках обумовлене тригерною дією прозапальних цитокінів [66].

Нами проведено бактеріологічне дослідження різних біологічних рідин (кров, ліквор, сеча), ранового вмісту, мазків зі слизових (носа, зів), змивів із трахеобронхіального дерева, дренажних трубок, периферичних та центральних катетерів у дітей основної групи, в яку включили дітей з сепсисом (47 дітей), і групи

порівняння, в яку ввійшли діти, які не відповідали існуючим критеріям сепсису, тобто, з локалізованою бактеріальною інфекцією (68 дітей).

При сепсисі виявлення причинного збудника спостерігалось у 24 дітей ( 51,0 %), в групі порівняння – у 10 дітей ( 14,7 %), що співпадає з даними літератури. Невелика кількість випадків виділення збудника гнійного процесу у дітей із локалізованою гнійною інфекцією у порівняння із групою дітей із сепсисом обумовлена, з більшою вірогідністю, однократним обстеженням із одного середовища, в той час як при сепсисі бактеріологічне дослідження проводилось із декількох середовищ та по декілька разів.

Аналізуючи структуру етіологічних чинників, в 66,6 % дітей основної групи та в 50,0 % дітей групи порівняння причиною інфекції були Гр (+) мікроорганізми, на що вказують і ряд інших авторів [181]. Малий відсоток випадків, коли етіологічним чинником був стрептокок, обумовлений тим, що стрептокок є частиною біоплівки, що значно ускладнює його виділення. Високий відсоток виділення золотистого стафілококу зумовлено тим, що стафілокок є «біологічним планктоном», тому легко висівається та може в певній кількості випадків маскувати істинний збудник інфекції або міxt інфекцію. Друге рангове місце у дітей з сепсисом займав менінгокок (16,7 %), у дітей групи порівняння – E.coli (40,0 %), третє – клебсієла в групі дітей з локалізованою інфекцією та синегнійна паличка у дітей з сепсисом, яка з більшою ймовірністю була госпітальною флорою, яка нашарувалась на первинний етіологічний чинник. Міxt-інфекції зустрічались в дітей основної групи у 9,0 % випадків, в групі порівняння – у 1,5% дітей.

В структурі інфекційного вогнища, за даними літератури, перше рангове місце займають інфекційні хвороби легень та м'яких тканин [139]. Окремо слід виділити менінгококову інфекцію (МІ), яка протікає у формі: - бактеріального менінгіту - 10-15 % випадків; у генералізованій формі (менінгококовий сепсис) – 15 - 2 %; в комбінованій формі – у 40 – 60 % випадків. Загальна летальність при МІ складає 8 - 10 % (5 % при менінгітах та 15-20 % при сепсисі) [170].

Проаналізувавши структуру збудників в залежності від первинного вогнища інфекції нами були отримані наступні дані: при локалізації первинного вогнища в

ЛОР-органах та кістково-м'язовій системі переважали Гр (+) мікроорганізми, при локалізації гнійного вогнища в грудній порожнині з однаковою частотою зустрічалися Гр (+) та Гр (-) бактерії, при вогнищі, що локалізувалось в черевній порожнині та в ЦНС в більшості випадків виділялися Гр (-) збудники. Переважання Гр (-) флори при локалізації первинного вогнища в ЦНС обумовлено частотою менінгококової інфекції, яка викликається, як відомо, Гр (-) збудником.

Для виявлення дорослих пацієнтів з підозрою на сепсис поза межами відділення інтенсивної терапії рекомендована так звана приліжкова або швидка шкала - qSOFA (quick Sequential Organ Failure Assessment), яка включає 3 компоненти: порушення ментального статусу (менше 13 балів по шкалі ком Глазго); АТ сист.  $\leq 100$  мм рт ст.; ЧД  $> 22$  в хвилину. Наявна ознака визначається як один бал, відсутність ознаки, як нуль. Два та більше балів свідчать про велику вірогідність генералізації бактеріальної інфекції. [172, 173].

Для оцінки органної недостатності при сепсисі у дітей використовують такі шкали: PELOD (Pediatric Logistic Organ Dysfunction Score) та модифікована для педіатричної практики; P-MODS (Pediatric Multiple Organ Dysfunction Score). Для оцінки ризику летальності - PIM-2 (Pediatric index of mortality) та PRISM - II (pediatric risk of mortality). Кожна зі шкал містить ряд показників, величина яких оцінюється в балах і в залежності від суми балів робиться висновок про ступінь органної дисфункції та ризик летальності. Шкали можуть бути обраховані вручну, а також існують їх автоматизовані версії (<http://test-app.sfar.org/welcome-the-sfar-website/scoring-systems-for-icu-and-surgical-patients/>).

Зокрема, на кардіоваскулярну дисфункцію у дітей вказує зниження АТ (гіпотензія) менше п'ятого вікового перцентилія або систолічний тиск знижений на два квадратичних відхилень від вікової норми, про рефрактерну гіпотензію свідчать відсутність ефективності від інфузії ізотонічної рідини доведено болюсно в дозі  $\geq 40$  мл/кг або необхідність у вазопресорах для підтримання АТ в межах норми (допамін  $>5$  мкг/кг/хв або добутамін, адреналін та норадреналін в будь-якому дозуванні); або двох із п'яти нижче перерахованих симптомів: метаболічний ацидоз без встановленої причини, дефіцит основ  $>5.0$  мEq/L; збільшення вмісту лактату в

артеріальній крові більше ніж в два рази від нормального; олігурія (діурез менше 0,5 мм/кг/год); подовження симптому «білої плями» більше 5 сек.; різниця центральної та периферичної температури  $> 3^{\circ}\text{C}$  [6].

За період з 2009 по 2016 рік нами було проведено детальне вивчення клінічних особливостей перебігу локалізованого бактеріального інфекційного процесу і сепсису у 115 дітей віком від 1 місяця до 18 років, які проходили лікування в ХМДЛ, ХОДЛ та ХІЛ. Сепсис було діагностовано у 47 дітей, які склали основну групу. В групу порівняння увійшли 68 дітей з бактеріальним запаленням, які не відповідають критеріям діагностики сепсису, тобто, локалізований інфекційний процес фіксували при доведеному вогнищі інфекції і не більше однієї ознаки ССЗВ або їх відсутності.

Згідно міжнародних критеріїв сепсис діагностували при наявності двох-чотирьох ознак ССЗВ або розвитку септичного шоку. Беручи до уваги останні рекомендації Сепсис-3, всі діти групи сепсису мали одну та більше ознак органної дисфункції.

Провівши аналіз клінічних проявів сепсису та локалізованих бактеріальних хвороб, виявлено, що у дітей основної групи середні показники гіпертермії були достовірно вищими та тривала лихоманка в 2,7 рази довше ( $p < 0,05$ ), ніж у дітей групи порівняння.

У підгрупах основної групи (в залежності від кількості ознак ССЗВ) статистично значима різниця у рівні та тривалості гіпертермії була між дітьми з септичним шоком та дітьми з двома ознаками ССЗВ ( $p < 0,05$ ). Між дітьми інших підгруп різниця у показниках була статистично не значимою ( $p \geq 0,05$ ).

Підвищення ЧСС у дітей групи порівняння спостерігалась лише у 30,8 % (21 дитина) випадків, в той час, як в основній групі майже всі діти (93,6 %) мали тахікардію. Середній показник ЧСС основної групи склав 150,85 уд/хв. Ді 95 % [144,57-157,13] та тривала вона 6,60 дні Ді 95 % [4,72-8,38], в той час як в групі порівняння – 123,7 уд/хв Ді 95 % [118,3-129,1] та 2,10 дні Ді 95 % [1,26-2,92], відповідно. Отже, в основній групі підвищення ЧСС тривало довше ніж в 3 рази та було достовірно вищим ( $p < 0,01$ ).

В основній групі статистично значимою була різниця як по рівню ЧД, так і по тривалості підвищення ЧД - 38,55 дих/хв. ДІ 95 % [34,88-42,22] та 8,10 днів ДІ 95 % [5,90-10,23]) у співставленні із показниками групи порівняння - 27,90 дих/хв. ДІ 95 % [25,88-29,96] та 2,40 дні ДІ 95 % [1,70-3,10]) ( $p < 0,05$ ). У групі порівняння у 16 (23,5%) дітей не фіксувалась підвищення ЧД від вікової норми взагалі і лише одна дитина (1,5 %) потребувала оксигенотерапії, в той час як в основній групі 19 (40,4 %) дітей потребували оксигенотерапії.

Діти основної групи мали ознаки гемодинамічних та мікроциркуляторних розладів, а саме, у дітей із двома ознаками ССЗВ у 15,4 % дітей спостерігалась мармуровість, але в жодної дитини не спостерігався акроціаноз, симптом «білої плями» був подовжений у всіх дітей і в складав, в середньому, 4,07 сек ДІ 95 % [3,8-4,2]. У дітей з трьома ознаками ССЗВ мармуровість спостерігалась в 21,4 % , а акроціаноз - в 7,1 % дітей, симптом «білої плями» був подовжений і тривав 3,85 сек. ДІ 95 % [3,50-4,20]. У половини дітей із чотирма ознаками ССЗВ спостерігалась мармуровість та в 25,0 % дітей - акроціаноз, які тривали 1,8 дн. та 4 дн., відповідно. Симптом «білої плями» був подовжений у всіх дітей та тривав 4,75сек. ДІ 95 % [3,95-5,54]. У всіх дітей з септичним шоком мали місце всі симптоми гемодинамічних та мікроциркуляторних порушень, зокрема, мармуровість тривала, в середньому, 5,18 дні, акроціаноз – 4,50 дні, сиптом «білої плями» був подовжений і в середньому складав 5,06 сек. ДІ 95 % [4,90-5,20]. Статистично значима різниця в подовженні заповнення периферичних капілярів кров'ю ( $p < 0,01$ ) спостерігалась між дітьми із септичним шоком, чотирма ознаками ССЗВ у порівнянні із дітьми з двома-трьома ознаками ССЗВ.

У всіх дітей підгрупи зі септичним шоком спостерігалось зниження систолічного артеріального тиску і вони потребували призначення дофаміну в дозі 5-10 мкг/кг/хв., середня тривалість використання якого складала 4,6 дн ДІ 95 % [1,8-7,3]. Окрім того у 43,75 % дітей спостерігались периферичні набряки, в 62,50 % мала місце олігурія.

Статистично значимої різниці між рівнем ЧСС при різних вогнищах інфекції не виявлено, однак найбільш виражена тахікардія була при локалізації первинного

вогнища інфекції в грудній порожнині. Найдовше тривала тахікардія при первинному вогнищі в ЛОР-органах та грудній порожнині.

Найвищі показники ЧД спостерігалась у дітей із первинною інфекцією в грудній порожнині та ЦНС, однак найдовше вони утримувались у дітей із первинним вогнищем в грудній порожнині та ЛОР-органах. Оксигенотерапії потребували 50,0 % дітей основної групи і її середня тривалість (медіана, інтерквартильний проміжок) 3,5 дні [3-10]. Зокрема ШВЛ підтримка проводилась у 12,5 % дітей з сепсисом.

Найвищих цифр сягала гіпертермія у дітей із інфекцією в ЛОР-органах, хоча слід зазначити, що суттєвої розбіжності в показниках гіпертермічного синдрому в залежності від локалізації первинного вогнища не спостерігалось в усіх досліджуваних випадках ( $p > 0,05$ ). Найдовше гіпертермія тривала у дітей із інфекцією локалізованою в грудній порожнині та ЛОР-органах.

Узагальнюючи отримані данні можна зробити висновок, що найбільш виражені клінічні показники відмічались у дітей із локалізацією інфекції у грудній порожнині, та утримувалися вони найдовше.

Частка дітей із мармуровістю та акроціанозом практично не відрізнялась у залежності від локалізації первинного вогнища інфекції, дещо в меншій кількості дітей мікроциркуляторні порушення спостерігались при первинному вогнищі в кістково-м'язовій системі (35,7 %), хоча тривалість мармуровості була найдовша у цих дітей - 6,6 дні.

Застосування дофаміну із інотропною метою найбільше потребували діти із первинним вогнищем у ЛОР-органах – 44,4 % випадків, в 41,7 %, - при локалізації первинного вогнища в ЦНС, в 35,7 % - в кістково-м'язовій системі та 25,0 % діти при бактеріальному запаленні в грудній порожнині. Середня тривалість інотропної підтримки (медіана, інтерквартильний інтервал) складала 4,0 дні [2,0-5,0] при локалізації первинного вогнища в кістково-м'язовій системі, 2,0 дні [1,5-2,5] при патології ЛОР-органів, 3,0 дні [2,0-6,0] при бактеріальному запаленні в ЦНС і найдовше – 11,0 днів [1,0-21,0] при локалізації первинного вогнища в грудній порожнині.



Середній термін перебування у ВАІТ (відділенні анестезіології, реанімації та інтенсивної терапії) у дітей групи порівняння склав 5,14 днів ДІ 95 % [4,42-5,87], а дітей основної групи - 13,10 днів ДІ 95 % [9,16-17,00], що було в 2,5 рази довше ( $p < 0,01$ ). Перебування дітей із двома ознаками ССЗВ було в 3,8, а з трьома ознаками ССЗВ - в 2,7 рази коротше, у порівнянні із дітьми з септичним шоком – 24,4 дні ДІ 95 % [13,5-35,2 ], ( $p < 0,01$ ).

Науковцями разом із практичними лікарями ведеться пошук інтегрального біомаркера ризику генералізації інфекційного процесу. Модель біомаркерів педіатричного сепсису (PERSEVERE; PEdiatRiC Sepsis biomarker Risk modEl) може з високою долею вірогідності ідентифікувати дітей з важким перебігом сепсису та високим ризиком смертності. PERSEVERE сприятиме вчасно прийняти правильне клінічне рішення і є критерієм ефективності терапії сепсису та септичного шоку [11].

Існує більше 100 біохімічних сполук, які досліджувались при сепсисі (еластаза нейтрофілів; С-С хемокін ліганд 3; С-С хемокін ліганд 4; гранзім В; білки теплового шоку 70 кДа 1В; інтерлейкіни (1а, 4, 6, 8); ліпокалін, лактоферин; матриксна металопротеїназа, нейтрофільна колагеназа; резистин і ін.) [24,25]. Найважливіми виявились наступні: СРБ (С reactive protein); ІЛ-6 (Interleukine 6); РСТ (прокальцитонін); LBP (ліпополісахарид-зв'язуючий білок); sCD14ST – пресепсин (ПСП) [91].

Концентрація СРБ у дітей із сепсисом сягала 44,7 мг/мл. У дітей з локалізованою бактеріальною інфекцією – 28,3 мг/мл ( $p < 0,01$ ).

Із зростанням важкості стану зростає концентрація СРБ в сироватці крові дітей із сепсисом, але статистично значима різниця відмічається лише з дітьми, в яких діагностували дві ознаки ССЗВ (n-13) - 23,5 мг/л ДІ 95 % [9,5-37,5], з три ССЗВ (n-14) - 47,6 мг/л ДІ 95 % [27,8-67,3], з чотири ССЗВ (n-4) – 54,0 мг/л ДІ 95% [5,9-102,0], з септичним шоком (n-16) – 57,0 мг/л ДІ 95 % [39,1-74,8], тобто, зі зростанням важкості стану зростає концентрація СРБ в сироватці крові дітей із сепсисом, але статистично значима різниця відмічається лише з дітьми, в яких діагностували дві ознаки ССЗВ ( $p < 0,05$ ).

Нами визначена чутливість та специфічність СРБ у дітей основної групи і групи порівняння: чутливість складає 55,3 % та 46,8 %, специфічність – 63,4 % та 51,5 %, відповідно.

Отже, невисока чутливість та специфічність не дають можливості використовувати СРБ для диференційної діагностики інфекційного та неінфекційного процесу, сепсису та локалізованого бактеріального запалення.

Середній рівень TNF- $\alpha$  у дітей основної групи складав 280,3 пг/мл ДІ 95 % [243,9-316,7], що було в 1,5 рази вище ніж у дітей із локалізованим бактеріальним процесом, де середній рівень даного цитокіну був 186,5 пг/мл ДІ 95 % [163,1-209,9], та в 4,2 рази вище в порівнянні із дітьми групи контролю (65,7 пг/мл ДІ 95 % [56,7-74,8]). У свою чергу, у дітей із групи порівняння рівень TNF- $\alpha$  був в 2,8 рази вище при співставленні із дітьми без ознак запального процесу. Різниця між показниками груп була статистично значима ( $p < 0,01$ ). Значимої статистичної різниці у дітей з сепсисом в залежності від кількості ознак ССЗВ ми не виявили. У дітей з септичним шоком рівень TNF- $\alpha$  був найнижчим, що можна пояснити розвитком «паралічу імунної системи» при даній стадії.

Чутливість TNF- $\alpha$  низька в обох групах, що можна пояснити зниженням його вмісту у дітей з септичним шоком, тому це не дозволяє нам з впевненістю діагностувати сепсис чи локалізовану бактеріальну інфекцію за допомогою рівнів TNF- $\alpha$  сироватки крові, однак більш висока специфічність дає змогу при низьких рівнях TNF- $\alpha$  говорити про відсутність сепсису чи бактеріальної інфекції при відсутності ознак шоку.

ПКТ підвищується в крові при інфекційному процесі вже через 3-4 години, що значно швидше ніж СРБ. Він добре зарекомендував себе як маркер неонатального сепсису і є чутливішим, ніж СРБ та IL-6 [103, 169].

ПКТ – хороший індикатор важкості інфекції та ефективності лікування. [142]. Однак останнім часом з'явилися дані про хибну позитивність і хибну негативність ПКТ. Так, неспецифічне по відношенню до інфекції підвищення ПКТ спостерігається при масивній загибелі клітин: при важких травмах або хірургічних втручаннях, однак при відсутності інфікування знижується через 3-5 днів; хибно

негативний ПКТ може спостерігатись при локальній інфекції та на ранніх стадіях системної інфекції (рівні ПКТ низькі - в сірій зоні). При розвитку сепсису підвищення ПКТ може відбуватись із затримкою [117].

В основній групі середній рівень ПКТ був 4,060 нг/мл ДІ 95 % [2,340-5,690], а в групі порівняння – 0,860 нг/мл ДІ 95 % [0,770- 1,030], в групі контролю - 0,024 нг/мл ДІ 95 % [0,020-0,030], між групами різниця була статистично значима ( $p < 0,01$ )

За референтні значення для розрахунку бралось загальноприйняті показники – 0,5-2 нг/мл при локалізованих бактеріальних інфекціях та вище 2 нг/мл – сепсис.

Чутливість ПКТ при локалізованій бактеріальній інфекції складає 83 %, при сепсисі – 87 %. Специфічність – 84 % і 90 %, відповідно.

Отже, ПКТ є надійним біомаркером для диференційної діагностики бактеріального і не бактеріального запалення, діагностики локалізованої бактеріальної інфекції та сепсису. в порівнянні з СРБ та TNF- $\alpha$ , що перекликається з даними літератури.

В останні роки з'явився значний інтерес до білка гострої фази - розчинного CD14 (sCD14-ST) – пресепсину (ПСП), як високоспецифічного маркера сепсису. CD14 існує у двох формах: розчинний (sCD14) та зв'язаний з мембраною (mCD14), останій знаходиться на мембранній поверхні моноцитів і макрофагів і слугує рецептором для ЛПС [30]. Біомаркер ПСП є білком з молекулярною масою 13 кДа, специфічний для фагоцитозу і утворюється внаслідок каскаду реакцій з mCD14 – мембранного рецептора макрофагів при зв'язуванні бактерій рецептором TLR4 [32]. Після активації фагоцитозу катепсин D та інші протеїнази розщеплюють циркулюючий sCD14 з утворенням його вкороченого фрагменту sCD14-ST (субтипу), який і отримав назву пресепсин [149]. У нормі його концентрація в сироватці крові дуже низька [103].

ПСП був відкритий у 2005 році в Японії і в 2011 запатентований як біохімічний маркер рівня фагоцитозу. Показано, що його рівень у крові підвищується вже через 1,5-2 години після індукції фагоцитозу [169].

У порівнянні з іншими маркерами ПСП має найбільшу специфічність і чутливість для діагностики сепсису. Рівень у 600 пг/мл був взятий в якості

порогового значення при якому чутливості складає 87,8 %, специфічність - 81,4 %, позитивна прогностична цінність - 88,6 %, негативна прогностична цінність - 80,3 % [187].

На рисунку 3 відображено схему утворення пресепсину при інфекційному процесі.

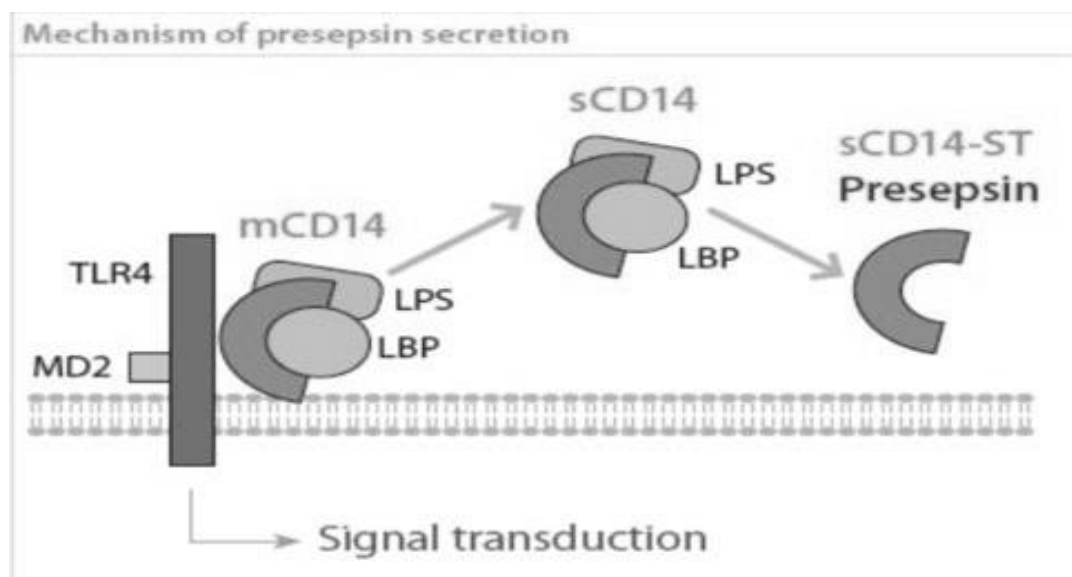


Рисунок 1 - Схема утворення пресепсину. (Yoshikazu Okamura, Ralf Thomae, 2014): mCD14 - мембранний CD14; sCD14 – розчинний CD14; sCD14-ST - розчинний CD14 підтип (пресепсин); LPS – ліпополісахарид; LBP – ліпополісахарид зв'язуючий білок; TLR4 - toll-like рецептор 4; MD2 білок пов'язаний з TLR4

Згідно Yin K et al. (2011), чутливість ПСП у діагностиці сепсису склала 91,9 %, ПКТ - 89,9 %, IL-6 – 88,9 % і бактеріологічного дослідження крові 35,4 %. Бактеріологічне дослідження виконувалось протягом 48-72 годин, ПКТ збільшувався в крові через 4 години після початку інфекції і досягав плато через 8-24 години. У той же час, рівень ПСП зростав у сироватці крові вже протягом перших двох годин від початку інфекційного процесу і досягав максимуму через 3 години [187].

У дослідженні Shozushima T. et al. (2011) ПСП був кращим маркером для діагностики сепсису, порівняно з ПКТ. Крім того, рівні ПСП добре корелюють зі шкалами APACHEII і SOFA [158].

Останні дослідження показали, що ПСП є високоспецифічним маркером сепсису і фагоцитозу. ПСП точно діагностує локальну інфекцію, сепсис і септичний

шок і диференціює їх від ССЗР неінфекційної етіології [32]. Однак, дослідження ПСП і його значення в діагностиці сепсису, їх важкості та прогнозу у дітей, а також у дорослих, в Україні взагалі не проводились, що робить таке дослідження надзвичайно актуальним, зважаючи на розповсюдженість сепсису, високу летальність від нього і запізнилу діагностику при багатьох хірургічних та інфекційних станах. За кордоном такі дослідження проводились тільки у дорослих та в експерименті.

Ми вперше провели дослідження нового біомаркера бактеріального інфекційного запалення у дітей.

В результаті дослідження було отримано наступні результати: в основній групі (n-16) рівень пресепсину складав 1887,5 пг/мл (505,5-3702,5 пг/мл); в групі порівняння (n-14) - 313,5 пг/мл (208-376 пг/мл). Різниця між групами статистично значима ( $p < 0,01$ ): U-критерій Манна-Уїтні - 6,5 при критичному значенні 50. У здорових дітей (група контролю n-26) рівень пресепсину - 109 пг/мл (77,5-160 пг/мл), що тако ж статистично відрізнялось від медіани групи порівняння ( $p < 0,05$ ): U-критерій Манна-Уїтні – 15 при критичному значенні 112.

Чутливість та специфічність визначення рівня пресепсину при сепсисі у дітей складає, відповідно, 92 % та 93 %. Для діагностики наявності бактеріальної інфекції у дітей чутливість складає 97 %, а специфічність – 96 %.

Отже, підвищений синтез пресепсину відбувається тільки при інфекційному процесі, що дозволяє використовувати даний маркер для проведення диференційної діагностики інфекційного і неінфекційного запалення. Рівень пресепсину чутливіший ніж ПКТ. Його вимірювання ефективно для ранньої діагностики сепсису, моніторингу його важкості, прогнозу та контролю ефективності антибактеріальної терапії. Пресепсин - перспективний маркер для наукових досліджень.

Новим напрямком вивчення патогенезу виникнення системного бактеріального запалення є виявлення поліморфізмів генів регуляторних молекул, які зумовлюють схильність до розвитку септичних станів і відіграють значну роль у перебігу і наслідках захворювання [16, 96].

«Гени схильності» – алелі мутантів, які відразу після народження клінічно можуть не проявлятися, але, за певних несприятливих умов, призводять до розвитку того або іншого захворювання. [102].

Сучасна концепція патогенезу інфекційних захворювань заснована на вивченні генетичних асоціацій специфічних кандидатних генів залучених у регуляцію імунної відповіді [25, 154].

Як відомо, відповідь індивідуума на інфекцію і антимікробну терапію значно відрізняється. Більшість пацієнтів можуть видужати без будь-яких ускладнень, а у деяких може розвинутися важкий сепсис, поліорганна недостатність, рефрактерна гіпотензія і, навіть, смерть. Як свідчать дані літератури, різноманітні одноточкові поліморфізми алелей генів цитокінів або сигнальних систем зумовлюють силу відповіді на інфекційний агент, що в свою чергу обумовлює схильність до розвитку генералізованого інфекційного процесу, його перебіг і важкість [34, 39, 91].

Тому одним із важливих завдань при дослідженні проблем сепсису є пошук поліморфізмів генів, які визначають схильність/стійкість до його розвитку та виникнення ускладнень [39].

Під функціональним поліморфізмом розуміють поодинокі заміни нуклеотидів або тандемні повтори ділянок нуклеотидів у промоторній частині гену. Подібні зміни не відображаються на структурі білка, але в деяких випадках змінюють швидкість транскрипції мРНК (знижуючи або підвищуючи її) [149].

Варіації в генах, що кодують про- та антизапальні цитокіни, рецепторні білки імунних клітин можуть впливати на їх синтез, обумовлюючи силу запальної відповіді [28].

Так, на результат бактеріальних інфекцій можуть впливати генетичні зміни, які відповідають за підвищену продукцію TNF- $\alpha$  [39]. Проведено генотипування дітей з менінгококцемією. Виявлено, що наявність хоча б однієї копії високопродукуючої алелі -308\*А гена TNF- $\alpha$  у генотипі дитини підвищує вірогідність летального наслідку в 2,5 рази [1, 39].

У дослідженні Е. П. Кузьминой (2013) було виявлено, що у хворих з опіковою хворобою факторами, які визначають схильність або стійкість до розвитку сепсису є поліморфні варіанти генів IL-1Ra (A/A) і TLR2 [25].

У дослідженні чеських учених було виявлено два генних поліморфізми IL-6 (G174> C і G572> C), які зумовлюють розвиток і важкість сепсису та розвиток гострої наднирничкової недостатності при менінгококовій інфекції [28].

Метою нашого дослідження було встановити зв'язок однонуклеотидної заміни G→A в промоторній ділянці гену, що кодує синтез TNF-α, в точці 308 і ступенем розповсюдженості інфекційного процесу та оцінити прогностичну цінність визначення варіанту заміни, як предиктора розвитку сепсису.

Визначали мутований та дикий варіант даного алелю. При наявності дикого варіанту в точці (-308) гомозиготно знаходиться гуанін, при мутованому гетерозиготному варіанті одна із молекул гуаніну замінена на аденін, при гомозиготному варіанті мутації обидві молекули гуаніну заміщуються на аденін.

При генетичному обстеженні дітей обох груп в основній групі у 13 дітей (46,4 %) було виявлено мутований варіант алелю та в 15 дітей (53,6 %) - дикий. У групі порівняння мутований варіант було виявлено лише у чотирьох дітей, що складало 14,8 %, решта дітей мали дикий варіант алелю (85,2 %), тобто, у дітей основної групи мутований варіант точки -308 в гені, що кодує синтез TNF-α, зустрічається у 3,1 рази частіше. Розрахувавши точний критерій Фішера для даних вибірок, можна зробити висновок, що наявність мутованої алелі є предиктором розвитку сепсису ( $p = 0.006$ ). Відношення шансів (ВШ) виявило, що у дітей із наявністю аденіну в точці -308 в 5,0 разів (ДІ 95 % 1,5-16,1) частіше реєструється генералізований інфекційний процес. Крім того, в групі порівняння не було ні однієї дитини із гомозиготним варіантом мутованого алелю (308 A/A).

Отже, наші дані співпадають з даними інших авторів, які досліджували поліморфізм генів цитокінів, як генетичних предикторів схильності або стійкості до розвитку сепсису або високої вірогідності летального кінця.

Крім того, нами вивчалась залежність варіанту алельного поліморфізму та рівня синтезу TNF-α при сепсисі у дітей. Для досягнення цієї мети 27 дітям

паралельно із визначенням варіанту алельного поліморфізму було проведено визначення рівня TNF- $\alpha$  сироватки крові.

В усіх дітей було виявлено підвищення рівня TNF- $\alpha$  сироватки крові в порівнянні із нормою. Середній рівень TNF- $\alpha$  у обстежених дітей сягав 249,8 пг/мл ДІ 95 % [200,2-299,4]. У дітей із генералізованою інфекцією він сягав 318,2 пг/мл ДІ 95 % [244,5-391,9], у дітей із локалізованою інфекцією – 176,1 пг/мл ДІ 95 % [133,3-218,9]. Рівень TNF- $\alpha$  в залежності від варіанту одноалельного поліморфізму гену що кодує синтез TNF- $\alpha$  в точці -308 був наступним: при варіанті алелю в точці - 308 G/G – 201,9 пг/мл [ДІ 95 % 168,6-235,2 пг/мл], при варіанті алелю в точці 308 G/A – 460,6 пг/мл [ДІ 95 % 379,2-541,9 пг/мл], різниця статистично значима ( $p < 0,001$ ) і між цими показниками існує середньої сили прямий кореляційний зв'язок ( $r = 0,66$ ,  $p = 0,0002$ ).



## ВИСНОВКИ

1. Сепсис залишається важливою медичною, демографічною і економічною проблемою людства, оскільки корелює з високою летальністю та значними економічними витратами. В усьому світі щорічно реєструється біля 18 млн випадків сепсису і, незважаючи на сучасні досягнення в лікуванні, летальність від сепсису коливається в межах 20-50 %, а у хворих на септичний шок - від 40 до 80 %. Захворюваність на сепсис збільшується щорічно, головним чином через збільшення числа пацієнтів з імунодепресією, збільшенням стійкості збудників до антибіотиків. Тому пошук нових діагностичних біомаркерів ранньої діагностики сепсису та генетичних маркерів схильності до його розвитку стало метою нашого дослідження.

2. У 66,6 % дітей основної групи та у 50,0 % дітей групи порівняння причиною бактеріального запалення була Гр (+) флора. При локалізації первинного вогнища в ЛОР-органах (83,3 %) та кістково-м'язовій системі (91,7 %) переважали Гр (+) мікроорганізми, при локалізації гнійного вогнища в грудній порожнині з однаковою частотою зустрічалися Гр (+) та Гр (-) збудники, при вогнищі, що локалізувалось в черевній порожнині та в ЦНС, в переважній більшості випадків виділялися Гр (-) бактерії (71,4 %).

3. Локалізація первинного вогнища в ЛОР-органах (OR – 2,98 S – 0,11 CI 95 % [2,37-3,74]), грудній порожнині (OR – 2,58, S – 0,31 CI 95 % [1,41-4,71]) та ЦНС (OR – 2,20 S – 0,31 CI 95 % [1,20-4,00]) є несприятливим предиктором генералізації інфекційного процесу. Найтривалішої інтенсивної терапії при сепсисі потребували діти із локалізацією первинного вогнища в грудній порожнині ( $20,1 \pm 3,27$  діб) та ЛОР-органах ( $18,6 \pm 5,4$  діб). В той час як найчастіше до септичного шоку призводять інфекції із первинним вогнищем в ЛОР-органах, кістково-м'язовій системі та ЦНС (25,00 % та по 18,75 %, відповідно).

4. Визначено чітку залежність між клінічною формою (сепсис чи локалізована бактеріальна інфекція) та біохімічними і імунологічними маркерами запалення. При сепсисі рівень туморнекротичного фактору- $\alpha$  був в 1,5 рази, прокальцитоніну – в 4,7 рази, а пресепсину – в 6 разів вищим, у порівнянні з дітьми із локалізованою

бактеріальною інфекцією ( $p < 0,05$ ). При цьому виявлено найвищу специфічність (96 %) та чутливість (97 %) саме у пресепсину. Важкість перебігу сепсису корелювала із рівнем біомаркерів. Найтісніший прямий кореляційний зв'язок між кількістю ознак ССЗВ та наявністю септичного шоку спостерігався при визначенні рівня пресепсину ( $r = 0,84$ ), прямий кореляційний зв'язок середньої сили визначається для рівня прокальцитоніну та СРБ - 0,65 та 0,44, відповідно.

5. При локалізованій бактеріальній інфекції рівень ПКТ був 0,770- 1,030нг/мл, при сепсисі – більше 2 нг/мл (RR – 5,3 S-0,27 CI 95 % 3,45-8,16), рівень пресепсину становив, відповідно, 200-450 пг/мл та вище 500 пг/мл (RR – 4,95 S-0,52 CI 95 % 1,78-13,46).

6. У дітей з бактеріальною інфекцією при наявності мутованого гомозиготного (A/A) або гетерозиготного (A/G) генотипу в точці -308 в 5 разів збільшується вірогідність розвитку сепсису (OR – 5,00, S=0,84, CI 95 % 1,54-16,14,  $p < 0,05$ ), у порівнянні з дітьми, які є гомозиготами (G/G), тобто мають дикий варіант поліморфізму в досліджуваній точці. У дітей з сепсисом генотип (A/A) виявлявся у 27% випадків та лише у 3 % дітей з локалізованою бактеріальною інфекцією, генотип A/G – у 30 % і 7 %, відповідно. У той час генотип G/G мав місце у 90% дітей з локалізованим бактеріальним процесом і лише у 43 % дітей із сепсисом.

7. Встановлено залежність між алельним поліморфізмом і рівнем синтезу TNF- $\alpha$ . Генотип гена, який кодує синтез TNF- $\alpha$  A/A в точці – 308, спричиняє вищий синтез TNF- $\alpha$ . Середній рівень TNF- $\alpha$  у дітей із наявністю аланіну в точці 308 був у два рази вищим, у порівнянні із дітьми з диким варіантом генотипу. Різниця між рівнем синтезу TNF- $\alpha$  в сироватці крові та видом одноалельного поліморфізму в гені, що кодує його синтез в точці 308, є статистично значимою і між цими показниками виявлено середньої сили прямий кореляційний зв'язок ( $r=0,66$ ,  $p = 0,0002$ ).

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. У комплекс обстежень хворих дітей з бактеріальними інфекціями доцільно включати дослідження поліморфізму TNF- $\alpha$  (G $\rightarrow$ A - 308). Дітям з мутованим гомозиготним (A/A) або гетерозиготним генотипом (A/G), які є предикторами схильності до розвитку сепсису, слід вчасно розпочати комбіновану антибактеріальну терапію і проводити постійний моніторинг її ефективності. Носіям даних генотипів рекомендується проведення додаткових щеплень від менінгококу, оскільки нами виявлено, що у дітей основної групи із мутованим варіантом алеля в точці 308 в 53,8 % було діагностовано менінгококову інфекцію.

2. З метою ранньої діагностики сепсису слід визначати рівні прокальцитоніну та нового біомаркера бактеріального запалення – пресепсину. Критерієм генералізації бактеріального запалення у дітей слід вважати підвищення вмісту ПКТ в сироватці крові більш, ніж 2 нг/мл та пресепсину більше, ніж 500 пг/мл. На локалізовану бактеріальну інфекцію вказують рівні ПКТ і пресепсину – 0,56-1,20 нг/мл та 200-450 пг/мл, відповідно.

3. Чутливість і специфічність пресепсину, як біомаркера сепсису, найвища і сягає 92 % та 93 %, відповідно. Пресепсин достовірніше відображає динаміку сепсису, ніж СРБ і ПКТ, і є перспективним маркером для наукових досліджень. Визначення рівнів пресепсину є ефективним для ранньої діагностики сепсису, моніторингу його важкості.

4. Для проведення диференційної діагностики локалізованої бактеріальної інфекції та сепсису у дітей доцільно використовувати розроблений нами алгоритм.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. G308/308A полиморфизмы гена TNF-  $\alpha$  и уровни продукции цитокина в норме и при хронических воспалительных заболеваниях органов дыхания / К. А. Руденко, М. М. Нихай, А. Р. Тугуз и др. Вестник адыгейского государственного университета. Серия 4. 2012. № 4. (110). С. 146-154.
2. Абдоминальная хирургическая инфекция (классификация, диагностика, антимикробная терапия): Российские национальные рекомендации / М. М. Абакумов, С. В. Багненко, В. Б. Белобородов и др.: Москва, 2011. 99 с.
3. Актуальність проблеми сепсису у світі та в Україні / С. О. Дубров, О. Ю. Сорокіна, К. А. Дуброва, Г. Б. Славута. Острые и неотложные состояния в практике врача. 2017. № 4. С.32– 35.
4. Апоптоз лимфоцитов у детей с неонатальным сепсисом / Х. С. Хаертынов, С. В. Бойчук, В. А. Анохин и др. Казанский медицинский журнал. 2013. Т. 94, №5. С. 775-778.
5. Бархатова Н. А. Сепсис в хирургии: учеб. пособ. / Н. А. Бархатова, В. А. Привалов. ЧелГМА: Челябинск, 2010. 75 с.
6. Бархатова Н. А. Новый подход к дифференциальной диагностике локальной и генерализованной форм инфекции мягких тканей. Пермский медицинский журнал. 2013. Т. 30. №. 6. С. 93-98.
7. Биомаркеры в клинической практике / Л. В. Павлушкина, Е. А. Черневская, И. Б. Дмитриева, Н. В. Белобородова. Лаборатория. 2013. № 3. С. 10-14.
8. Булава Г. В. Иммунологические аспекты сепсиса. Неотложная медицинская помощь. 2013. № 2. С. 47-56.
9. Вельков В. В. Пресепсин – новый высокоэффективный биомаркер сепсиса. Педиатрия. 2013. Т. 92. № 4. С. 128.
10. Вельков В. В. Прокальцитонин в диагностике критических состояний. Лабораторная медицина. 2009. №10. С. 49-54.

11. Вельков В.В. Использование биомаркера пресепсин для ранней и высокоспецифичной диагностики сепсиса. Журнал им. проф. Б.М. Костюченка. 2015. № 2. С. 54-82.
12. Внебольничная пневмония (клиническое течение, прогнозирование исходов) / В. П. Колосов, Е. Ю. Кочегарова, С. В. Нарышкина. Благовещенск. 2012. 124 с.
13. Генетический полиморфизм иммуногенной сигнальной системы / В. Н. Цыган, А. М. Иванов, Т. А. Камилова и др. Журнал инфектологии. 2011. Т. 3. № 2. С. 21-27.
14. Гнойно-септические осложнения острых хирургических заболеваний у детей. / В. Г. Цуман, А. Е. Машков. М. : Медицина, 2005. 288 с.
15. Гузенко Б. В. Алгоритм діагностики опікового бактеріального сепсису. Запорозький медичинський журнал. 2013. № 5. С. 19-22.
16. Гузенко Б. В., Слесаренко С. В., Соєць Л. О. Прокальцитонін як біомаркер діагностики бактеріального сепсису в обпечених хворих. Біль, знеболення і інтенсивна терапія. 2011. №. 4 (57). С. 43-47.
17. Даценко Б. М., Шаповал С. Д., Кириллов А. В. Критерии диагностики и прогноза хирургического сепсиса. Международный медицинский журнал. 2005. № 2. С. 81-90.
18. Діагностична цінність гострофазових показників інфекційно-запального процесу у діагностиці раннього неонатального сепсису / О.К. Колоскова, Л.О. Безруков, Л.В. Колюбакіна, О.В. Власова. Міжнародній журнал педіатрії, акушерства та гінекології 2016. 9(3). С. 58-64.
19. Зинкин А. Н., Сергеев М. М. Клиника и исходы риносинусогенных гнойно-септических осложнений у детей. Вестник оториноларингологии. 2011. № 2. С. 8-12.
20. Интенсивная терапия сепсиса / Б. Р. Гельфанд, Д. Н. Проценко, Е. Б. Гельфанд и др. Лечебное дело. 2004. № 4. С. 62-67.
21. Калягин А. Н., Антипова О. В., Григорьева Т. В. Прокальцитониновый тест в ревматологии. Современная ревматология. 2012. №4. С. 57-60.

22. Коррекция метаболической гипоксии у пострадавших с тяжелой термической травмой в стадии ожоговой септикотоксемии / Г. П. Козинец, О. И. Осадчая, В. П. Циганков и др. Клінічна хірургія. 2012. № 12. С. 38-42.

23. Костюк О.О., Шунько Є.Є., Краснова Ю.Ю. Ранній неонатальний сепсис. Основні напрямки діагностики та лікування. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. 2014.Т. 4. № 3. С.110-115.

24. Котляров А. Н., Чуриков В. В., Абушкин И. А. Инновационные стратегии снижения риска развития полиорганной недостаточности тяжелого сепсиса при хирургической инфекции у детей. Вестник ЮУрГУ. 2013. Т. 13. № 1. С. 126-131.

25. Кузьминова Е.П. Полиморфизм и особенности экспрессии генов врожденного и адаптивного иммунитета у пациентов с тяжелой термической травмой: автореф. дис. на соискание науч. степени канд. биол. наук : 14.03.09. Россия. Челябинск. 2013. 23 с.

26. Курсов С. В. Транспорт кисню в умовах абдомінального сепсису при наявності високого ризику летальності. Світ медицини та біології. 2012. №. 1. С. 79-83.

27. Махмудов О.С., Пулатова Р.З. Опыт внедрения современных методов диагностики и лечения сепсиса у детей раннего возраста. Педиатрия. 2012. Т. 3. № 4. С. 88-91.

28. Мироманова Н. А. Ассоциация генетических полиморфизмов IL-4 (C598T) и TNF $\alpha$  (G-308A) у детей с тяжелым течением гриппа. Материалы Всероссийского ежегодного конгресса Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика (Санкт-Петербург, 8-9.10.2013 г.). Санкт-Петербург, 2013. С. 78.

29. Моррисон В. В., Божедомов А. Ю. Значение определения концентрации прокальцитонина плазмы крови в диагностике септических состояний. Саратовский научно-медицинский журнал. 2010. Т. 6. № 2. С. 261-267.

30. Мургина М.Н., Борисенко Т.Д. Пресепсин - биомаркер ранней диагностики сепсиса у детей. Мат. VIII Съезда врачей клиничко-лабораторной

службы Министерства здравоохранения Республики Беларусь: Тез. доп. Минск. 2016. С.128-129.

31. Мургіна М.М. Клінічні особливості перебігу локалізованих та генералізованих бактеріальних інфекцій у дітей. Актуальна інфектологія. 2017. Т. 5. № 3. С. 32-37.

32. Мургіна М.М. Роль рівня прокальцитоніну в сироватці крові в диференційній діагностиці локалізованих та генералізованих бактеріальних інфекцій у дітей. Український науково-практичний молодіжний журнал. 2012. №3 (спец. випуск). 286.

33. Мургіна М.М., Лисиця Ю.М. Сучасні імунологічні маркери діагностики септичних станів у дітей. Мат. всеукр. наук.-практ. конф.: тези доп. Суми. 2015. С. 72-73.

34. Нестеренко О.М. Международное Руководство по лечению тяжелого сепсиса и септического шока (пересмотр 2012 года), выпущенное неформальным движением за выживание при сепсисе. Краткое изложение (Pocket Guide). Ж. Шпитальна хірургія. 2016. № 1. С. 5-26.

35. Объективная оценка тяжести состояния больных и прогноз в хирургии / Ю. М. Гаин, Г. Я. Хулуп, Н. В. Завада и др. Минск, 2005. 299 с.

36. Остров В. Ф. Евгеньев М. Б., Мурашев А. Н. Защитные свойства рекомбинантного человеческого белка теплового шока 70 при моделировании грамположительного сепсиса у крыс. Биомедицина. 2010. № 5. С. 110-112.

37. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Порівняльний аналіз інформативності сучасних біомаркерів сепсису у дітей. Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології. 2017. Т.11. № 1. С. 14-22.

38. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Інформативність визначення рівня пресепсину для диференційної діагностики локалізованих та генералізованих форм інфекційного процесу у дітей. Мат. всеукр. наук.-практ. конф.: тези доп. Суми. 2017. С. 215-217.

39. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Поліморфізм гену TNF- $\alpha$  при локалізованих і генералізованих гнійно-септичних захворюваннях у дітей. Современная педиатрия. 2013. №3 (51). С.39-41.

40. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Порівняльний аналіз сучасних біомаркерів розвитку сепсису у дітей. Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології. 2016. Т.10. № 1. С. 84-85.

41. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Сучасні уявлення про патогенез і діагностику гнійно-септичних станів у дітей. Інфекційні хвороби. 2017. № 2 (88). С.32-40.

42. Пипа Л.В., Мургіна М.М., Гейващук Я.М. Пат. № 77626 Україна МПК (2006.01) G01N 33/50. Спосіб прогнозування генералізації інфекційного процесу у дітей № u 2012 08373; заявл. 07.07.2012; опубліковано 25.02.2013, Бюл. № 68. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Пат. № 114595 Україна МПК (2006.01) G01N 21/76, (2006.01) G01N 21/77, (2006.01) G01N 33/48 . Спосіб диференційної діагностики генералізованого та локалізованого гнійно-септичного тану у дітей. № u 2016 10031; заявл. 03.10.2016; опубліковано 10.03.2017, Бюл. № 5. 9. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Інформаційний лист про нововведення у сфері охорони здоров'я № 306-2012 «Диференційна діагностика локалізованих та генералізованих форм бактеріальних інфекцій у дітей».

43. Пипа Л.В., Мургіна М.М., Гейващук Я.М. Рання діагностика генералізованої бактеріальної інфекції у дітей. Мат. всеукр. наук.-практ. конф.: тези доп. Суми. 2013. С. 83-84.

44. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Поліморфізм гену TNF- $\alpha$  при локалізованих і генералізованих гнійно-септичних захворюваннях у дітей. Biomedical and biosocial antropology. 2013. № 20. С. 48-51.

45. Полиморфизм гена TNF- $\alpha$  (g-308a) у больных с гнойно-воспалительными осложнениями при переломах длинных костей конечностей в забайкальском крае / А. М. Мироманов, О. Б. Миронова, М. В. Трубицын, Ю. А. Витковский. Забайкальский медицинский вестник. 2013. № 1. С. 41-45.

46. Похилько В. І. Роль генетичної детермінанти в розвитку критичних станів у дітей. Світ медицини та біології. 2011. № 2. С. 178-184.



47. Пресепсин – новый биомаркер для ранней диагностики сепсиса у детей./ Пипа Л.В., Мургина М.М., Гейващук Я.М. та ін. Мат. IX з'їзду інфекціоністів України: тези доп. Тернопіль. 2015. С.267-268.

48. Прокальцитонин – новый показатель в диагностике тяжелой инфекции (биохимия, физиологические свойства, определение, сравнение с другими показателями) / Г. А. Васильев, Д. Л. Мищенко, И. П. Шлапак, А. Г. Васильев. Український медичний часопис. 2001. № 4 (24). VII-VIII. С. 129-138.

49. Прокальцитонин: новый лабораторный диагностический маркер сепсиса и гнойно-септических осложнений в хирургии / Б. Р. Гельфанд, М. И. Филимонов, Т. Б. Бражник и др. Вестник интенсивной терапии. 2003. №1. С. 12-16.

50. Пулатова Р. З. Влияние закономерностей внутрисистемной регуляции иммунного ответа и вариантов медиаторного дисбаланса на особенности клинического течения сепсиса у детей раннего возраста. Материалы Всероссийского ежегодного конгресса Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика (Санкт-Петербург, 8-9.10.2013 г.). Санкт-Петербург, 2013. С. 88.

51. Руднов В. А., Миронов П. И. Клинические рекомендации по ведению больных с тяжелым сепсисом и септическим шоком (SurvivingSepsisCampaign 2008): анализ и комментарии. Клини.микробиол. антимикроб. химиотер. 2008. Т.10. № 3. С. 192-200.

52. Рыдловская А. В., Симбирцев А.С. Функциональный полиморфизм гена TNF- $\alpha$  и патология. Журнал Цитокины и воспаление. 2005. Т. 4, № 3. С. 4-10.

53. Сепсис в начале XXI века: практическое руководство. Классификация, клиничко-диагностическая концепция и лечение. Патолого-анатомическая диагностика/ под ред. Савельева В. С., Гельфанда Б. Р. М. : Литтерра, 2006. 176 с.

54. Сепсис: этиология, эпидемиология, патогенез, диагностика, интенсивная терапия / Л .А. Мальцева, Л. В. Усенко, Н. Ф. Мосенцев. М. : МЕДпресс информ, 2005. 176 с.

55. Состояние гуморального иммунитета у детей с гнойно-септическими заболеваниями на этапе госпитализации / Л. Ф. Притуло, Ю. А. Бисюк, Т. Г.

Филоненко, О. В. Васильев. Таврический медико-биологический вестник. 2012. Т. 15. №2. ч. 2 (58). С. 174-176. 37.

56. Суковатых Б. С., Блинков Ю. Ю., Фролова О. Г. Механизмы развития распространенного перитонита. Вестник экспериментальной и клинической хирургии. 2012. Т. V. №2. С. 470-478.

57. Титова Н. Д., Новикова В. И. Оценка и клиническое значение состояния рецепторов нейтрофилов у детей с гнойно-септическими заболеваниями. Иммунология, аллергология, инфектология. 2006. № 4. С. 18-33.

58. Толкач А. Б. Влияние реамберина на кислородный баланс, окислительный стресс и легочную дисфункцию у пациентов с абдоминальным сепсисом. Бюллетень сибирской медицины. 2012. № 3. 69-76.

59. Харин Г. М., Шакирова А. З. Диагностика сепсиса в прозекторской практике. Казанский медицинский журнал. 2006. Т. 87, № 4. С. 304-308.

60. Шунько Є.Є. Стратегічні напрямки медичної допомоги новонародженим в Україні. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. 2014. Т. 4. № 3. С.11-14.

61. A limited set of molecular biomarkers may provide superior diagnostic outcomes to procalcitonin in sepsis / R. B. Brandon, M. Thomas, R. A. Brandon et al. Critical Care. 2012. Vol. 16. P. 40.

62. A new marker for the diagnosis of sepsis: Presepsin / M. Agilli, I. Sener, F. Yesildal et al. J. Investig. Biochem. 2012. Vol. 1. P. 55-57.

63. A novel molecular biomarker diagnostic for the early detection of sepsis / D. Venter, M. Thomas, J. Lipman, [et al.] // Critical Care. – 2010. – Vol. 14., Suppl. 2 - P9.

64. Animal models of sepsis and sepsis-induced kidney injury / K. Doi, A. Leelahavanichkul, P. S. T. Yuen, R. A. Star. J. Clin. Invest. 2009. Vol. 119. P. 2868–2878.

65. Anti-inflammatory effect of procalcitonin on in vitro LPS-stimulated human PBMC / A. Foca, A. Quirino, M. C. Pulicari et al. Critical Care. 2010. Vol. 14. P. 27.

66. Assessment of clinical criteria for sepsis: for the third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) /C. W. Seymour, V.X. Liu, T.J. Iwashyna et al. JAMA. 2016. Vol. 315 P. 762-774.

67. Association of tumor necrosis factor  $\beta$  genetic polymorphism and sepsis susceptibility / F. Delongui, C. M. C. Grion, M. A. E. Watanabe et al. *Experimental and therapeutic medicine*. 2011. Vol. 2. P. 349-356.
68. Associations between TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-10 Promoter Polymorphisms and Mortality in Severe Sepsis / O. Sabelnikovs, L. Nikitina-Zake, A. Krumina et al. *Journal of Scientific Research & Reports*. 2012. Vol. 1. P. 17-28.
69. Bereanu A., Sava M., Kiss L. Intraabdominal pressure and procalcitonin as markers in predicting the evolution of acute pancreatitis. *Acta medica transilvanica*. 2013. Vol. 2. P. 257-258.
70. Bioenergetic imbalance and oxidative stress in the pathophysiology of septic encephalopathy / J. D'Avila, R. Rodrigues, H. Castro-Faria-Neto et al. *Critical Care*. 2013. Vol. 17. P. 22.
71. Biomarkers in sepsis at time zero: intensive care unit scores, plasma measurements and polymorphisms in Argentina / S. P. Wingeyer, E. Cunto, C. Noguerras et al. *J. Infect. Dev. Ctries*. 2012. Vol. 6, № 7. P. 555-562.
72. Bone R.C., Sibbald W.J., Sprung C.L. The ACCP-SCCM consensus conference on sepsis and organ failure. *Chest*. 1992. Vol. 101. № 6. P. 1481-1483.
73. Bozza F. A., Bozza P. T., Neto C. F. Beyond sepsis pathophysiology with cytokines: what is their value as biomarkers for disease severity? *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 2005. Vol. 100. P. 217-221.
74. Brayer A. F., Humiston S. G. Invasive Meningococcal Disease in Childhood. *Pediatrics in Review*. 2011. Vol. 32, № 4. P. 152-161.
75. Carcillo J. A., Planquois J-M. S., Goldstein B. Early Markers of Infection and Sepsis in Newborns and Children. *Adv. Sepsis*. 2006. Vol. 5. P. 118-125.
76. Carvalho P. R. A., Trotta E de A. Advances in sepsis diagnosis and treatment. *J. Pediaatria*. 2003. Vol. 79. P. 195-204.
77. Charalambous B. M., Leung M. H. Pneumococcal sepsis and nasopharyngeal carriage. *Curr. Opin. Pulm. Med*. 2012. Vol. 18. P. 6.
78. Chen X-h., Yin Y-j., Zhang J-x. Sepsis and immune response. *World J. Emerg. Med*. 2011. Vol. 2. P. 88-92.

79. Cinel I., Opal S. M. Molecular biology of inflammation and sepsis: A primer. *Crit. Care Med.* 2009. Vol. 37. P. 291–304.
80. Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature.* 2002. Vol. 420. P. 885-891.
81. Cytokine Promoter Polymorphisms in Severe Sepsis / F. Stuber, S. Klaschik, L. E. Lehmann et al. *Clinical Infectious Diseases.* 2005. Vol. 41. P. 416–420.
82. Czarnecka-Kujawa K., F. Saleh. Sepsis: A Review of Pathophysiology and Management. *MUMJ.* 2007. Vol. 4, No. 1. P. 3-8.
83. Dalainas I. Pathogenesis, diagnosis, and management of disseminated intravascular coagulation: a literature review. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences.* 2008. Vol. 12. P. 19-31.
84. de Souza D.C., Barreira E.R., Faria L.S. The epidemiology of sepsis in childhood. *Shock.* 2017. Vol. 1. № 47. 1S. P. 2-5.
85. Definitions, Epidemiology and Pathophysiology / S. M. Robert, E. S. Halstead, J. A. Carcillo, R. K. Aneja. *The Open Inflammation Journal.* 2011. Vol. 4. P. 16-23.
86. Delayed Wound Repair in Sepsis Is Associated with Reduced Local Pro-Inflammatory Cytokine Expression / K. Sommer, A. L. Sander, M. I. Albig et al. *PLOS ONE.* 2013. Vol. 8. P. 8.
87. Diagnostic accuracy of procalcitonin in proven and clinically suspected systemic infection / S. Das, D. Anand, S. Ray et al. *Critical Care.* 2012. Vol. 16. P. 6.
88. Diagnostic markers for early sepsis diagnosis in children with systemic inflammatory response syndrome / J. Pavâre, I. Grope, I. Kalniõð, D. Gardovska. *Proceedings of the latvian academy of sciences.* 2009. Vol. 63, No. 4/5 (663/664). P. 191–197.
89. Diagnostic Markers for Identifying Sepsis in Patients with Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS): A Prospective Study / J. Pavare, I. Grope, L. Eihvalde, D. Gardovska. *The Open Pediatric Medicine Journal.* 2009. Vol. 3. P. 1-7.

90. Diagnostic value and prognostic evaluation of Presepsin for sepsis in an emergency department / B. Liu, Y-X. Chen, Q. Yin et al. *Critical Care*. 2013. Vol. 17:R244. P. 1-12.
91. Early-onset neonatal sepsis / K.A.Simonsen, A. L. Anderson-Berry, S.F. Delair, H.D. Davies. *Clin. Microbiol. Rev.* 2014. Vol. 27. P. 21-47
92. Epidemiology of sepsis in pediatric intensive care units: first Colombian multicenter study / J. C. Jaramillo-Bustamante, A. Marín-Agudelo, M. Fernández-Laverde, J. Bareño-Silva. *Pediatr. Crit. Care Med.* 2012. Vol. 13. P. 501-508.
93. Hernandez T., Mayadas T. N. Immunoregulatory role of TNF  $\alpha$  in inflammatory kidney diseases. *Kidney International*. 2009. Vol. 76. P. 262–276.
94. Evaluation of procalcitonin for diagnosis of neonatal sepsis of vertical transmission / J. B. L. Sastre, D. P. Solís, V. R. Serradilla et al. *BMC Pediatrics*. 2007. Vol. 7. P. 9.
95. Evaluation of Serum Procalcitonin in Patients with Systemic Inflammatory Response Syndrome with and without Infection / Z. Ahmadinejad, B. Dadsetan, M. Jalili et al. *Acta Medica Iranica*. 2009. Vol. 47. P. 383-388.
96. Faix I.D. Biomarkers of sepsis. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2013. Vol. 50. № 1. P. 23-36.
97. Fendler W. M., Piotrowski A. J. Procalcitonin in the early diagnosis of nosocomial sepsis in preterm neonates. *J. Paediatr. Child Health*. 2008. Vol. 44. P. 114-118.
98. Fischer J. E., DiLeo M. V., Federspiel W. J. Physicians' ability to diagnose sepsis in newborns and critically ill children. *Pediatr. Crit. Care Med.* 2005. Vol. 6. P. 120 – 125.
99. Fisher J. D. Investigating Cytokine Binding Using a Previously Reported TNF-Specific Aptamer. *Open Journal of Applied Sciences*. 2012. Vol. 2. P. 135-138.
100. Functional Genomics and Gene Expression Profiling in Sepsis: Beyond Class Prediction / R. J. Feezor, A. Cheng, H. N. Paddock et al. *Clinical Infectious Diseases*. 2005. Vol. 41. P. 427–435.

101. Genetic association study of tumor necrosis factor-alpha with sepsis and septic shock in Thai pediatric patients / S. Phumeetham, N. Chat-uthai, M. Manavathongchai, V. Viprakasit. *J. Pediatr. (Rio J)*. 2012. Vol. 88(5). P. 417-422.
102. Genetic polymorphisms in neonatal sepsis / A. Del Vecchio, G. Ladisa, N. Laforgia et al. *Haematologica reports*. 2006. Vol. 2, № 10. P. 31-37.
103. Henriquez-Camacho C., Losa J. Biomarkers for Sepsis. *BioMed Research International*. 2014. Vol. 2014. P. 1-6.
104. Hobson M. J., Wong H. R. Finding new therapies for sepsis: the need for patient stratification and the use of genetic biomarkers. *Critical Care*. 2011. Vol. 15:1009. P. 2.
105. In vitro and in vivo calcitonin I gene expression in parenchymal cells a novel product of human adipose tissue / P. Linscheid, D. Seboek, E. S. Nylen et al. *Endocrinology*. 2003. Vol. 144. P. 5578-5584.
106. Ingram N. Procalcitonin: does it have a role in the diagnosis, management and prognosis of patients with sepsis? *JICS*. 2013. Vol. 14, № 3. P. 226-230.
107. Interleukin-6 and procalcitonin in children with sepsis and septic shock / J. R. Fioretto, J. G. Martin, C. S. Kurokawa et al. *Cytokine*. 2008. Vol. 43. P. 160-164.
108. International pediatric sepsis consensus conference: Definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics / B. Goldstein, B. Giroir, A. Randolph et al. *Pediatr. Crit. Care Med*. 2005. Vol. 6. P. 2–8.
109. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision (ICD-10)-WHO Version for 2016. URL: <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2016/en>
110. Intestinal barrier loss in sepsis / G. Thuijls, J. P. M. Derikx, J. Grootjans et al. *Netherlands Journal of Critical Care*. 2011. Vol. 15, № 4. P. 199-203.
111. Is Procalcitonin Useful in Early Diagnosis of Serious Bacterial Infections in Children? / R. Gupta, V. Singh, S. Patrikar et al. *J. Nepal Paediatr. Soc*. 2013. Vol. 33. P. 106-109.

112. Kumar S., Rizvi M. Serum tumor necrosis factor  $\alpha$  and C-reactive protein in pediatric patients with sepsis and its correlation with microbiologic findings. *Indian J. Pathol. Microbiol.* 2010. Vol. 53. P. 494-497.
113. Leroy S., Gervaix A. Procalcitonin: A Key Marker in Children with Urinary Tract Infection. *Advances in Urology.* 2011. Vol. 2011. P. 7.
114. Maruna P., Nedelnicova K., Gurlich R. Physiology and genetics of procalcitonin. *Physiol. Res.* 2000. Vol. 49. P. 57-61.
115. Mechanisms and Regulation of the Gene-Expression Response to Sepsis / T. T. Cornell, J. Wynn, T. P. Shanley et al. *Pediatrics.* 2010. Vol. 125. P. 1248 – 1258.
116. Mechanisms of polymicrobial sepsis-induced ileus / M. Overhaus, S. Togel, M. A. Pezzone, A. J. Bauer. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2004. Vol. 287. P. 685–694.
117. Meisner M. Update on procalcitonin measurements. *Ann Lab Med.* 2014. Vol. 34. № 4. P. 263–73
118. Melendez E., Bachur R. Advances in the emergency management of pediatric sepsis. *Current Opinion in Pediatrics.* 2006. Vol. 18. P. 245–253.
119. Monneret G. How to Identify Systemic Sepsis-Induced Immunoparalysis. *Advances in Sepsis.* 2005. Vol. 4. P. 42 –49.
120. Morabito V. Early diagnosis of bacterial infections in surgical patients. Use of pathfast presepsin assay. *International Conference on Pathology, August 27-29, 2012. - Philadelphia Center City, USA - J. Clin. Exp. Pathol.* 2012. Vol. 2. P. 5.
121. Mortality in human sepsis is associated with downregulation of Toll-like receptor 2 and CD14 expression on blood monocytes / B. Schaaf, K. Luitjens, T. Goldmann et al. *Diagnostic Pathology.* 2009. Vol. 4:12. P. 7.
122. Mossie A. Pathophysiology of sepsis. *World Journal of Medicine and Medical Science.* 2013. Vol. 1, № 8. P. 159-168.
123. Mossie A. Pathophysiology of sepsis. *World Journal of Medicine and Medical Science.* 2013. Vol. 1. № 8. P. 159-168.
124. Namath A., Patter A. J. Genetic Polymorphisms in Sepsis. *Crit. Care Clin.* 2009. Vol. 25. P. 835–856.

125. National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) Bacterial Meningitis and Meningococcal Septicaemia In Children (Management of bacterial meningitis and meningococcal septicaemia in children and young people younger than 16 years in primary and secondary care). Clinical guideline 102. London, UK: NICE, 2010. p. 44. ([www.nice.org.uk/guidance/CG102](http://www.nice.org.uk/guidance/CG102)).
126. Orban C. Diagnostic Criteria for Sepsis in Burns Patients. *Chirurgia*. 2012. Vol. 107, № 6. P. 697-700.
127. Oxidative stress as a novel target in pediatric sepsis management / B. von Dessauer, J. Bongain, Víctor Molina et al. *Journal of Critical Care*. 2011. Vol. 26. P. 103.e1. 103.e7.
128. Pathophysiologic mechanisms in septic shock / E. G. King, G. J. Bauza', J. R. Mella, D. G. Remick. *Laboratory Investigation*. 2014. Vol. 94. P. 4–12.
129. Pediatric Sepsis Guidelines: Summary for resource-limited countries / P. Khilnani, S. Singhi, R. Lodha et al. *Indian J. Crit. Care Med*. 2010. Vol. 14 (1). P. 41–52.
130. Pediatric severe sepsis in US children's hospitals / F. Balamuth, S.L. Weiss, M.I. Neuman, H. Scott et al. *Pediatr Crit Care Med*. 2015. Vol. 15. P. 798-805.
131. Pierrakos C., Vincent J-L. Sepsis biomarkers: a review. *Critical Care*. 2010. Vol. 14:R15. P. 1-18.
132. Playfor S. Management of the critically ill child with sepsis. *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain*. 2004. Vol. 4, № 1. P. 12-15.
133. Plunkett A., Tong J. Sepsis in children. *BMJ* 2015. Vol. 351. h3704.
134. Potential Interventions in Sepsis-Related Acute Kidney Injury / C. Ronco, J. A. Kellum, R. Bellomo, A. A. House. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol*. 2008. Vol. 3. P. 531-544.
135. Povoia P., Salluh J. I F. Biomarker-guided antibiotic therapy in adult critically ill patients: a critical review. *Annals of Intensive Care*. 2012. Vol. 2:32. P. 9.
136. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: a systematic review and meta-analysis / C. Wacker, A. Prkno, F. M. Brunkhorst, P. Schlattmann. *The Lancet Infectious Diseases*. 2013. Vol. 13, №. 5. P. 426 – 435.



137. Procalcitonin as a diagnostic marker of meningococcal disease in children presenting with fever and a rash / E. D. Carrol, P. Newland, F. A. I. Riordan et al. *Arch. Dis. Child.* 2002. Vol. 86. P. 282–285.

138. Procalcitonin as a marker of bacterial infection in the emergency department: an observational study / Y-L. Chan, C-P.Tseng, P-K. Tsay et al. *Crit. Care.* 2004. Vol. 8. P. 12-20.

139. Procalcitonin as a Marker of Neonatal Sepsis / Y. Zahedpasha, M. AhmadpourKacho, M. Hajiahmadi, M. Haghshenas. *Iranian Journal of Pediatrics.* 2009. Vol. 19. P. 117 122.

140. Procalcitonin in children with sepsis and septic shock / J. R. Fioretto, F. de C. Borin, R. C. Bonatto et al. *J. Pediatr. (Rio J).* 2007. Vol. 83(4). P. 323-328.

141. Procalcitonin neutralizes bacterial LPS and reduces LPS-induced cytokine release in human peripheral blood mononuclear cells / G. Matera, A. Quirino, A. Giacotti et al. *BMC Microbiology.* 2012. Vol. 12:68. P. 1-12.

142. Procalcitonin: A useful biomarker to discriminate infection after cardiopulmonary bypass in children / I. Jordan, B. M nica, E. Elisabeth et al. *Pediatr Crit Care Med.* 2012. Vol. 13. № 4. P. 441-445.

143. Procalcitonin: Mysterious Protein in Sepsis / M. Nakamura, R. Kono, S. Nomura, H. Utsunomiya . *Journal of Basic & Clinical Medicine.* 2013. Vol. 2. P. 7-11.

144. Prucha M., Zazula R., Pekova S. Genomic Polymorphism and Sepsis – Is There a Reason for Optimism? *Prague Medical Report.* 2008. Vol. 109, No. 2–3. P. 113–126.

145. Pulatova R. Etiological characteristics and clinical features of sepsis in early age children in different variants of mediator imbalance of the immune system. *Medical and Health Science Journal.* 2011. Vol. 7. P. 128-132.

146. Pypa L.V., Murhina M.M. Laboratory changes and levels of biomarkers in localized bacterial infections and sepsis in children. *Journal of Education, health and sport.* 2017. Vol. 7. № 8. P. 701-711.

147. Rajapaksa S., Starr M. Meningococcal sepsis. *Australian Family Physician.* 2010. Vol. 39, №.5. P. 276-278.

148. Recent insights into the pathogenesis of bacterial sepsis / A. A. Anas, W. J. Wiersinga, A. F. de Vos, T. van der Poll. *The J. Netherlands Med.* 2010. Vol. 68, № 4. P. 147-152.
149. Role of biomarkers in the management of antibiotic therapy: an expert panel review: I – currently available biomarkers for clinical use in acute infections / A-M. Dupuy, F. Philippart, Y. Péan et al. *Annals of Intensive Care.* 2013. Vol. 3:22. P. 8.
150. Role of procalcitonin, C-reactive protein, interleukin-6, interleukin-8 and tumor necrosis factor- $\alpha$  in the diagnosis of neonatal sepsis / E. Kocabaş, A. Sarıkçıoğlu, N. Aksaray et al. *The Turkish Journal of Pediatrics.* 2007. Vol. 49. P. 7-20.
151. Russell J. A. Management of Sepsis. *N. Engl. J. Med.* 2006. Vol. 355. P. 1699-1713.
152. Saez-Lopez E., Guiral E., Soto S. M. Neonatal Sepsis by Bacteria: A Big Problem for Children. *Clin. Microbial.* 2013. Vol. 2. P. 6.
153. Samraj R.S., Zingarelli B., Wong H.R. Role of biomarkers in sepsis care. *Shock.* 2013. Vol. 40. № 5. P. 358-365.
154. Sapru A., Quasney M. W. Host Genetics and Pediatric Sepsis. *The Open Inflammation Journal.* 2011. Vol. 4. P. 82-100.
155. Satran R., Almog Y. The Coagulopathy of Sepsis: Pathophysiology and Management. *IMAJ.* 2003. Vol. 5. P. 516-520.
156. Schuetz P., Christ-Crain M., Müller Beat. Procalcitonin and Other Biomarkers for the Assessment of Disease Severity and Guidance of Treatment in Bacterial Infections. *Adv. Sepsis.* 2008. Vol. 6. P. 82–89.
157. Seker Kockara A., Kayatas M. Sepsis and the Kidney: New Developments in Pathogenesis and Treatment. *Turk. Neph. Dial. Transpl.* 2013. Vol. 22. P. 16-29.
158. Serum levels of presepsin reflects the APACHE II and SOFA scores in patients with sepsis / R. Sato, Y. Suzuki, M. Sato et al. *Critical Care.* 2013. Vol. 17. P. 37.
159. Serum procalcitonin as a diagnostic tool of bacteremia / C. Gartzonika, E. Priavali, N. Zotos, [et al.] // *Critical Care.* – 2010. – Vol. 14. – P. 14.

160. Serum procalcitonin elevation in critically ill patients at the onset of bacteremia caused by either Gram negative or Gram positive bacteria / P. E. Charles, S. Ladoire, S. Aho et al. *BMC Infect. Dis.* 2008. Vol. 8. P. 38.
161. Severe Sepsis and Septic Shock: Review of the Literature and Emergency Department Management Guidelines / H. B. Nguyen, E. P. Rivers, F. M. Abrahamian et al. *Ann. Emerg. Med.* 2006. Vol. 48. P. 28-54.
162. Simmons M. L., Durham S. H., Carter C. W. Pharmacological Management of Pediatric Patients With Sepsis. *Advanced Critical Care.* 2012. Vol. 23, №. 4. P. 437-448.
163. Smith K., Bigham M. T. Biomarkers in Pediatric Sepsis. *The Open Inflammation Journal.* 2011. Vol. 4. P. 24-30.
164. Soreng K., Levy H. R. Procalcitonin: an Emerging Biomarker of Bacterial Sepsis. *Clinical Microbiology Newsletter.* 2011. Vol. 33, No. 22. P. 171-178.
165. Sriskandan S., Altmann D. M. The immunology of sepsis. *J. Pathol.* 2008. Vol. 214. P. 211–223.
166. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2012 / R. P. Dellinger, M. M. Levy, A. Rhodes et al. *Crit. Care Med.* 2013. Vol. 41. P. 580–637.
167. The epidemiologic characteristics, temporal trends, predictors of death, and discharge disposition in patients with a diagnosis of sepsis: A cross-sectional retrospective cohort study / S. Elfeky, P. Golabi, M. Otgonsuren et al. *Journal of critical care.* 2017 Vol. 1. № 39. P. 48-55.
168. The Epidemiology of Severe Sepsis in Children in the United States / R. S. Watson, J. A. Carcillo, W. T. Linde-Zwirble et al. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003. Vol. 167. P. 695–701.
169. The new sepsis marker, sCD14-ST, induction mechanism in the rabbit sepsis models / K. Shirakawa, K. Naitou, J. Hirose et al. *Crit. Care.* 2010. Vol. 14. P. 19.
170. The pathophysiology of septic shock / R. Saha, S. Das, R. Chatterjee, I. Kaur. *International Journal of Pharma and Bio Sciences.* 2010. Vol. 1. P. 1-10.

171. The pediatric sepsis biomarker risk model / H. R. Wong, S. Salisbury, Q. Xiao et al. *Critical Care*. 2012. Vol. 16:R174. P. 1-9.

172. The pediatric Sepsis Biomarkers / P. Dahlem, M. Saraga, W. L. Strohmaier et al. *Journal of Child Science*. 2017. Vol. 1. №. 01. P. e36-e37.

173. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3)/ M. Singer, S.C. Deutschman, C.W. Seymour, M. Shankar-Hari et al. *JAMA*. 2016. Vol. 315(8). P. 775-787.

174. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) / M. Singer, C.S. Deutschman, C.W. Seymour et al. *JAMA*. 2016. Vol. 23 № 315. P. 801-810.

175. TNF and TNFR polymorphisms in severe sepsis and septic shock: a prospective multicentre study / A. C. Gordon, A. Lagan, E. Aganna et al. *Genes and Immunity*. 2004. Vol. 5. P. 631–640.

176. TNF-alpha and TNF-beta gene polymorphisms in Polish patients with sarcoidosis. Connection with the susceptibility and prognosis / R. Kieszko, P. Krawczyk, S. Chocholska et al. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung. Dis*. 2010. Vol. 27. P. 131-137.

177. Trends in the epidemiology of pediatric severe sepsis / M.E Hatman, W.T. Linde-Zwirble, D.C. Angus, R.S. Watson. *Pediatr Crit Care Med*. 2013. Vol. 14. P. 686-693.

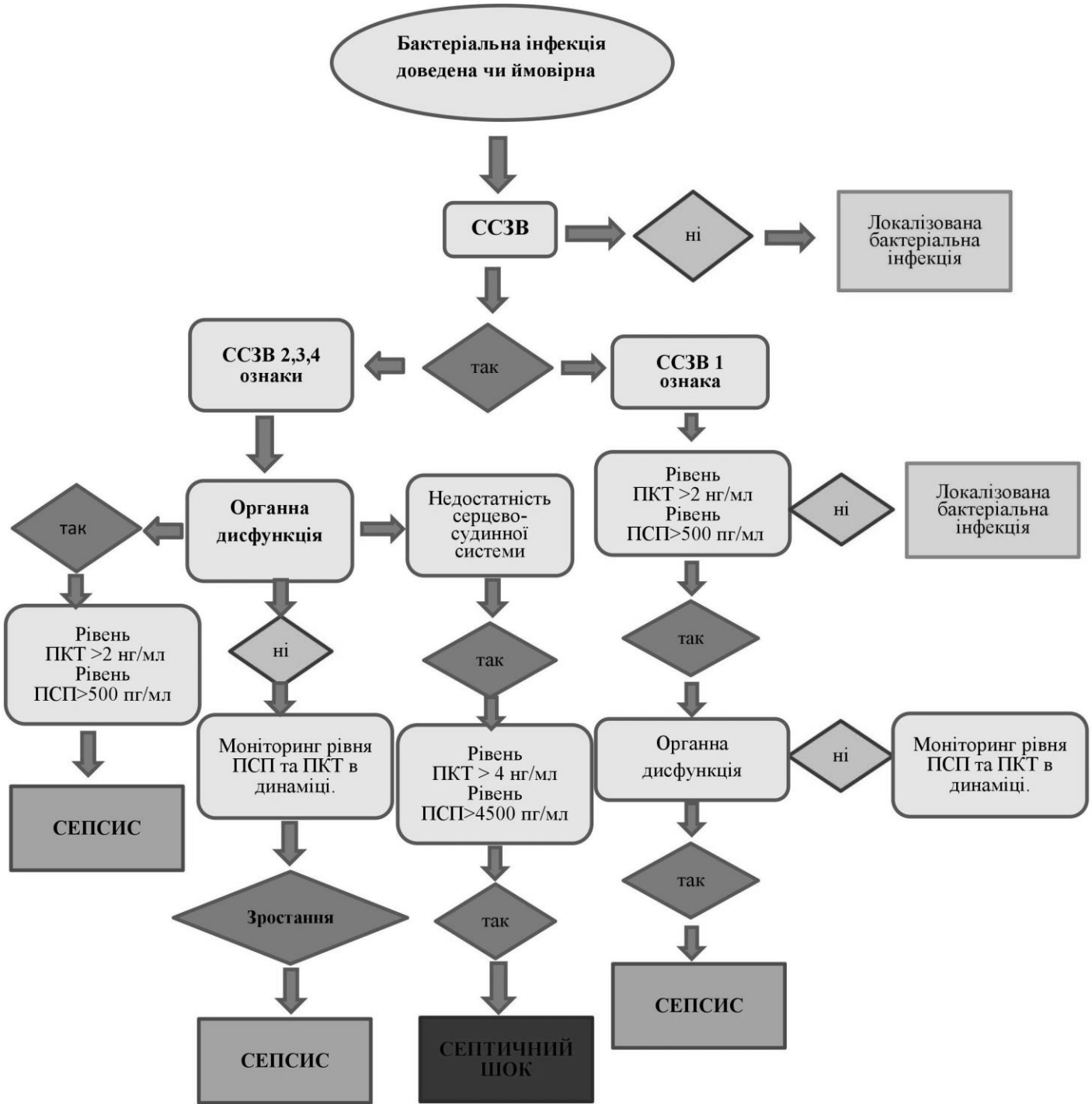
178. Tumor necrosis factor alpha -308 gene locus promoter polymorphism: an analysis of association with health and disease / M. M. Elahi, K. Asotra, B. M. Matata, S. S. Mastana // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2009. – Vol. 1793. – P. 163-72.

179. Usefulness of presepsin (sCD14-ST) measurements as a marker for the diagnosis and severity of sepsis that satisfied diagnostic criteria of systemic inflammatory response syndrome / T. Shozushima, G. Takahashi, N. Matsumoto et al. *J. Infect. Chemother*. 2011. Vol. 17 (6). P. 764-769.

180. Utility of Procalcitonin as an Early Diagnostic Marker of Bacteremia in Patients with Acute Fever / M. H. Kim, G. Lim, S. Y. Kang et al. *Yonsei Med. J*. 2001. Vol. 52. P. 276-281.

181. Waterer G. W., Wunderink R. G. Science review: Genetic variability in the systemic inflammatory response. *Critical Care*. 2003. Vol. 7. P. 308-314.
182. Watson R. S., Carcillo J. A. Scope and epidemiology of pediatric sepsis. *Pediatr. Crit. Care Med*. 2005. Vol. 6, No. 3. P. 3-5.
183. Webb S. The Role of Mediators in Sepsis Resolution. *Advances in sepsis*. 2002. Vol. 2, № 1. P. 8-14.
184. Wheeler D. S. Oxidative Stress in Critically Ill Children with Sepsis. *The Open Inflammation Journal*. 2011. Vol. 4. P. 74-81.
185. Wheeler D. S. Pediatric Sepsis: Markers, Mechanisms, and Management. *The Open Inflammation Journal*. 2011. Vol. 4. P. 1-3.
186. Wilson J. X., Young G. B. Sepsis-associated encephalopathy: Evolving concepts. *Neurol. J. Southeast Asia*. 2003. Vol. 8. P. 65 - 76.
187. Zou Q., Wen W., Zhang X-c. Presepsin as a novel sepsis biomarker. *World J. Emerg. Med*. 2014. Vol. 5. No 1. P. 16-19.

**ДОДАТОК А**



**Алгоритм диференційної діагностики сепсису та локалізованої бактеріальної інфекції у дітей.**

## ДОДАТОК Б

### Список публікацій здобувача:

1. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Поліморфізм гену TNF- $\alpha$  при локалізованих і генералізованих гнійно-септичних захворюваннях у дітей. Современная педиатрия. 2013. №3 (51). С.39-41
2. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Порівняльний аналіз інформативності сучасних біомаркерів сепсису у дітей. Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології. 2017. Т.11. № 1. С. 14-22.
3. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Сучасні уявлення про патогенез і діагностику гнійно-септичних станів у дітей. Інфекційні хвороби. 2017. № 2 (88). С.32-40.
4. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Поліморфізм гену TNF- $\alpha$  при локалізованих і генералізованих гнійно-септичних захворюваннях у дітей. Biomedical and biosocial anthropology. 2013. № 20. С. 48-51.
5. Мургіна М.М. Клінічні особливості перебігу локалізованих та генералізованих бактеріальних інфекцій у дітей. Актуальная инфектология. 2017. Т. 5. № 3. С. 32-37.
6. Pyra L.V., Murhina M.M. Laboratory changes and levels of biomarkers in localized bacterial infections and sepsis in children. Journal of Education, health and sport. 2017. Vol. 7, № 8. P. 701-711.
7. Пипа Л.В., Мургіна М.М., Гейващук Я.М. Пат. № 77626 Україна МПК (2006.01) G01N 33/50. Спосіб прогнозування генералізації інфекційного процесу у дітей № u 2012 08373; заявл. 07.07.2012; опубліковано 25.02.2013, Бюл. № 6.
8. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Пат. № 114595 Україна МПК (2006.01) G01N 21/76, (2006.01) G01N 21/77, (2006.01) G01N 33/48 . Спосіб диференційної діагностики генералізованого та локалізованого гнійно-септичного стану у дітей. № u 2016 10031; заявл. 03.10.2016; опубліковано 10.03.2017, Бюл. № 5.
9. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Інформаційний лист про нововведення у сфері охорони здоров'я № 306-2012 «Диференційна діагностика локалізованих та генералізованих форм бактеріальних інфекцій у дітей».

10. Мургіна М.М. Роль рівня прокальцитоніну в сироватці крові в диференційній діагностиці локалізованих та генералізованих бактеріальних інфекцій у дітей. Український науково-практичний молодіжний журнал. 2012. №3 (спец. випуск). 286.

11. Пипа Л.В., Мургіна М.М., Гейвашук Я.М. Рання діагностика генералізованої бактеріальної інфекції у дітей. Мат. всеукр. наук.-практ. конф.: тези доп. Суми. 2013. С. 83-84.

12. Мургіна М.М., Лисиця Ю.М. Сучасні імунологічні маркери діагностики септичних станів у дітей. Мат. всеукр. наук.-практ. конф.: тези доп. Суми. 2015. С. 72-73.

13. Пресепсин – новий біомаркер для ранньої діагностики сепсису у дітей./ Пипа Л.В., Мургіна М.М., Гейвашук Я.М. та ін.// Мат. ІХ з'їзду інфекціоністів України: тези доп. Тернопіль. 2015. С.267-268.

14. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Порівняльний аналіз сучасних біомаркерів розвитку сепсису у дітей. Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології. 2016. Т.10. № 1. С. 84-85.

15. Мургіна М.Н., Борисенко Т.Д. Пресепсин - біомаркер ранней диагностики сепсиса у детей. Мат. VIII Съезда врачей клинико-лабораторной службы Министерства здравоохранения Республики Беларусь: Тез. доп. Минск. 2016. С.128-129.

16. Пипа Л.В., Мургіна М.М. Інформативність визначення рівня пресепсину для диференційної діагностики локалізованих та генералізованих форм інфекційного процесу у дітей. Мат. всеукр. наук.-практ. конф.: тези доп. Суми. 2017. С. 215-217.



## ДОДАТОК В

### Апробація результатів дослідження:

- міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій Всесвітньому дню здоров'я 2012 р. «Старіння та здоров'я» (м. Київ 2012 р.);
- науково – практичній конференції «Медико – соціальні проблеми здоров'я населення: від малюка до дорослого» (м. Харків, 2012р.);
- «Інфекційні хвороби в практиці лікаря-інтерніста: сучасні аспекти» (м. Суми, 2015р.);
- XIII з'їзд педіатрів України «Актуальні питання педіатрії» (м. Київ, 2016 р.).

## ДОДАТОК Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

## Матеріалів наукових досліджень у практичну діяльність

1. Назва пропозиції для впровадження: *Диференційна діагностика генералізованої та локалізованої бактеріальної інфекції у дітей*
2. Ким запропонований: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця, вул. Пирогова 56, кафедра педіатрії ФПО, **Пипа Лариса Володимирівна, Мургіна Марина Миколаївна.**
3. Джерело інформації:  
 Інформаційний лист про нововведення у сфері охорони здоров'я № 306-2012 «Диференційна діагностика локалізованих та генералізованих форм бактеріальних інфекцій у дітей». Пипа Л.В., Мургіна М.М.
4. Впроваджено: ВАУГ  
 (структурні підрозділи, де було впроваджено пропозицію)
5. Термін впровадження: 2016 - 2017 р
6. Загальна кількість спостережень – 128.
7. Результати та ефективність впровадження: пропонується спосіб диференційної діагностики локалізованої та генералізованої бактеріальної інфекції у дітей на основі визначення рівня прокальцитоніну сироватки крові. При рівні прокальцитоніну до 1 нг/мл з високою специфічністю та чутливістю можна діагностувати локалізовану бактеріальну інфекцію у дітей, якщо рівень перевищує 3 нг/мл – це свідчить про розвиток сепсису (генералізацію бактеріальної інфекції).
8. Зауваження, пропозиції: не вносились

« 30 » 07 2017 р. Підпис \_\_\_\_\_  
 (відповідальний за впровадження)



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

#### Матеріалів наукових досліджень у практичну діяльність

1. Назва пропозиції для впровадження: *Визначення пресепсину для ранньої діагностики сепсису у дітей.*
2. Ким запропонований: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця, вул. Пирогова 56, кафедра педіатрії ФПО, **Пипа Лариса Володимирівна, Мургіна Марина Миколаївна.**
3. Джерело інформації:  
Пат. № 114595 Україна МПК (2006.01) G01N 21/76, (2006.01) G01N 21/77, (2006.01) G01N 33/48. *Спосіб диференційної діагностики генералізованого та локалізованого гнійно-септичного стану у дітей / Пипа Л.В., Мургіна М.М.; заявник та патентовласник Пипа Л.В., Мургіна М.М., - № у 2016 10031; заявл. 03.10.2016; опубліковано 10.03.2017, Бюл. № 5.*
4. Впроваджено: *БОУФ, раннього ранше*  
(структурні підрозділи, де було впроваджено пропозицію)
5. Термін впровадження: I-III квартал 2017 р
6. Загальна кількість спостережень – 56.
7. Результати та ефективність впровадження: пропонується спосіб ранньої діагностики сепсису у дітей (вік від 1 міс до 18 років) при виникненні підозри на генералізований бактеріальний процес. Рівень пресепсину вище 500 пг/мл за рахунок високої специфічності та чутливості можна використовувати як ранній маркер розвитку сепсису у дітей.
8. Зауваження, пропозиції: не вносились

«30» 2017 р. Підпис *[підпис]*  
(відповідальний за впровадження)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар \_\_\_\_\_  
 (заклад де проводиться впровадження)  
 «30» 05 2017 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

### Матеріалів наукових досліджень у практичну діяльність

1. Назва пропозиції для впровадження: *Спосіб прогнозування генералізації інфекційного процесу у дітей.*
2. Ким запропонований: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця, вул. Пирогова 56, кафедра педіатрії ФПО, Пипа Лариса Володимирівна, Мургіна Марина Миколаївна. Хмельницька міська дитяча лікарня м. Хмельницький вул. С.Разіна 1 Гейващук Ярослав Миколайович
3. Джерело інформації:  
 Пат. № 77626 Україна МПК (2006.01) G01N 33/50. Спосіб прогнозування генералізації інфекційного процесу у дітей / Пипа Л.В., Мургіна М.М., Гейващук Я.М.; заявник та патентовласник Пипа Л.В., Мургіна М.М., Гейващук Я.М. - № u 2012 08373; заявл. 07.07.2012; опубліковано 25.02.2013, Бюл. № 6.
4. Впроваджено: БСЧГ  
 (структурні підрозділи, де було впроваджено пропозицію)
5. Термін впровадження: 2016 - 2017 р
6. Загальна кількість спостережень – 55.
7. Результати та ефективність впровадження: пропонується спосіб прогнозування схильності до генералізації інфекційного процесу шляхом визначення алельного поліморфізму гену TNF- $\alpha$  (-308 G $\rightarrow$ A)/ При наявності мутованого варіанту гену (аденіну в точці 308) в 5 разів частіше зустрічається генералізована бактеріальна інфекція, тому дана мутація може слугувати предиктором схильності генералізації інфекційного процесу.
8. Зауваження, пропозиції: не вносились

«30» 05 2017 р.

Підпис \_\_\_\_\_

(відповідальний за впровадження)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар

(заклад для впровадження)

«30» \_\_\_\_\_ 2017 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

## Матеріалів наукових досліджень у практичну діяльність

1. Назва пропозиції для впровадження: *Диференційна діагностика генералізованої та локалізованої бактеріальної інфекції у дітей*
2. Ким запропонований: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця, вул. Пирогова 56, кафедра педіатрії ФПО, **Пипа Лариса Володимирівна, Мургіна Марина Миколаївна.**
3. Джерело інформації:  
Інформаційний лист про нововведення у сфері охорони здоров'я № 306-2012 «Диференційна діагностика локалізованих та генералізованих форм бактеріальних інфекцій у дітей». Пипа Л.В., Мургіна М.М.
4. Впроваджено: *ВСІМ Діагностика Врхесна*  
(структурні підрозділи, де було впроваджено пропозицію)
5. Термін впровадження: 2016 - 2017 р
6. Загальна кількість спостережень – 128.
7. Результати та ефективність впровадження: пропонується спосіб диференційної діагностики локалізованої та генералізованої бактеріальної інфекції у дітей на основі визначення рівня прокальцитоніну сироватки крові. При рівні прокальцитоніну до 1 нг/мл з високою специфічністю та чутливістю можна діагностувати локалізовану бактеріальну інфекцію у дітей, якщо рівень перевищує 3 нг/мл – це свідчить про розвиток сепсису (генералізацію бактеріальної інфекції).
8. Зауваження, пропозиції: не вносились

«30» 05 2017 р.

Підпис

(відповідальний за впровадження)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар

(заклад де проводиться впровадження)

« 30 » \_\_\_\_\_ 2017 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

### Матеріалів наукових досліджень у практичну діяльність

1. Назва пропозиції для впровадження: *Визначення пресепсину для ранньої діагностики сепсису у дітей.*
2. Ким запропонований: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця, вул. Пирогова 56, кафедра педіатрії ФПО, **Пипа Лариса Володимирівна, Мургіна Марина Миколаївна.**
3. Джерело інформації:  
Пат. № 114595 Україна МПК (2006.01) G01N 21/76, (2006.01) G01N 21/77, (2006.01) G01N 33/48 . *Спосіб диференційної діагностики генералізованого та локалізованого гнійно-септичного стану у дітей / Пипа Л.В., Мургіна М.М.; заявник та патентовласник Пипа Л.В., Мургіна М.М., - № у 2016 10031; заявл. 03.10.2016; опубліковано 10.03.2017, Бюл. № 5.*
4. Впроваджено: БСЧТ  
(структурні підрозділи, де було впроваджено пропозицію)
5. Термін впровадження: I-III квартал 2017 р
6. Загальна кількість спостережень – 56.
7. Результати та ефективність впровадження: пропонується спосіб ранньої діагностики сепсису у дітей (вік від 1 міс до 18 років) при виникненні підозри на генералізований бактеріальний процес. Рівень пресепсину вище 500 пг/мл за рахунок високої специфічності та чутливості можна використовувати як раній маркер розвитку сепсису у дітей.
8. Зауваження, пропозиції: не вносились

« 30 » \_\_\_\_\_ 2017 р.

Підпис \_\_\_\_\_

(відповідальний за впровадження)

«ЗАТВЕРДЖЕНО»  
 Головного лікаря  
 (заклад де проводиться впровадження)



«30» 05 2017 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

### Матеріалів наукових досліджень у практичну діяльність

1. Назва пропозиції для впровадження: Диференційна діагностика генералізованої та локалізованої бактеріальної інфекції у дітей
2. Ким запропонований: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця, вул. Пирогова 56, кафедра педіатрії ФПО, Пипа Лариса Володимирівна, Мургіна Марина Миколаївна.
3. Джерело інформації:  
 Інформаційний лист про нововведення у сфері охорони здоров'я № 306-2012 «Диференційна діагностика локалізованих та генералізованих форм бактеріальних інфекцій у дітей». Пипа Л.В., Мургіна М.М.
4. Впроваджено: ВЛСТ  
(структурні підрозділи, де було впроваджено пропозицію)  
*ресурсів лікарів сесії з питань впровадження*
5. Термін впровадження: 2016 - 2017 р
6. Загальна кількість спостережень – 128.
7. Результати та ефективність впровадження: пропонується спосіб диференційної діагностики локалізованої та генералізованої бактеріальної інфекції у дітей на основі визначення рівня прокальцитоніну сироватки крові. При рівні прокальцитоніну до 1 нг/мл з високою специфічністю та чутливістю можна діагностувати локалізовану бактеріальну інфекцію у дітей, якщо рівень перевищує 3 нг/мл – це свідчить про розвиток сепсису (генералізацію бактеріальної інфекції).
8. Зауваження, пропозиції: не вносились

«30» 05 2017 р.

Підпис

Л.В. Пипа  
 (відповідальний за впровадження)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар


  
 (заклад де проводиться впровадження)

«30» жовтня 2017 р.


### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

#### Матеріалів наукових досліджень у практичну діяльність

1. Назва пропозиції для впровадження: *Визначення пресепсину для ранньої діагностики сепсису у дітей.*
2. Ким запропонований: **Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця, вул. Пирогова 56, кафедра педіатрії ФПО, Пипа Лариса Володимирівна, Мургіна Марина Миколаївна.**
3. Джерело інформації:  
 Пат. № 114595 Україна МПК (2006.01) G01N 21/76, (2006.01) G01N 21/77, (2006.01) G01N 33/48. *Спосіб диференційної діагностики генералізованого та локалізованого гнійно-септичного стану у дітей / Пипа Л.В., Мургіна М.М.; заявник та патентовласник Пипа Л.В., Мургіна М.М., - № у 2016 10031; заявл. 03.10.2016; опубліковано 10.03.2017, Бюл. № 5.*
4. Впроваджено: *ВСУТ*  
 \_\_\_\_\_  
 (структурні підрозділи, де було впроваджено пропозицію)
5. Термін впровадження: I-III квартал 2017 р
6. Загальна кількість спостережень – 56.
7. Результати та ефективність впровадження: пропонується спосіб ранньої діагностики сепсису у дітей (вік від 1 міс до 18 років) при виникненні підозри на генералізований бактеріальний процес. Рівень пресепсину вище 500 пг/мл за рахунок високої специфічності та чутливості можна використовувати як ранній маркер розвитку сепсису у дітей.
8. Зауваження, пропозиції: не вносились

«30» жовтня 2017 р.

Підпис


  
 (відповідальний за впровадження)