

КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Ивануса С.Я., Иванов А.М., Лазуткин М.В., Чеботарь А.В.

## ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ СОВРЕМЕННОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ФГБВОУВО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, 194044, г. Санкт-Петербург, Россия.

*Проведен систематический поиск литературных источников в реферативных базах данных Scopus, Web of Science, MedLine, The Cochrane Library, CyberLeninka, РИНЦ за 2010-2018 года. Поисковыми запросами были: острый панкреатит и осложнения, острый панкреатит и диагностика, острый панкреатит и диагностика и осложнения, острый панкреатит и осложнения и сепсис. Представлены результаты поиска и анализа отобранных литературных источников. Выявлено, что применяющееся в настоящее время множество лабораторных и инструментальных методов диагностики инфекционных осложнений острого панкреатита не в полной мере отвечает запросам клинической практики. Наиболее распространенными из них являются определение в крови концентрации С-реактивного белка и прокальцитонина. При этом отмечен ряд недостатков этих методов. В последнее десятилетие в клиническую практику вводится множество новых маркеров системной инфекции. Некоторые из них исследуются в настоящее время в целях диагностики сепсиса вообще и инфекционных осложнений острого панкреатита в частности. Наиболее перспективными являются такие, как прецепсин, мид-региональный про-адреномедуллин, CD64 индекс нейтрофилов и некоторые другие.*

**Ключевые слова:** острый панкреатит; инфекционные осложнения; сепсис; лабораторная диагностика; обзор.

**Для цитирования:** Ивануса С.Я., Иванов А.М., Лазуткин М.В., Чеботарь А.В. Перспективные возможности современной лабораторной диагностики инфекционных осложнений острого панкреатита (обзор). Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (3): 145-152. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-3-145-152>

*Ivanusa S. Ya., Ivanov A. M., Lazutkin M. V., Chebotar A. V.*

### OPPORTUNITIES OF MODERN LABORATORY DIAGNOSTICS OF INFECTIOUS COMPLICATIONS OF ACUTE PANCREATITIS (LITERATURE REVIEW)

MGBUOBA, Military-medical Academy S. M. Kirov, 194044, St. Petersburg, Russian Federation

*A systematic search of literary sources in the abstract databases Scopus, Web of Science, MedLine, the Cochrane Library, CyberLeninka, RSCI for 2010-2018. The search queries were: acute pancreatitis and complications, acute pancreatitis and diagnosis, acute pancreatitis and diagnosis and complications, acute pancreatitis and complications, and sepsis. The results of search and analysis of selected literature sources are presented. It was revealed that the currently used set of laboratory and instrumental methods of diagnosis of infectious complications of acute pancreatitis does not fully meet the needs of clinical practice. The most common of them are the determination of blood concentrations of C-reactive protein and procalcitonin. At the same time, a number of disadvantages of these methods are noted. In the last decade, many new markers of systemic infection have been introduced into clinical practice. Some of them are currently being investigated in order to diagnose systemic infection in General and infectious complications of acute pancreatitis in particular. The most promising are such as presepsin, MID-regional Pro-adrenomedullin, CD64 neutrophil index and some others.*

**Key words:** acute pancreatitis; infectious complications; sepsis; laboratory diagnostics; review.

**For citation:** Ivanusa S. Ya., Ivanov M. A., Lazutkin V. M., Chebotar A. V. Opportunities of modern laboratory diagnostics of infectious complications of acute pancreatitis (review). Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (3): 145-152 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-3-145-152>

**For correspondence:** Chebotar A. V., associate at the Department of General surgery; e-mail: chebotar.anton@yandex.ru

#### Information about authors:

Maxim Lazutkin, <https://orcid.org/0000-0003-4971-7734>

Anton V. Chebotar, <https://orcid.org/0000-0001-6996-4471>

**Conflict of interest.** The authors declare that there is no conflict of interests.

**Acknowledgment.** The study had no sponsor support.

Received 28.02.2019  
Accepted 04.03.2019

**Введение.** Острый панкреатит (ОП) широко распространен среди населения развитых стран. По частоте причин госпитализаций в неотложной хирургии это заболевание находится на одном из ведущих мест, уступая только острому аппендициту и острому холециститу [1, 2]. До 30% случаев заболевание протекает в тяжелой форме, летальность при которой достигает 30%, а при развитии инфекционных осложнений – 85%

[1–6]. По данным за 2012 год в США затраты на стационарное лечение больных с ОП превысили 2,5 миллиарда долларов [7]. Наибольшее число неблагоприятных исходов наблюдается в стадию гнойно-септических осложнений [4, 8, 9].

Своевременная и точная диагностика инфекционных осложнений острого панкреатита является актуальной и сложной проблемой. Диагностические ошибки приводят к выбору неверной тактики хирургического лечения, возникновению и прогрессированию сепсиса и росту летальности в целом [10–12].

**Для корреспонденции:** Чеботарь Антон Викторович, адъюнкт при кафедре общей хирургии; e-mail: chebotar.anton@yandex.ru

Вашему вниманию предлагается обзор современных методов диагностики и прогнозирования панкреатогенной инфекции, как частного случая абдоминального сепсиса.

*Материал и методы.* Проведен систематический анализ литературных источников в отечественных и зарубежных базах данных за 2010-2018 года. Были сформулированы следующие поисковые запросы: острый панкреатит и осложнения, острый панкреатит и диагностика, острый панкреатит и диагностика и осложнения, острый панкреатит и осложнения и сепсис. Представлены результаты анализа отобранных источников.

**Гуморальные маркеры инфекционных осложнений острого панкреатита.** К наиболее широко применяемым для диагностики инфекционных осложнений острого панкреатита лабораторным тестам относятся С-реактивный белок (СРБ) и прокальцитониновый тест (ПКТ).

С-реактивный белок используется в клинической практике примерно с 1930 г. СРБ является острофазным протеином, концентрация которого в плазме крови возрастает при воспалении. Хотя СРБ является неспецифическим маркером воспаления, в некоторых работах указывается на возможность использования его для верификации инфицирования панкреонекроза и диагностики абдоминального сепсиса. В исследовании С.В. Михайлуова и соавт. [13] отмечается, что повышение СРБ в сыворотке крови более 96 мг/мл на 2-й неделе от начала заболевания можно считать одним из ранних диагностических маркеров развития инфекционного процесса в области деструкции поджелудочной железы. При этих показателях уровня СРБ метод обладает следующими характеристиками: чувствительность – 53,3%, специфичность – 80%. Несмотря на простоту и относительную дешевизну, метод имеет ряд существенных недостатков: длительная индукция роста концентрации СРБ в плазме крови, повышенное содержание СРБ в течение длительного времени после санации очага инфекции, концентрация СРБ повышается не пропорционально тяжести инфекции и может значительно увеличиваться при «малых» инфекционных процессах и воспалительных заболеваниях неинфекционной природы [14, 15].

Прокальцитониновый тест в настоящее время считается оптимальным маркером для диагностики инфекционных осложнений острого панкреатита. У больных с хроническими воспалительными заболеваниями (в том числе и аутоиммунными), вирусными инфекциями, локализованными бактериальными инфекциями уровень прокальцитонина составляет менее 0,5 нг/мл. Системная воспалительная реакция бактериальной этиологии умеренной интенсивности, травмы, ожоги сопровождаются повышением концентрации прокальцитонина в пределах 0,5-2 нг/мл. При тяжелой бактериальной инфекции, сепсисе, инфекционно-токсическом шоке концентрация прокальцитонина в плазме крови превышает 2 нг/мл и может достигать высоких значений – до 100 нг/мл и более [15].

Прокальцитониновый тест, по мнению ряда авторов, не только не уступает в точности методу тонкоигльной пункции-аспирации, но и положительно отлич-

чается быстротой исполнения, малой инвазивностью, безопасностью, простотой. Кроме того, мониторинг прокальцитонина способствует более точному администрированию введения антибактериальных препаратов. Признаком инфицирования панкреонекроза считают повышение концентрации прокальцитонина более 1,8 нг/мл, обнаруживаемое в течение двух дней подряд. Чувствительность метода варьирует от 84,7% до 95%, специфичность от 86,7% до 94% [16].

Однако в процессе использования ПКТ, как маркера хирургической и панкреатогенной инфекции, выявлен целый ряд состояний, влияющих на уровень данного маркера. В некоторых работах показано, что уровень прокальцитонина может повышаться при массовой гибели клеток. К таким состояниям относятся: травмы, ожоги и обширные хирургические вмешательства, некоторые онкологические процессы, заболевания легких, инвазии грибковыми инфекциями, острый коронарный синдром и длительная гипоперфузия тканей. В некоторых работах указывается, что повышение прокальцитонина при генерализации инфекции и развитии сепсиса часто происходит со значительной задержкой, что ведет к ложноотрицательным результатам, так называемый феномен «серой зоны» [15, 17].

Хорошей прогностической возможностью развития инфекционных осложнений обладают интерлейкины – IL-6, IL-8, IL-10 и др. В 2015 г. D.W. Jekarl и соавт. [18] провели оценку 13 цитокинов у больных с ССВР, из них 36 больных с сепсисом. В результате исследования авторы заключили, что к наиболее информативным маркерам относятся СРБ, ПКТ и ИЛ-6, а остальные цитокины не коррелировали с диагнозом сепсиса. В других исследованиях отмечается, что использование цитокинов ограничено значительной стоимостью анализа, а так же отсутствием многоцентровых исследований, доказывающих эффективность метода [12, 15, 19].

Одним из новых маркеров системной хирургической инфекции является пресепсин (P-SEP). P-SEP, или sCD14-ST, — высокоэффективный маркер сепсиса, который был открыт около 15 лет назад. Существуют 2 формы CD14: мембранная (mCD14) и растворимая (sCD14). Комплекс LPS—LPBP—sCD14 циркулирует в крови, где расщепляется катепсином D и другими протеазами плазмы с высвобождением N-терминального фрагмента молекулярной массой 13 кДа — молекулы sCD14-subtype (sCD14-ST), названной пресепсин. Пресепсин вырабатывается моноцитами в ответ на активацию фагоцитозом. Данному маркеру в последнее десятилетие уделяется особое внимание, так как он показал высокую чувствительность, специфичность и малое время реакции для появления в крови [20, 21]. Пресепсин – циркулирующий белок, маркер фагоцитоза. P-SEP – маркер реакции врожденного иммунитета на бактериальную инфекцию, маркер начальной фазы системной инфекции. Циркулирующий P-SEP – свидетель активации моноцитов-макрофагов в ответ на присутствие патогенов (бактерий, грибов) [22].

Пресепсин более чувствителен и специфичен по сравнению с другими маркерами системного воспа-

лительного ответа инфекционного генеза. Концентрация P-SEP в плазме значительно выше у больных с признаками хирургического сепсиса, чем у неинфицированных [21, 22]. В 2011 г. Т. Shozushima и соавт. [23] опубликовали результаты исследования уровня пресепсина у больных ССВР без сепсиса, больных с локальным воспалением, с сепсисом и тяжелым сепсисом. Концентрация P-SEP составляла соответственно:  $333,5 \pm 130,6$  пг/мл в группе больных с СВР без сепсиса,  $721,0 \pm 611,3$  пг/мл в группе с ограниченной инфекцией,  $817,9 \pm 572,7$  пг/мл в септической группе и  $1992,9 \pm 1509,2$  пг/мл в группе с тяжелым сепсисом. Концентрация данного маркера возрастала последовательно. Динамика характеризовалась быстрым появлением и ростом до ИЛ-6, ПКТ и СРБ. Уровень P-SEP коррелировал со шкалами APACHE II и SOFA. В других исследованиях приводятся подобные данные [24–28]. При пороговом значении концентрации пресепсина 399 пг/мл чувствительность диагностики сепсиса составляла 80,3 %, а специфичность — 78,5%, в то время как при пороговом значении 600 пг/мл чувствительность диагностики сепсиса составила 87,8 %, специфичность — 81,4 %, позитивная прогностическая величина — 88,6 %, негативная прогностическая величина — 80,3 % по сравнению с чувствительностью прокальцитонинового теста — 89,9 %, ИЛ-6 — 88,9 % и культуры крови — всего 35,4 % [22]. Исследования так же показали возможность мониторинга тяжести сепсиса и эффективности антибактериальной терапии на основании вычисления дельты уровня пресепсина при поступлении, в процессе лечения и наблюдения за больным [29]. Также установлено, что ПСП имеет 100% чувствительность к инфекции, подтвержденной гемокультурами [30, 31]. При сравнении динамики P-SEP, ПКТ, СРБ, ИЛ-6 и баллов по шкале SOFA выявлено, что только уровни P-SEP отражают реальную динамику тяжести сепсиса и коррелирует со значениями SOFA [25, 27]. Установлено, что при купировании клинических симптомов сепсиса динамика P-SEP (в отличие от динамики прокальцитонина) прогнозирует рецидив заболевания [32, 33].

Результаты исследований позволяют считать, что пресепсин является перспективным маркером в диагностике сепсиса. Однако, в исследованной литературе нет данных, посвященных определению пресепсина для дифференциальной диагностики инфекционных осложнений острого панкреатита.

Мид-региональный про-адреномедуллин (Mid-regional pro-adrenomedullin, MR-proADM) – прогормон адреномедуллина – вазодилаторного пептида, синтезируемого разными тканями. MR-proADM – маркер активации нейрогуморального механизма иммунного ответа. Повышение MR-proADM происходит при разных патологиях: сердечной недостаточности, онкологических процессах, при инфекциях и связано с тяжестью данной патологии. MR-proADM участвует в защите от бактериальной инфекции, может индуцировать гипердинамическое кровообращение на ранних стадиях сепсиса и его прогрессирования к септическому шоку. Предполагается, что MR-proADM может быть предиктором тяжести и исходов сепсиса. Совместное измерение MR-proADM и ПКТ повыша-

ет точность диагностики и прогноза. Повышенный MR-proADM свидетельствует о развитии тяжелых осложнений у инфицированных пациентов и указывает на необходимость их раннего перевода в ОРИТ. Установлено, что MR-proADM коррелирует со шкалами APACHE II и SOFA, а так же уровень его более 2,5 нмоль/л при поступлении является предиктором высокой летальности [17, 34, 35].

sTREM-1: растворимый сывороточный триггерный рецептор, экспрессируемый на миелоидных клетках-1 (Soluble serum triggering receptor expressed on myeloid cells-1). Рецептор TREM-1 расположен на поверхности миелоидных клеток (нейтрофилы, зрелые моноциты/макрофаги). Синтез sTREM-1 значительно повышается в присутствии лигандов – PAMP (pathogen-associated molecular pattern) – компонентов бактерий и грибов. При связывании TREM-1 с лигандами активируется сигнальный путь воспаления и от TREM-1 отщепляется фрагмент – sTREM-1, который выходит в системный кровоток, а так же обнаруживается в моче, спинномозговой жидкости и в других биологических средах. Показано, что sTREM-1 повышается при сепсисе, пневмонии, септическом артрите, менингите, перитоните и др. инфекциях. При этом уровни sTREM-1 повышаются независимо от тяжести патологии [36]. Однако отмечено, что TREM-1 является маркером не инфекционных воспалительных процессов, когда активация его происходит при связывании с лигандами, ассоциированными с тяжелыми не инфекционными острыми и хроническими патологиями – DAMP – damage-associated molecular pattern [37].

**Дисфункция эндотелия как признак тяжести острого панкреатита.** Острый панкреатит, протекая в первую фазу своего развития как неинфекционная СВР, сопровождается дисфункцией со стороны органов и систем, в первую очередь со стороны легких, почек, печени, эндотелия.

Функциональные расстройства эндотелия считаются критическим моментом в развитии гипотензии при системной воспалительной реакции. По степени нарушений функций эндотелия можно судить о раннем развитии СВР и ее осложнений при остром панкреатите [1]. В следовании Е.Б. Загородских и соавт. [38] показана эффективность использования маркеров дисфункции эндотелия в оценке динамики лечения и прогнозе осложнений у больных с острым панкреатитом тяжелой степени. В качестве маркеров использовались васкулоэндотелиальный фактор роста (ВЭФР) и количество десквамированных эндотелиоцитов в сыворотке крови. Авторы выявили, что маркеры дисфункции эндотелия достоверно повышены у больных ОП по сравнению со здоровыми, в частности, уровень ВЭФР составил  $517,2 \pm 619,3$  пг/мл ( $p = 0,0002$ ). У больных в фазе гнойно-септических осложнений выявлена обратная корреляция между тяжестью сепсиса и уровнем ВЭФР плазмы крови:  $r = -0,38$  (95 % ДИ  $-0,372$  и  $-0,387$ ,  $p = 0,003$ ). Маркер повреждения эндотелия – ВЭФР – при динамическом исследовании применим для прогнозирования развития септических осложнений при ОП: снижение уровня ВЭФР сыворотки крови или отсутствие его повышения сви-

детельствует об утяжелении СВР, неэффективности лечебных мероприятий и имеет неблагоприятное прогностическое значение. Данных о чувствительности и специфичности данной методики не приводится.

В 2014 г. Д.М. Овсяник [39] представил результаты проспективного исследования показателей эндотелиальной дисфункции – количества циркулирующих эндотелиальных клеток и концентрации стабильных продуктов деградации монооксида азота – в крови 92 пациентов с различными формами острого панкреатита. По результатам исследования автор заключил, что при остром панкреатите легкой степени тяжести наблюдается статистически значимое увеличение количества циркулирующих эндотелиальных клеток и уровня нитратов/нитритов в крови в 1,5 раза по сравнению с показателями здоровых лиц ( $p=0,0051$ ;  $p=0,0206$ ). У пациентов с признаками деструкции поджелудочной железы и парапанкреатической клетчатки явления эндотелиальной дисфункции более выражены, однако при стерильном течении заболевания в процессе лечения имели тенденцию к регрессу. При развитии инфекционных осложнений отмечалась отрицательная динамика: рост количества циркулирующих эндотелиальных клеток в крови. Прогностическим критерием инфицирования по данным автора является уровень нитратов/нитритов в первую неделю госпитализации –  $>36$  мкМ/л (чувствительность – 81,8%, специфичность – 60,3%). По данным исследования диагностическим критерием инфицирования зон деструкции является наличие в крови пациента во второй фазе течения заболевания 39 и более циркулирующих эндотелиальных клеток в 100 мкл. плазмы (чувствительность – 84%, специфичность – 86%).

**Клеточные маркеры системной инфекции в диагностике инфекционных осложнений острого панкреатита.** Поверхностные антигены лимфоцитов (Cluster of Differentiation – CD – кластеры дифференцировки) — это молекулы, которые действуют как рецепторы или лиганды, обеспечивая клеточную реакцию в ответ на стимуляцию, например, провоспалительными цитокинами. Из этой группы антигенов наибольший научный интерес в оценке системной инфекции представляет CD64, поскольку является рецепторным гликопротеином поверхности нейтрофилов. Neutrophil CD64 — мембранный белок, гликопротеин, Fc-рецептор к мономерным иммуноглобулинам изотипа IgG с высокой аффинностью. CD64 постоянно представлен только на мембранах макрофагов и моноцитов. CD64 может экспрессироваться на гранулоцитах после их активации цитокинами, такими как интерферон-гамма и гранулоцитарный колониестимулирующий фактор [40, 41]. Появление и увеличение экспрессии CD64 на поверхности нейтрофилов является признаком инфекции и сепсиса, что убедительно показано во многих исследованиях. Мета-анализы по клиническому применению данного маркера продемонстрировали высокие уровни его чувствительности и специфичности – 85 % и 76 % соответственно [41, 42]. В некоторых исследованиях приводятся данные о корреляции CD64-индекса с летальностью больных с инфекцией и сепсисом: высокая степень экспрессии связывается с более высокими

цифрами смертности [43, 44]. Характерной особенностью CD64-индекса нейтрофилов является то, что его появление и нарастание происходит до проявления клинических признаков инфекции [40]. Это может облегчить диагностику инфекционных осложнений острого панкреатита, сделать ее более точной и, что еще важнее, опережающей.

Молекулы главного комплекса гистосовместимости II типа – HLA-DR – другой клеточный маркер системного воспаления, активно изучаемый в последнее время. HLA-DR-рецептор принимает участие в презентации антигенов [45]. Моноциты здоровых людей экспрессируют на своей поверхности молекулы HLA-DR в высокой плотности. Однако моноциты с уменьшенной или отсутствующей экспрессией молекул HLA-DR не могут выполнять свою антигенпредставляющую функцию и не обладают способностью продуцировать воспалительные медиаторы в ответ на соответствующие стимулы. С учетом того, что сепсис с патогенетической точки зрения рассматривается как дисбаланс, а чаще всего угнетение врожденного иммунитета, оценка HLA-DR как маркера иммунодефицита при сепсисе представляет определенный интерес. В исследованиях выявлено, что критическое снижение экспрессии HLA-DR на моноцитах менее 42% является достоверным признаком системной инфекции. Высокий уровень HLA-DR нейтрофилов и низкий уровень HLA-DR моноцитов прежде всего связывают с бактериемией и внеклеточным ацидозом, которые развиваются при различных воспалительных процессах [46]. В работе В.А. Лазанович и соавт. [47] проведен анализ уровня экспрессии HLA-DR на моноцитах периферической крови у септических больных. Выявлена корреляция его низкого уровня на 5 и 10 сут с неблагоприятными исходами заболевания. Это совпадает с ранее опубликованными данными, что уменьшение экспрессии данного маркера на клетках миелоидного ряда у пациентов в критических состояниях (сепсис, травма, послеоперационные состояния, ожоги, панкреатит) является предиктором развития тяжелых вторичных инфекционных осложнений и неблагоприятного исхода септического процесса [46, 48]. В работе J.E. Wu и соавт. [49] не было выявлено различий между выжившими и умершими больными с сепсисом с использованием 30% cut-off критерия экспрессии HLA-DR на моноцитах. Однако они отмечают, что 4,8% дельта уровня HLA-DR в первые 3 суток после поступления позволила прогнозировать летальность с чувствительностью 89% и специфичностью 93,7%. В ретроспективном исследовании H. Trimmel и соавт. [50] не было выявлено конкретного значения экспрессии HLA-DR, коррелирующего с уровнем летальности у септических пациентов. Таким образом, имеющихся в настоящее время данных недостаточно для определения чувствительности и специфичности данной методики.

**Физико-химические методы диагностики острого панкреатита и его инфекционных осложнений.** Рассматривая сепсис с позиций иммунного дисбаланса, интересным представляется оценка активности иммунной системы не по прямым показателям, а че-

рез призму активации тех или иных биохимических процессов иммунокомпетентных клеток. Попытку такой оценки предприняли С.С. Дунаевская и соавт. [51], проведя изучение активации лимфоцитов по уровню продукции ими активных форм кислорода (АФК). Для этого применен метод люминол зависимой хемилюминисценции. В результате выделены 3 типа хемилюминисценции – гипоксический, нормоксический и гипероксический, причем выявлена связь более тяжелого течения заболевания с гипоксическим типом хемилюминисцентного ответа.

Еще более широко активированную хемилюминисценцию для диагностики состояния иммунитета и клеточного энергообмена у больных с абдоминальным сепсисом применили А.А. Савченко и соавт. [52, 53]. По их данным у больных с благоприятным исходом заболевания повышается максимальная интенсивность и снижена величина индекса активации люцигенинзависимой спонтанной хемилюминисценции нейтрофильных гранулоцитов. Независимо от исхода заболевания у больных повышаются индекс активации и максимумы интенсивности люминолзависимой спонтанной и химозаниндуцированной хемилюминисценции. При неблагоприятном исходе заболевания в нейтрофилах повышена активность НАД-зависимой изоцитратдегидрогеназы и анаэробной реакции лактатдегидрогеназы. Вне зависимости от исхода заболевания в нейтрофильных гранулоцитах больных снижена активность аэробной реакции лактатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и НАДФ-зависимой глутаматдегидрогеназы, но повышены уровни активности НАДН-зависимой реакции малатдегидрогеназы, НАДН-зависимой глутаматдегидрогеназы и НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы.

В исследовании Ю.С. Винник и соавт. [54] посвященном этому же вопросу, установлено, что при легкой степени острого панкреатита происходит активация процессов перекисного окисления липидов, о чем свидетельствует увеличение генерации активных форм кислорода. При среднетяжелом остром панкреатите происходили изменения в хемилюминисцентной реакции, характеризующие ее как гипероксическую. Определяли повышение интенсивности хемилюминисценции в 9,51 раза. Тяжелая форма заболевания характеризовалась снижением генерации активных форм кислорода на фоне выраженного эндотоксикоза и характеризовала хемилюминисцентную реакцию как гипоксическую: регистрировалось снижение максимального значения хемилюминисценции в 9,3 раза.

Проведенные исследования подтвердили, что изменения хемилюминисцентной реакции являются дополнительными критериями оценки тяжести острого панкреатита и его инфекционных осложнений. При легком и средне-тяжелом остром панкреатите преобладают процессы гиперпродукции активных форм кислорода. Тяжелый острый панкреатит и развитие панкреатогенной инфекции характеризуются снижением образования активных форм кислорода, что проявляется гипоксическим типом хемилюминисцентной реакции как проявлением угнетения иммунного ответа.

**Бактериологический анализ.** Важным вопросом в диагностике инфекционных осложнений острого панкреатита остается получение результатов бактериологического исследования аспирата, полученного при тонкоигольной пункции. На сегодняшний день тонкоигольная пункция-аспирация жидкостных образований поджелудочной железы и парапанкреатической клетчатки с целью подтверждения инфицирования считается общепринятой методикой в диагностике инфекционных осложнений острого панкреатита. Показанием для процедуры служит основанное на клинических и лабораторных данных подозрение на развитие панкреатической инфекции. Пункцию проводят под УЗИ или КТ контролем с последующим бактериологическим исследованием материала. Признаком инфицирования считается содержание в пунктате 30-40 и выше лейкоцитов в поле зрения, нейтрофилов больше 50%, рост микрофлоры. Чувствительность метода по данным разных авторов составляет 91-96%, специфичность 72-88% [1, 4, 9, 55].

Важно, что в результате пункции появляется возможность не только констатировать факт инфицирования, но и провести полноценное бактериологическое исследование пунктата. Среди недостатков процедуры отмечаются длительность проведения бактериологического исследования, инвазивность процедуры и риск экзогенного инфицирования, риск повреждения внутренних органов и др. [1, 8, 12, 14].

Ускорить получение информации о возбудителе позволяют новые методики бактериологического анализа: real-time ПЦР, газовая хроматография – масс-спектрометрия (ГХ-МС) и MALDI-TOF спектрометрия.

Метод газовой хроматографии – масс-спектрометрии микробных маркеров разработан в России и с 1991 г. широко используется в различных областях медицины, экологии и биотехнологии [56]. В основе метода лежит высокоточное определение молекулярных маркеров микроорганизмов из числа их клеточных липидов – высших жирных кислот, альдегидов, спиртов и стеролов в анализируемой пробе. Метод позволяет одновременно измерять более сотни микробных маркеров непосредственно в анализируемом материале. Материалом может служить любая биологическая жидкость или ткань без предварительного посева на питательных средах. Метод автоматизирован, позволяет определить концентрацию более 50 микроорганизмов в образце уже через три часа после его поступления в лабораторию [57]. Опубликованы ряд исследований по диагностике хирургических инфекций методом ГХ-МС. Исследователи отмечают быстроту, удобство и точность полученных результатов в сравнении с традиционными культуральными методами [58, 59, 60].

MALDI-TOF (от англ. *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization, Time-Of-Flight*) – метод детекции культуры на основе идентификации возбудителя по масс-спектрометрическому (МС) профилю его рибосомальных белков, полученному по технологии матрица-активированной лазерной десорб-

ции/ионизации протеинов образца [40, 61]. МС-идентификация микробов в гемокультурах была успешно апробирована в диагностике бактериемий как у взрослых пациентов, так и у детей [62, 63]. Метод так же полностью автоматизирован, не требует сложной пробоподготовки, в качестве образца используется периферическая кровь. В специализированной литературе метод носит название «протеомная дактилоскопия», так как спектр рибосомальных белков каждого микроорганизма строго индивидуален, подобно отпечаткам пальцев у человека. Субтипирование микроорганизмов происходит по эталонным образцам электронной библиотеки, насчитывающей на данный момент более 6000 видов и постоянно обновляющейся [40, 61, 64, 65]. В работе И.В. Чеботарь и соавт. [62] по выявлению возбудителя в гемокультуре у детей, подозрительных на сепсис, были получены следующие результаты: для грамотрицательных бактерий и грибов результаты идентификации совпадали в 100% случаев. Моногемокультуры с грампозитивными возбудителями демонстрировали неполное (92,6%), но достаточно высокое совпадение (каппа Коэна — 0,89). Таким образом, авторы подтвердили возможность эффективного применения МС-идентификации возбудителей бактериемий, что подтверждается результатами других исследователей [65–67].

Определенный интерес в плане определения состава микрофлоры у больных с инфекционными осложнениями панкреатита представляет метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). В настоящее время предложены различные модификации (ПЦР), позволяющие существенно повысить эффективность анализа. Молекулярно-генетический анализ обладает наибольшей чувствительностью из всех известных методов экспресс-индикации. Применение традиционных флуоресцентных меток для обнаружения биоагентов с помощью ДНК-зондов, как правило, позволяет выявить  $10^2$ – $10^3$  клеток в пробе. Амплификация генетического материала методом ПЦР нуклеиновых кислот снижает этот порог до единичных клеток. Развитие методологии ПЦР в настоящее время рассматривается как одно из важнейших направлений для создания чувствительных и специфичных методов индикации и идентификации возбудителей, не имеющих равных среди методов лабораторной диагностики [40].

В целом, можно заключить, что арсенал методов диагностики тяжести острого панкреатита и его инфекционных осложнений достаточно широк. Некоторые из них уже широко применяются в клинической практике, другие только находятся в стадии разработки и апробации. Применение третьих зависит от наличия редкой дорогостоящей аппаратуры. Все это позволяет вести поиск и разработку универсальной методики или алгоритма диагностики, прогнозирования, оценки тяжести в динамике течения острого панкреатита и его инфекционных осложнений.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 4 – 7, 11, 15 – 18, 20 – 23, 25 – 37, 41 – 44, 46, 48 – 50, 63, 65, 67 – 68 см. REFERENCES)

1. Ермолов А.С., Иванов П.А., Благовестнов Д.А., Гришин А.А. Диагностика и лечение острого панкреатита. М.: ВИДАР; 2013.
2. Савельев В.С., Гельфанд Б.Р., Фидимонов М.И. Деструктивный панкреатит. Доказательные методы диагностики и лечения. Методические рекомендации. М.: РАСХИ; 2008.
3. Зубарев П.Н., Косачев И.Д., Паскарь С.В. Причины летальных исходов при остром деструктивном панкреатите. *Вестник СПбГУ. Сер. 11, медицина.* 2009; 4: 161-8.
8. Недашковский Э.В., ред. Острый панкреатит: руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2009.
9. Ромашенко П.Н., Струков Е.Ю. Острый панкреатит. Аспекты диагностики и лечения. СПб.: ЭЛБИ-СПб; 2013.
10. Овсяник Д.М., Фомин А.В., Становенко В.В. Ранние признаки инфицирования панкреонекроза: *Материалы пленума правления ассоциации гепатопанкреатобилиарных хирургов стран СНГ.* Самара; 2015.
12. Лысенко М.В., Девятов А.С., Урсов С.В., Пасько В.Г., Грицок А.М. Острый панкреатит. Дифференцированная лечебно-диагностическая тактика. М.: Литерра; 2010.
13. Михайлулов С.В., Моисеев Е.В., Смирнова Н.А., Богданова Л.С., Воробьева Е.А., Эштреков М.С. Лабораторная диагностика инфицированного панкреонекроза. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2010; 11: 3-7.
14. Литвин А. А. Инфицированный панкреонекроз. Москва: Интеграция; 2011.
19. Звягин А.А., Демидова В.С., Смирнов Г.В. Биологические маркеры в диагностике и лечении сепсиса. *Раны и раневая инфекция. Журнал им. проф. Б.М. Костюченко.* 2016; 3(3): 19-23.
24. Вельков В.В. Использование биомаркера пресепсин для ранней диагностики сепсиса. *Раны и раневые инфекции. Журнал имени профессора Б.М. Костюченко.* 2015; 2(1): 54-7.
38. Загородских Е.Б., Черкасов В.А., Щёктова А.П. Маркеры эндотелиальной дисфункции и их прогностическое значение при остром панкреатите тяжелого течения. *Медицинские науки. Фундаментальные исследования.* 2013; 9: 355-61.
39. Овсяник Д.М. Диагностика инфицированного панкреонекроза на основании оценки показателей эндотелиальной дисфункции. *Новости хирургии.* 2014; 22(4): 428-35.
40. Иванов А.М., Жданов К.В., Криворучко А.Б., Кузин А.А. Перспективные технологии и исследования в области медицинской лабораторной диагностики. *Военно-медицинский журнал.* 2013; 334(6): 54-7.
45. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010.
47. Лазанович В.А., Маркелова Е.В., Смирнов Г.А., Смолина Т.П. Клиническая значимость экспрессии Toll2, Toll4, CD14, HLA-DR на моноцитах у пациентов с сепсисом. *Медицинская иммунология.* 2015; 17(3): 221-8.
51. Дунаевская С.С., Дябкин Е.В. Активные формы кислорода и хемилюминисценция при остром панкреатите. *Сибирский медицинский журнал.* 2010; 3: 38-40.
52. Савченко А.А., Здзитовецкий Д.Э., Борисов А.Г., Лузан Н.А. Хемилюминисцентная и энзиматическая активность нейтрофильных гранулоцитов у больных распространенным гнойным перитонитом в зависимости от исхода заболевания. *Вестник РАМН.* 2014; 5(6): 23–8.
53. Савченко А.А., Черданцев Д.В., Первова О.В., Гвоздев И.И., Борисов А.Г. Клиническое состояние и хемилюминисцентная активность нейтрофильных гранулоцитов больных распространенным гнойным перитонитом в динамике послеоперационного периода. *Бюллетень сибирской медицины.* 2014; 13(6): 10–9.
54. Винник Ю.С., Дунаевская С.С., Антифриева Д.А. Генерация активных форм кислорода и состояние иммунитета при тяжелом остром панкреатите. *Ургентная медицина: актуальные вопросы и тенденции развития. Материалы международной научно-практической конференции.* Улан-Удэ: БурГУ. 2017; 10-9.
55. Паскарь С.В., Косачев И.Д., Варзин С.А. Эффективность методов ранней диагностики и оптимизация лечебной тактики при

- остром деструктивном панкреатите. *Вестник СПбГУ. Сер. 11, медицина*. 2010; 1: 83-91.
56. Осипов Г.А. Способ определения родового (видового) состава ассоциации микроорганизмов. Патент РФ № 2086642; С12N 1/00, 1/20, С12Q 1/4. Приоритет от 24 дек.1993г.
57. Осипов Г.А., Крымцева Т.А., Осипов Д.Г., Столярова О.Н. Функциональные изменения жирнокислотного состава урогенитальных жидкостей организма человека при дисбиозах. М.: Прометей; 2005.
58. Буткевич А.Ц., Чадаев А.П., Истратов В.Г., Хизриев Э.А. Газовая хроматография в диагностике и прогнозе течения деструктивного панкреатита. *Клиническая медицина*. 2007; 3: 43–6.
59. Гагуа А. К., Иваненков И.М., Терехов А.Н. Применение газожидкостной хроматографии для диагностики анаэробной неклостридиальной инфекции при инфицированном панкреонекрозе. *Вестник Ивановской медицинской академии*. 2014; 19(1): 44-7.
60. Мионов А.Ю. Газовая хроматография и масс-спектрометрия в диагностике анаэробов. *Альманах клинической медицины*. 2012; 26: 45-51.
61. Маянский Н.А., Калакуцкая А.Н., Мотузова О.В., Ломинадзе Г.Г., Крыжановская О.А., Катосова Л.К. MALDI-TOF масс-спектрометрия в рутинной работе микробиологической лаборатории. *Вопросы диагностики в педиатрии*. 2011; 3(5): 20–5.
62. Чеботарь И.В., Пономаренко О.А., Лазарева А.В., Карасева О.В., Горелик А.Л., Бочарова Ю.А. Использование MALDI-TOF-технологии для идентификации возбудителей септических состояний в педиатрической практике. *Клиническая медицина*. 2015; 7(2): 68-74.
64. Ломинадзе Г.Г., Семенова Е.А., Мотузова О.В., Калакуцкая А.Н., Лазарева А.В. Использование метода MALDI-TOF масс-спектрометрии для ускорения идентификации микроорганизмов в гемокультурах пациентов с подозрением на сепсис. *Лабораторная диагностика; Спецвыпуск № 4: «Лаборатория ЛПУ»*. 2014: 17-20.
66. Припутневич Т.В., Мелкумян А.Р., Бурменская О.В., Нешпа О.С., Никитина И.В., Любасовская Л.А. Использование методов MALDI-TOF масс-спектрометрии и количественной ПЦР для быстрой диагностики септических состояний. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2014; 16(1): 4–9.
12. Lysenko M.V., Devyatov A.S., Ursov S.V., Pas'ko V.G., Gricyuk A.M. Acute pancreatitis. Differentiated diagnostic and treatment tactics. Moscow : Literra; 2010. (in Russian)
13. Mihajlusov S.V., Moiseenkova E.V., Smirnova N.A., Bogdanova L.C., Vorob'eva E.A., EHshtrikov M.S. Laboratory diagnosis of infected pancreatic necrosis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2010; 11: 3-7. (in Russian)
14. Litvin A. A. Infected pancreatic necrosis. Moscow : Integratsiya; 2011. (in Russian)
15. Lipman J. An update on C-reactive protein for intensivists. *Anaesth. Intensive Care*. 2009; 37: 234-41.
16. Schuetz P., Balk R, Briel M. Economic evaluation of procalcitonin-guided antibiotic therapy in acute respiratory infections: a US health system perspective. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2015; 53: 583–92.
17. Angeletti S. Ottaviani R., Lanotte M., Pedicino L. Procalcitonin and mid-regional pro-adrenomedullin as promising markers for sepsis diagnosis and prognosis. *APMIS*. 2015; 123(9): 740-8.
18. Jekarl D.W., Kim J.Y., Lee S., Kim M., Kim Y., Han K. Diagnosis and evaluation of severity of sepsis via the use of biomarkers and profiles of 13 cytokines: a multiplex analysis. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2015; 53(4): 575-81.
19. Zvyagin A.A., Demidova V.S., Smirnov G.V. Biological markers in the diagnosis and treatment of sepsis. *Rany i ranevaya infektsiya. Zhurnal imeni prof. B.M. Kostyuchenka*. 2016; 3(3): 19-23. (in Russian)
20. Arai Y., Mizugishi K., Nonomura K., Naitoh K., Takaori-Kondo A., Yamashita K. Phagocytosis by human monocytes is required for the secretion of Presepsin. *J. Infect. Chemother.* 2015; 8: 564-9.
21. Pierrakos C., Vincent J.L. Sepsis biomarkers: a review. *Crit. Care*. 2010; 14(1): 15.
22. Chenevier-Gobeaux C., Borderie D., Weiss N. Presepsin (sCD14-ST), an innate immune response marker in sepsis. *Clin. Chim. Acta*. 2015; 450: 97-103.
23. Shozushima T., Takahashi G., Matsumoto N., Kojika M., Okamura Y., Endo S. 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. *J. Infect. Chemother.* 2011; 17(6): 764–9.
24. Vel'kov V.V. Use of biomarker presepsin for early diagnosis of sepsis. *Rany i ranevye infekcii. Zhurnal imeni professora B.M. Kostyuchyonka*. 2015; 2(1): 54-7. (in Russian)
25. Masson S., Caironi P., Spanuth E., Thomae R., Panigada M., Sangiorgi G. Presepsin (soluble CD14 subtype) and procalcitonin levels for mortality prediction in sepsis: data from the Albumin Italian Outcome Sepsis trial. *Crit. Care*. 2014; 18(1): 6.
26. Chenevier-Gobeaux C., Bardet V., Poupet H. Presepsin (sCD14-ST) secretion and kinetics by peripheral blood mononuclear cells and monocytic THP-1 cell line. *Clin. Chim. Acta*. 2016; 74(1): 93-7.
27. Kojika M., Takahashi G., Matsumoto N. Serum levels of soluble CD14 subtype reflect the APACHE II and SOFA scores. *Med. Postgrad.* 2010; 48: 46-50.
28. Spanuth E., Ebel H., Ivandic B., Werdan K. Diagnostic and prognostic value of presepsin (soluble CD14 subtype) in emergency patients with early sepsis using the new assay PATHFAST Presepsin. 21st International Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. IFCC World Lab. Berlin : *Euro Med Lab*; 2011.
29. Endo S., Suzuki Y., Takahashi G., Shozushima T., Ishikura H., Murai A. Usefulness of presepsin in the diagnosis of sepsis in a multicenter prospective study. *J. Infect. Chemother.* 2012; 18(6): 891–7.
30. Endo S., Takahashi G., Suzuki Y., Shozushima T., Ishikura H., Murai A. Presepsin as a powerful monitoring tool for the prognosis and treatment of sepsis: A multicenter prospective study. *J. Infect. Chemother.* 2013; 1: 34-41.
31. Novelli G., Morabito V., Ferretti G., Pugliese F., Ruberto F., Venuta F. et al. Pathfast Presepsin Assay for Early Diagnosis of Bacterial Infections in Surgical Patients: Preliminary Study. *Transplant Proc.* 2013; 45(7): 2750-3.
32. Takahashi G., Shibata S., Ishikura H. Presepsin in the prognosis of infectious diseases and diagnosis of infectious disseminated intravascular coagulation: A prospective, multicentre, observational study. *Eur. J. Anaesthesiol.* 2015; 32 (3): 199-206.

## REFERENCES

33. Sargentini V., Ceccarelli G., D'Alessandro M. Presepsin as a potential marker for bacterial infection relapse in critical care patients. A preliminary study. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2015; 53(4): 567-73.
34. Andaluz-Ojeda D., Bryant Nguyen H., Meunier-Beillard N. Superior accuracy of mid-regional proadrenomedullin for mortality prediction in sepsis with varying levels of illness severity. *Ann. Intensive Care.* 2017; 7(15).
35. Valenzuela-Sánchez F., Valenzuela-Méndez B., Rodríguez-Gutiérrez J.F., Estella-García Á., González-García M.Á. New role of biomarkers: mid-regional pro-adrenomedullin the biomarker of organ failure. *Ann. Trans. Med.* 2016; 4(17): 329-40.
36. Brenner T., Uhle F., Fleming T. Soluble TREM-1 as a diagnostic and prognostic biomarker in patients with septic shock: an observational clinical study. *Biomarkers.* 2017; 22(1): 63-9.
37. Tammaro A., Derive M., Gibot S. TREM-1 and its potential ligands in non-infectious diseases: from biology to clinical perspectives. *Pharmacol. Ther.* 2017; 177: 81-95.
38. Zagorodskikh E.B., Cherkasov V.A., Shchyokotova A.P. Markers of endothelial dysfunction and their prognostic value in acute pancreatitis of severe course. *Meditsinskie nauki. Fundamental'nye issledovaniya.* 2013; 9: 355-61. (in Russian)
39. Ovsyanik D.M. Diagnosis of infected pancreatic necrosis based on the evaluation of indicators of endothelial dysfunction. *Novosti khirurgii.* 2014; 22(4): 428-35. (in Russian)
40. Ivanov A.M., Zhdanov K.V., Krivoruchko A.B., Kuzin A.A. Promising technologies and research in the field of medical laboratory diagnostics. *Voенно-meditsinskiy zhurnal.* 2013; 334(6): 54-7. (in Russian)
41. Cid J., Aguinaco R., Sánchez R., García-Pardo G., Llorente A. Neutrophil CD64 expression as marker of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. *J. Infect.* 2010; 60(5): 313-9.
42. Wang X., Li Z.Y., Zeng L., Zhang A.Q., Pan W., Gu W. Neutrophil CD64 expression as a diagnostic marker for sepsis in adult patients: a meta-analysis. *Crit. Care.* 2015; 19: 245.
43. Daryapeyma A., Pedersen G., Laxdal E., Corbascio M., Johannessen H. B., Aune S., Jonung T. Neutrophil CD64 as a Marker for Postoperative Infection: A Pilot Study. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2009; 38: 100-3.
44. Hoffmann J.J. Neutrophil CD64 as a sepsis biomarker. *Biochem. Med.* 2011; 21(3): 282-90.
45. Yarin A.A. Immunology. Moscow : GEHOTAR-Media; 2010. (in Russian)
46. Pliyev B.K., Sumarokov A.B., Buriachkovskaia L.I., Menshikov M. Extracellular acidosis promotes neutrophil transdifferentiation to MHC class II-expressing cells. *Cell Immunol.* 2011; 271(2): 214-8.
47. Lazanovich V.A., Markelova E.V., Smirnov G.A., Smolina T.P. Clinical significance of expression of Toll2, Toll4, CD14, HLA-DR on monocytes in patients with sepsis. *Meditsinskaya immunologiya.* 2015; 17(3): 221-8. (in Russian)
48. Lukaszewicz A.C., Faivre V., Payen D. Is monocyte HLA-DR expression monitoring a useful tool to predict the risk of secondary infection. *Minerva Anestesiol.* 2010; 76(9): 737-43.
49. Wu J.F., Ma J., Chen J. Changes of monocyte human leukocyte antigen-DR expression as a reliable predictor of mortality in severe sepsis. *Crit. Care.* 2011; 15(5): 220-6.
50. Trimmel H., Luschin U., Köhrer K., Anzur C., Vevera D., Spittler A. Clinical outcome of critically ill patients cannot be defined by cutoff values of monocyte human leukocyte antigen-DR expression. *Shock.* 2012; 37(2): 140-4.
51. Dunaevskaya S.S., Dyabkin E.V. Reactive oxygen species and chemiluminescence in acute pancreatitis. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal.* 2010; 3: 38-40. (in Russian)
52. Savchenko A.A., Zdzitoveckij D.E.H., Borisov A.G., Luzan N.A. Chemiluminescent and enzymatic activity of neutrophil granulocytes in patients with generalized purulent peritonitis, depending on the outcome of the disease. *Vestnik Rossijskoy akademii meditsinskikh nauk.* 2014; 5(6): 23-28. (in Russian)
53. Savchenko A.A., Cherdancev D.V., Pervova O.V., Gvozdev I.I., Borisov A.G. Clinical status and chemiluminescent activity of neutrophilic granulocytes in patients with common purulent peritonitis in the dynamics of the postoperative period. *Byulleten' sibirskoy meditsiny.* 2014; 13(6): 10-9. (in Russian)
54. Vinnik YU.S., Dunaevskaya S.S., Antyufrieva D.A. The generation of reactive oxygen species and the state of immunity in severe acute pancreatitis. *Urgentnaya meditsina: aktual'nye voprosy i tendentsii razvitiya. Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii.* Ulan-Udeh : BurGU. 2017; 10-9. (in Russian)
55. Paskar' S.V., Kosachev I.D., Varzin S.A. Effectiveness of early diagnostic methods and optimization of treatment tactics in acute destructive pancreatitis. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya II, meditsina.* 2010; 1: 83-91. (in Russian)
56. Osipov G.A. The method for determining the generic (species) composition of the association of microorganisms. Patent RF № 2086642; 1993. (in Russian)
57. Osipov G.A., Krymceva T.A., Osipov D.G., Stolyarova O.N. Functional changes in the fatty acid composition of urogenital body fluids in dysbiosis. Moscow : Prometej; 2005. (in Russian)
58. Butkevich A.C., Chadaev A.P., Istratov V.G., Hizriev E.H.A. Gas chromatography in the diagnosis and prognosis of destructive pancreatitis. *Klinicheskaya meditsina.* 2007; 3: 43-6. (in Russian)
59. Gagau A. K., Ivanenkov I.M., Terekhov A.N. The use of gas-liquid chromatography for the diagnosis of anaerobic non-clostridial infection with infected pancreatic necrosis. *Vestnik Ivanovskoy meditsinskoy akademii.* 2014; 19(1): 44-7. (in Russian)
60. Mironov A.YU. Gas chromatography and mass spectrometry in the diagnosis of anaerobes. *Al'manakh klinicheskoy meditsiny.* 2012; 26: 45-51. (in Russian)
61. Mayanskij N.A., Kalakuckaya A.N., Motuzova O.V., Lominadze G.G., Kryzhanovskaya O.A., Katosova L.K. MALDI-TOF mass spectrometry in the routine work of the microbiological laboratory. *Voprosy diagnostiki v pediatrii.* 2011; 3(5): 20-5. (in Russian)
62. Chebotar' I.V., Ponomarenko O.A., Lazareva A.V., Karaseva O.V., Gorelik A.L., Bocharova YU.A. Using MALDI-TOF-technology for identification of pathogens of septic conditions in pediatric practice. *Klinicheskaya meditsina.* 2015; 7(2): 68-74. (in Russian)
63. Tadros M., Petrich A. Evaluation of MALDI-TOF mass spectrometry and Sepsityper Kit™ for the direct identification of organisms from sterile body fluids in a Canadian Pediatric Hospital. *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.* 2013; 24(4): 191-4.
64. Lominadze G.G., Semenova E.A., Motuzova O.V., Kalakuckaya A.N., Lazareva A.V. Using the MALDI-TOF method of mass spectrometry to accelerate the identification of microorganisms in the blood cultures of patients with suspected sepsis. *Laboratornaya diagnostika; Spetsvyпуск № 4: «Laboratoriya LPU».* 2014: 17-20. (in Russian)
65. Murray P.R. What is new in clinical microbiology-microbial identification by MALDI-TOF mass spectrometry: a paper from the 2011 William Beaumont Hospital Symposium on molecular pathology. *J. Mol. Diagn.* 2012; 14(5): 419-23.
66. Priputnevich T.V., Melkumyan A.R., Burmenskaya O.V., Neshpa O.S., Nikitina I.V., Lyubasovskaya L.A. Using MALDI-TOF methods of mass spectrometry and quantitative PCR for rapid diagnosis of septic conditions. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya.* 2014; 16(1): 4-9. (in Russian)
67. Gray T.J., Thomas L., Olma T., Iredell J., Chen S. Rapid identification of Gram-negative organisms from blood culture bottles using a modified extraction method and MALDI-TOF mass spectrometry. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2013; 77(2): 110-2.
68. La Scola B. Intact cell MALDI-TOF mass spectrometry based approaches for the diagnosis of bloodstream infections. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2011; 11(3): 287-98.