

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
імені М.І. ПИРОГОВА**

**МУРГІНА МАРИНА МИКОЛАЇВНА**

УДК: 616.94-053.2-07

**КЛІНІКО-ДІАГНОСТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ  
СЕПСИСУ У ДІТЕЙ**

**14.01.10 – педіатрія**

**Автореферат  
на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних наук**

**Вінниця 2018**

Дисертація є рукопис.

Робота виконана у Вінницькому національному медичному університеті імені М.І. Пирогова МОЗ України.

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, професор  
**Пипа Лариса Володимирівна**  
Вінницький національний медичний  
університет ім. М.І. Пирогова,  
завідувач кафедри педіатрії, акушерства  
та гінекології ФПО.

**Офіційні опоненти:** член-кореспондент НАМН України,  
доктор медичних наук, професор  
**Шунько Єлизавета Євгеніївна**  
Національна медична академія  
післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика,  
завідувач кафедри неонатології

доктор медичних наук, професор  
**Колоскова Олена Костянтинівна**  
ВДНЗ України,  
«Буковинський державний медичний університет»,  
завідувач кафедри педіатрії та  
дитячих інфекційних хвороб

Захист дисертації відбудеться «14» травня 2018 року о 13.00 годині на засіданні вченої ради Д 05.600.04 при Вінницькому національному медичному університеті імені М.І. Пирогова МОЗ України (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова МОЗ України (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

Автореферат розісланий «13» квітня 2018 року.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради  
доктор медичних наук, професор

Токарчук Н.І.

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**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 (Безруков Л.О., та ін., 2016; Plunkett A., et al., 2015).

Сепсис – це загальноклінічна проблема, при якій має місце висока летальність та значні матеріальні витрати на лікування (Torio C.M., et al., 2015). У останні два десятиліття захворюваність на сепсис зростає (de Souza D.C., et al., 2017).

Ризик розвитку сепсису обернено пропорційний до віку хворих. Найбільша поширеність сепсису відмічена серед новонароджених. У Сполучених Штатах вона становить 10 випадків на 1000 живонароджених (Stocker M., et al., 2017). Сепсис є найбільш поширеною причиною смерті немовлят в усьому світі (Шунько Є.Є., та ін., 2013).

Рівень смертності залежить від географічного регіону – найвища у країнах, що розвиваються (Weiss S.L., et al., 2015). Згідно даних Fran Balamuth та інших (2014), середня вартість лікування однієї дитини віком від 2-х місяців у лікарнях США сягає 78,946 доларів, загальні витрати на лікування сепсису на рік становлять 4,8 мільйонів доларів США. У Європі терапія сепсису оцінюється у 70–90 тис. доларів на одного пацієнта (Faraoni D., et al., 2016.).

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 (Дубров С.О., 2017).

Протягом останніх років багато досліджень присвячено ретроспективній оцінці розповсюдженості сепсису та септичного шоку серед дітей різних вікових груп (Schlarbach L.J., et al., 2015). 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 і 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.

Згідно третього міжнародного консенсусу «Сепсис - 3», присвяченого визначенню понять сепсис та септичний шок, сепсисом вважають наявність синдрому системної запальної відповіді (ССЗВ), доведеної або ймовірної інфекції та поліорганної недостатності (Singer M. et al., 2016).

Визначальним у прогнозі сепсису є рання діагностика до початку розвитку септичного шоку, летальність при якому сягає 40 % (Singer M. et al., 2016). У зв'язку з цим ведеться пошук біомаркерів для ранньої діагностики сепсису.

Визначення алельного поліморфізму певних генів дає 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 септичного шоку та смерті. Дослідження рівнів біомаркерів сепсису сприяє вчасній діагностиці і, відповідно, прийняттю вірних клінічних рішень, служить критерієм якості терапії сепсису та септичного шоку (Stocker M., et al, 2017).

Отже, необхідність пошуку ранніх біохімічних маркерів сепсису 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 ім. 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, 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→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→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. 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: 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.

Уперше 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 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 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 менінгококової 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, біомаркера (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. У навчальний процес кафедри педіатрії ФПО ВНМУ ім. М.І. Пирогова.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертантом особисто здійснено 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 ім. 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 ім. 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 лікувальні заклади України.

**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 наукових фахових 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 використаних літературних джерел та додатків. Дисертація ілюстрована 30 таблицями, 18 рисунками. Бібліографічний показник включає 60 першоджерел вітчизняної та 127 – зарубіжної літератури.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали та методи дослідження.** Для проведення дисертаційного дослідження та вирішення поставлених завдань обстежено 115 дітей віком від одного місяця до 18 років із сепсисом та локалізованими бактеріальними інфекціями, які перебували на лікуванні в реанімаційних відділеннях Хмельницької міської дитячої, Хмельницької обласної дитячої, Хмельницької міської інфекційної лікарень протягом 2009 - 2016 років, та 57 практично здорових дітей.

Основну групу склали 47 дітей із сепсисом, середній вік яких був 7,3 ДІ 95 % [5,5-9,0] років. Діагноз верифікувався за наявності доведеного бактеріального вогнища інфекції, двох та більше ознак ССЗВ (згідно критеріїв, затверджених на міжнародній погоджувальній конференції з питань педіатричного сепсису 2005 р. (IPSSC)), та, враховуючи критерії Сепсис-3, одну або більше з ознак органної дисфункції або ознак септичного шоку.

Група порівняння включала 68 дітей із локалізованою бактеріальною інфекцією без або з наявністю однієї з ознак ССЗВ. Середній вік дітей групи порівняння становив 9,2 ДІ 95 % [8,0-10,4] років.

Контрольна група – 56 дітей, середній вік яких становив - 10,8 ДІ 95 % [9,6-12,0] років.

Групи формували шляхом випадкової вибірки.

Діти основної групи розподілялись на підгрупи в залежності від кількості ознак ССЗВ (2, 3 чи 4) та окремо діти із септичним шоком.

У дітей, включених в групи дослідження, залежно від первинної локалізації бактеріального запалення, діагностовано такі нозологічні форми: черевна порожнина – первинний перитоніт, гангренозний та флегмонозний апендицит; грудна порожнина – 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 – бактеріальний менінгіт, менінгококемія.

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

Комісією з питань етики та біоетики Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова порушень морально-етичних норм при проведенні досліджень не виявлено (протокол № 6 від 15 червня 2017 року).

В ході дослідження використовували наступні методи: клінічний (вивчення скарг, анамнезу захворювання, анамнезу життя, даних об'єктивного дослідження) комплекс лабораторних досліджень (загально-клінічні, біохімічні, бактеріологічні). Для реалізації поставлених завдань застосовували кількісне визначення рівня С-реактивного білка, прокальцитоніну, TNF- $\alpha$  та пресепсину. Дітям основної та групи порівняння проводили генетичне дослідження для визначення поліморфізму промоторної ділянки гена TNF- $\alpha$  в точці 308.

Основними матеріалами для дослідження були сироватка крові дітей, цільна кров. Для бактеріологічного обстеження використовували кров, вміст поверхні рани, ліквор, плевральну рідину. Обстеження всіх дітей проводили при поступленні або при появі ознак генералізації інфекційного процесу.

Рівень ПКТ сироватки крові визначався за допомогою кількісного імуноферментного аналізу (ІФА) RayBio Human Procalcitonin ELISA (RayBiotech, Inc. США) на аналізаторі “Stat Fax 303 Plus”, який є відкритою системою. Кількісне визначення пресепсину проводилось на автоматичному імунохемілюмінесцентному аналізаторі PATHFAST за допомогою PATHFAST Presepsin (LSI Medience Corporation.). Кількісне визначення TNF- $\alpha$  проводили за допомогою імуноферментного аналізу із застосуванням реактивів компанії Ордженіум Лабораторіз (Human TNF- $\alpha$  ELISA Kit, Фінляндія) на аналізаторі “Stat Fax 303 Plus”. Одноалельний поліморфізм досліджувався в промоторній ділянці гена 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 DIAtom™ DNA Prep100. Промоторні ділянки гена 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) піддавалися рестрикції за допомогою ендонуклеази Styl. 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 гена 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. У всіх випадках розбіжності вважали статистично значимими при  $p < 0,05$ .

Отриманий цифровий матеріал було оброблено на персональному комп'ютері Pentium у рамках статистичних пакетів Microsoft Excel- 2010; Statistica 6,0; графічні 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 ступеня взаємозв'язку і залежності між показниками проводився кореляційний аналіз за допомогою критерію рангової кореляції Спірмена.

Для оцінки діагностичної значимості біомаркерів з метою діагностики сепсису використовували визначення чутливості, специфічності та позитивної або негативної прогностичної цінності. Оцінку впливу факторних ознак проводили за показником відношення шансів та розрахунком відносного ризику із визначенням їх довірчого інтервалу 95%.

**Результати досліджень та обговорення.** Обстежених дітей було поділено, згідно рекомендацій IPSSC, на 4 вікових категорії: від одного місяця до одного року, 2-5 років, 6-12 років та 13-18 років. У дітей до 1 року відносний ризик розвитку сепсису був найвищий та складав 1,92 ДІ 95 % [1,24 - 2,94], та найнижчий у дітей віком 6-12 років – 0,49 ДІ 95 % [0,27-0,87].

У ході дослідження було виявлено що майже з однаковою частотою первинне вогнище бактеріальної інфекції при сепсисі локалізувалось в кістково-м'язовій системі (29,8%) та ЦНС (25,5%), в 19,2% випадків інфекція локалізувалась в ЛОР-органах та в 17,0% - в грудній порожнині і лише в 8,5% випадків вогнище інфекції знаходилось у черевній порожнині, в той час як в групі порівняння більше, ніж у половини дітей (63,3%) було зареєстровано бактеріальну інфекцію в черевній порожнині і практично не зустрічалась в ЦНС (1,5%).

Найбільший ризик розвитку сепсису спостерігається при локалізації первинного вогнища інфекції в ЛОР-органах (ВШ – 2,98 ДІ 95 % [2,37-3,74]), грудній порожнині (ВШ – 2,58 ДІ 95 % [1,41-4,71]), а при локалізації первинного вогнища у черевній порожнині ризик виникнення сепсису дорівнює майже нулю (ВШ – 0,05 ДІ 95 % [0,02-0,14]). У 25% дітей із септичним шоком первинне вогнище інфекції локалізувалось у ЛОР-органах. Зовсім не спостерігався септичний шок при інфекції, локалізованій у черевній порожнині, та лише в 12,5% - при локалізації в грудній порожнині, різниця статистично значима ( $p < 0,05$ ).

Діти основної групи із локалізацією вогнища в грудній порожнині найдовше перебували у ВАІТ (20,1 $\pm$ 3,3 дні), в той час як діти із локалізацією первинного вогнища в ЦНС, найменше (6,1 $\pm$ 1,1 дні), ( $p < 0,05$ ).

При бактеріологічному дослідженні етіологічний чинник при сепсисі був виявлений в 51% дітей, що відповідає даним літератури (Plunkett A., Tong J., 2015). В 66,6% дітей основної групи етіологічний чинник був представлений Гр(+) флорою, зокрема *St. aureus*, *Str. Pneumoniae*. Грам(-) флори при сепсисі була представлена: *Pseudomonas aurogenosa* (12,5%), *N. Meningitides* (16,7%), *Enterobacter* (4,2%).

Середній термін перебування дітей основної групи у відділенні реанімації та інтенсивної терапії (13,1 ДІ 95 % [9,16-17] днів) був в 2,5 рази довшим, у співставленні із групою порівняння (5,14 ДІ 95 % [4,42-5,87] днів), різниця статистично значима ( $p < 0,01$ ). Термін перебування у ВАІТ у дітей основної групи збільшувався при наростанні важкості стану та був статистично значимо довшим при наявності чотирьох ознак ССЗВ (15,00 ДІ 95 % [6,68-23,31] дні) та септичному шоці (24,36 ДІ 95 % [13,50-35,00] днів), у порівнянні з дітьми, в яких було діагностовано дві (6,38 ДІ 95 % [3,70-9,07] днів) та три ознаки ССЗВ (8,86 ДІ 95 % [5,37-12,34] днів) ( $p < 0,05$ ).

Рівень гіпертермії, частоти серцевих скорочень, частоти дихання був статистично значимо вищим у дітей із сепсисом, ніж у дітей із локалізованою бактеріальною інфекцією ( $p < 0,05$ ). Лихоманка у дітей основної групи тривала в 2,7 рази ( $p < 0,05$ ), тахікардія - в 3 рази ( $p < 0,01$ ), а задишка - в 3,4 рази ( $p < 0,05$ ) довше, ніж у дітей групи порівняння. У підгрупах дітей основної групи рівні ознак ССЗВ (гіпертермія, ЧСС, ЧД) тривали статистично значимо довше в осіб із септичним шоком, в порівнянні із дітьми із двома ознаками ССЗВ ( $p < 0,05$ ), між іншими підгрупами статистично значимої різниці не виявлено ( $p > 0,05$ ), хоча тривалість зростала із зростанням важкості стану.

Респіраторну підтримку потребували 19 дітей (40%) із сепсисом. В основній групі, в залежності від кількості ознак ССЗВ та наявності септичного шоку, оксигенотерапія проводилась у однієї дитини (7,6 %) із двома ознаками ССЗВ, у двох (14,3 %) дітей із трьома ознаками ССЗВ, у однієї дитини (25,0 %) – з чотирма ознаками ССЗВ та в 15 (93,8 %) дітей із септичним шоком. У більшій половині (56,3%) дітей із проявами септичного шоку проводилась респіраторна підтримка шляхом ШВЛ. Рівень сатурації у дітей із септичним шоком був статистично значимо нижчим (92,3% ДІ 95 % [20,0-94,6]), ніж у дітей із двома ознаками ССЗВ (95,7 ДІ 95 % [93,4 – 97,9]) ( $p < 0,05$ ). У залежності від локалізації первинного вогнища інфекції у дітей із сепсисом потреба в оксигенотерапії була наступна: при інфекції грудної порожнини, ЦНС потребували кисневої терапії половина дітей та 35,7% і 44,4% дітей із інфекцією в кістково-м'язовій системі та ЛОР-органах, відповідно. Діти із локалізацією первинного вогнища в черевній порожнині взагалі не 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 жодній дитини не спостерігався акроціаноз, симптом «білої плями» був подовжений у всіх дітей і 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 половині 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

зі септичним шоком мали місце всі симптоми гемодинамічних та мікроциркуляторних порушень, зокрема, мармуровість тривала, в середньому, 5,18 дні, акроціаноз – 4,50 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 зі септичним шоком спостерігалось зниження систолічного артеріального тиску і вони потребували призначення дофаміну в дозі 10 мкг/кг/хв., середня тривалість використання якого становила 4,6 дн ДІ 95 % [1,8-7,3]. Окрім того у 43,75 % дітей спостерігались периферичні набряки, в 62,50 % мала місце олігурія.

Ми проаналізували наявність мікроциркуляторних розладів у дітей в залежності від локалізації первинного вогнища інфекції, що відображено на рисунку 1.

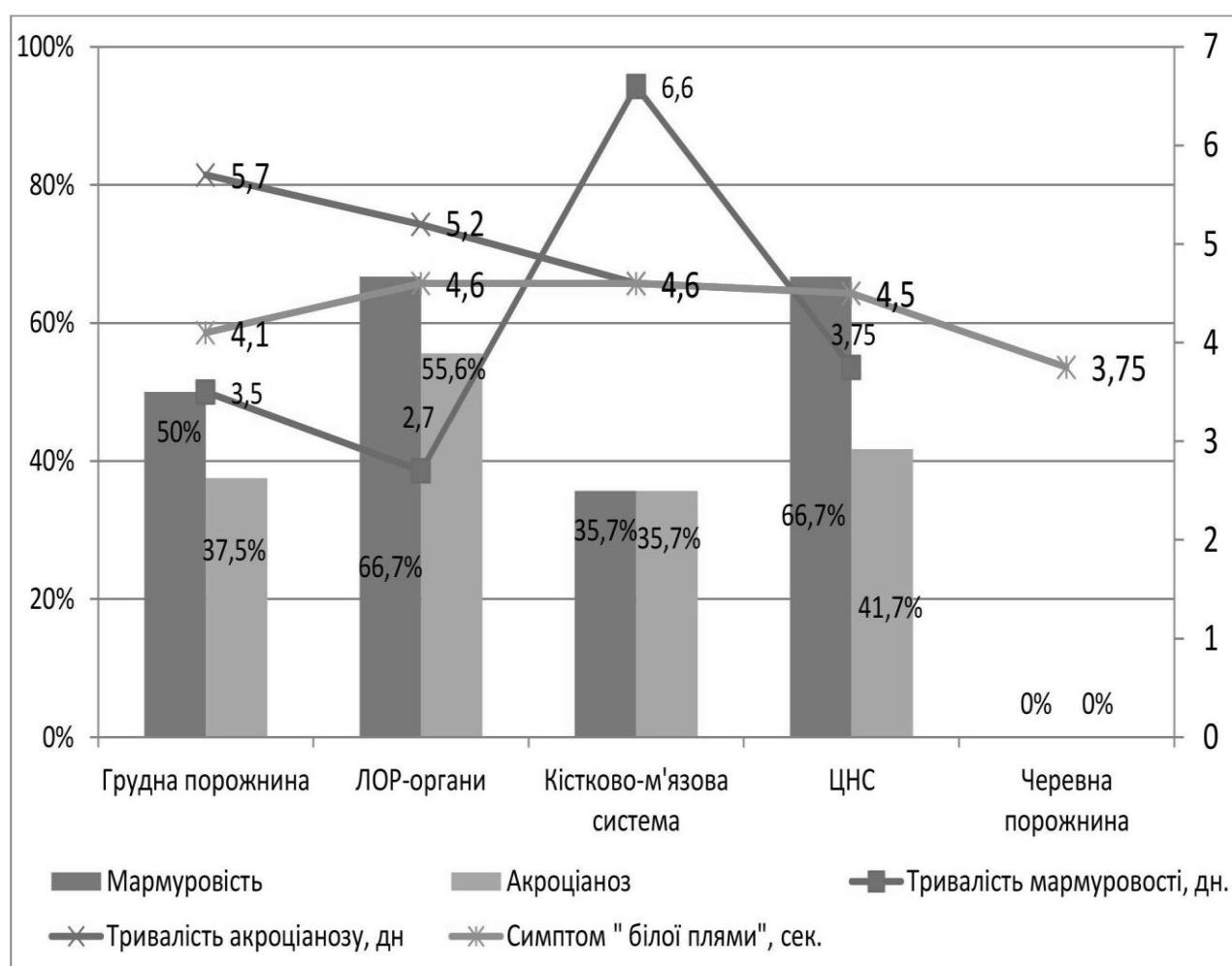


Рис. 1 Вираженість та тривалість мікроциркуляторних порушень у дітей основної групи в залежності від локалізації первинного вогнища інфекції.

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 сек 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 сек ДІ 95 % [4,2-4,9] та був статистично значимо довший, в порівнянні із дітьми з інфекцією черевної порожнини – 3,75 сек ДІ 95 % [2,90-4,50] ( $p < 0,05$ ).

Інотропної підтримки найбільше потребували діти із первинним вогнищем у ЛОР-органах – 44,4 % випадків, зовсім не потребували діти із локалізацією первинного вогнища в черевній порожнині. В 41,7 %, 35,7 % та 25,0 % діти потребували інотропної підтримки при локалізації первинного вогнища в ЦНС, кістково-м'язовій системі та грудній порожнині, відповідно. Середня тривалість інотропної 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 не спостерігали ( $p > 0,05$ ).

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 4-х випадках, в групі порівняння - в однієї дитини. Лейкоцитоз спостерігався у 73% (50) дітей групи порівняння та у 97,8% (46) дітей основної групи.

У дітей основної групи лейкоцитоз складав  $24,2 \times 10^9/\text{л}$  ДІ 95% [22,1-27,1] і тривалість його була в 2,6 рази довша, ніж у дітей групи порівняння, рівень лейкоцитозу у яких був 17,1 ДІ 95% [15,2-18,8] ( $p < 0,01$ ).

Середні показники рівня лейкоцитозу у дітей в підгрупах основної групи практично не відрізнялись при наявності трьох, чотирьох ознак ССЗВ та септичному шоці, статистично значима різниця відмічалась лише у дітей із підгрупи із двома ознаками ССЗВ ( $p < 0,05$ ), 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 трьома 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 складала 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).

З боку червоної крові у 36 дітей основній групі спостерігалась анемія, що становить 76,6 %. У той час як в групі порівняння анемічний синдром відмічався в 3,7 рази рідше - у 14 дітей, що становило 20,6 %. Слід зазначити, що в групі порівняння в 11 дітей (78,6 %) анемія була легкого ступеню і лише в трьох дітей (21,4 %) вона була із 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 ніж у дітей 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 ( $p=0,35$ ).

Тромбopenія 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. В 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 %) дітей із локалізованою бактеріальною інфекцією спостерігалась помірна гіпопротеїнемія. В таблиці 1 представлені дані про відхилення біохімічних показників у дітей основної групи, що було критеріями органної дисфункції.

Таблиця 1

## 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.

Концентрація СРБ у дітей із сепсисом сягала 44,7 мг/л ДІ 95 % [35,0 -54,3]. У дітей з локалізованою бактеріальною інфекцією – 28,3 мг/л ДІ 95 % [22,4-34,2] ( $p<0,01$ ).

Із зростанням важкості стану зростає концентрація СРБ в сироватці крові дітей із сепсисом, і сягав у дітей із двома ознаками ССЗВ (n-13) - 23,5 мг/л ДІ 95% [9,5-37,5], з трьома ознаками ССЗВ (n-14) - 47,6 мг/л ДІ 95% [27,8-67,3], зі 4 ССЗВ (n-4) – 54 мг/л ДІ 95% [5,9-102], із септичним шоком (n-16) – 57 мг/л ДІ 95% [39,1-74,8], тобто, із зростанням важкості стану зростає концентрація СРБ в сироватці крові дітей із сепсисом, але статистично значима різниця відмічається лише у порівнянні з дітьми, в яких діагностували лише 2 ознаки ССЗВ ( $p<0,05$ ).

Нами визначена чутливість та специфічність СРБ у дітей основної групи і групи порівняння: чутливість становить 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 не інфекційного запального процесу, а також сепсису та локалізованого бактеріального запалення.

Середній рівень TNF- $\alpha$  у дітей основної групи був 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, у 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 практично здоровими дітьми. 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 із септичним шоком рівень TNF- $\alpha$  був найнижчим, що можна пояснити розвитком «паралічу імунної системи» при даній стадії.

Чутливість TNF- $\alpha$  низька в обох групах (44% та 61% для діагностики локалізованої бактеріальної інфекції та сепсису, відповідно). Це пояснюється зниженням його вмісту у дітей із септичним шоком, що не дозволяє з впевненістю діагностувати сепсис чи локалізовану бактеріальну інфекцію за допомогою рівня 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.

В основній групі середній рівень ПКТ був 4,06 нг/мл ДІ 95% [2,34-5,69], а в групі порівняння – 0,86 нг/мл ДІ 95% [0,77- 1,03], в групі контролю - 0,024 нг/мл ДІ 95% [0,02-0,03], між групами різниця була статистично значима ( $p < 0,01$ )

За референтні значення для розрахунку брали загальноприйняті показники – 0,5-2 нг/мл, які свідчать про локалізовану бактеріальну інфекцію, вище 2 нг/мл – про сепсис.

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

У результаті дослідження рівня пресепсину було отримано такі результати: в основній групі (n-16) його рівень сягав 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 також статистично відрізнялось від медіани групи порівняння ( $p < 0,05$ ): U-критерій Манна-Уїтні – 15 при критичному значенні 112.

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

При визначенні кореляційних зв'язків було виявлено, що найбільш тісний 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. Для TNF- $\alpha$  статистично значимого рівня кореляції не відмічалось, але тенденція була до зворотного кореляційного зв'язку слабкого ступеня ( $R = - 0,24$   $p > 0,05$ ), що і підтверджувалось показниками середніх величин в підгрупах основної групи, тобто із зростанням кількості ознак ССЗВ та наявності септичного шоку рівень TNF- $\alpha$  знижувався.

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 2.

Таблиця 2

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 не високі, 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. В той час, як 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 найшвидше реагує на зміну важкості перебігу сепсису і може слугувати надійним маркером для діагностики септичного шоку, з меншою надійністю з цією метою можна використовувати рівень ПКТ. Слід 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 (рисунок 2).

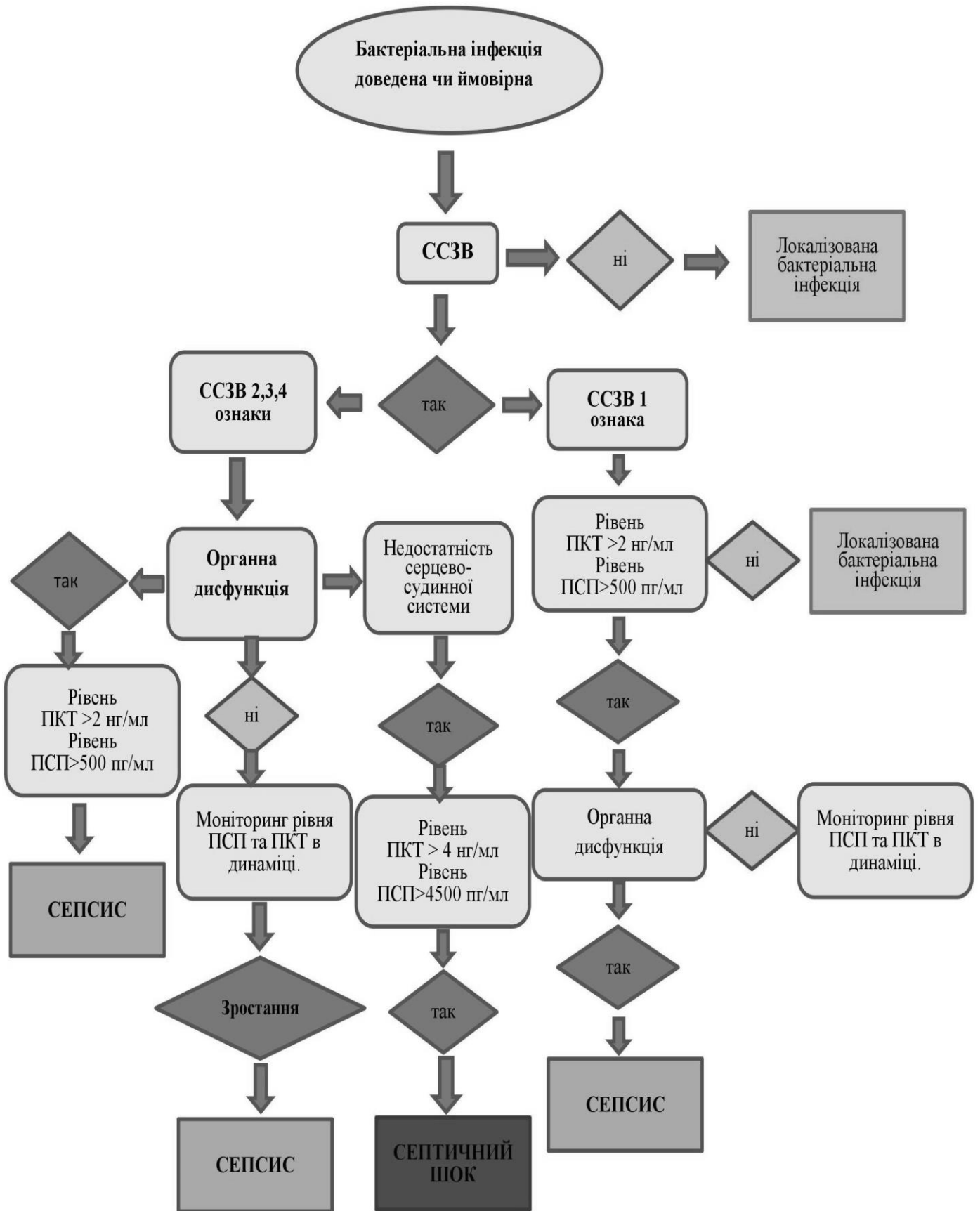


Рис. 2 Алгоритм диференційної діагностики сепсису та локалізованої бактеріальної інфекції у дітей.



При генетичному обстеженні в основній групі у 13 дітей (46,4%) було виявлено мутований варіант алеля та в 15 дітей (53,6%) - дикий. В групі порівняння мутований варіант було виявлено лише у 4-х дітей, що складало 14,8%, всі інші діти 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 рази частіше. Розрахувавши точний критерій Фішера для даних виборок, можна зробити висновок, що наявність мутованого алеля є предиктором розвитку сепсису ( $p = 0.006$ ). Відношення шансів (ВШ) виявило, що у дітей із наявністю аденіну в точці -308 в 5 разів (ДІ 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).

У всіх 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 гена, що кодує синтез TNF- $\alpha$  в точці -308, був наступним: 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 ( $r = 0,66$ ,  $p = 0,0002$ ).

## 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 СІ 95 % [2,37-3,74]), грудній порожнині (OR – 2,58, S – 0,31 СІ 95 % [1,41-4,71]) та ЦНС (OR – 2,20 S – 0,31 СІ 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 ( $20,1 \pm 3,27$  дні) та ЛОР-органах ( $18,6 \pm 5,4$  дні). 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 разів, 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. Найбільш тісний 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- 1,030 нг/мл, при сепсисі – більше 2 нг/мл (OR – 5,3 S-0,27 CI 95 % 3,45-8,16), рівень пресепсину становив, відповідно, 200-450 пг/мл та вище 500 пг/мл (OR – 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. В 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 в 2 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 відображує 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 РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

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 (*Дисертантом особисто проведено аналіз джерел літератури, аналіз даних, підготовка до друку*).

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. (*Дисертантом особисто проведено аналіз джерел літератури, проведено збір матеріалу, аналіз даних, узагальнення висновків, підготовка до друку*).

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. (*Дисертантом особисто проведено аналіз джерел літератури, проведено збір матеріалу, аналіз даних, узагальнення висновків, підготовка до друку*).

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. (*Дисертантом особисто проведено аналіз джерел літератури, проведено збір матеріалу, аналіз даних, узагальнення висновків, підготовка до друку*).

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

6. Pupa 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. (*Дисертантом особисто проведено аналіз джерел літератури, проведено збір матеріалу, аналіз даних, узагальнення висновків, підготовка до друку*).

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.

*(Дисертантом особисто здійснено підбір літературних джерел, аналіз прототипів та аналогів патенту, проведений збір та статистична обробка даних).*

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 тану у дітей. № u 2016 10031; заявл. 03.10.2016; опубліковано 10.03.2017, Бюл. № 5. *(Дисертантом особисто здійснено підбір літературних джерел, аналіз прототипів та аналогів патенту, проведений збір та статистична обробка даних).*

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». *(Дисертантом особисто здійснено підбір літературних джерел, аналіз прототипів та аналогів патенту, проведений збір та статистична обробка даних).*

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. *(Дисертантом особисто проведено аналіз джерел літератури, аналіз даних, підготовка до друку.)*

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. *(Дисертантом особисто проведено аналіз джерел літератури, аналіз даних, підготовка до друку).*

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. *(Дисертантом особисто проведено аналіз джерел літератури, аналіз даних, підготовка до друку).*

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. *(Дисертантом особисто проведено аналіз джерел літератури, збір матеріалу, аналіз даних, підготовка до друку).*

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. *(Дисертантом особисто проведено аналіз джерел літератури, збір матеріалу, аналіз даних, підготовка до друку).*

15. Мургіна М.Н., Борисенко Т.Д. Пресепсин - біомаркер ранньої діагностики сепсису у дітей. Мат. VIII Съезда врачей клиничко-лабораторной службы Министерства здравоохранения Республики Беларусь: Тез. доп. Минск. 2016. С.128-129. *(Дисертантом особисто проведено аналіз джерел літератури, проведено збір матеріалу, аналіз даних, статистичну обробку матеріалів, узагальнення висновків, підготовка до друку).*

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. *(Дисертантом особисто проведено аналіз джерел літератури, проведено збір*

*матеріалу, аналіз даних, статистичну обробку матеріалів, узагальнення висновків, підготовка до друку).*

## АНОТАЦІЯ

**Мургіна М.М. Клініко-діагностичні особливості перебігу сепсису у дітей.** – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.10 – педіатрія. – Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2018.

Дисертаційна робота присвячена вивченню клінічних особливостей перебігу, діагностичній цінності біомаркерів для діагностики сепсису та визначенню генетичних предикторів розвитку останнього у дітей віком від 1 місяця до 18 років. Поставлена мета досягнута шляхом визначення діагностичної цінності рівня СРБ, TNF- $\alpha$ , ПКТ і ПСП та ролі одноалельної мутації гена TNF- $\alpha$  в точці 308. Рівень ПСП та ПКТ корелює із важкістю перебігу сепсису, що дозволяє використовувати їх для оцінки важкості стану. Було доведено, що найбільшою чутливістю та специфічністю для діагностики розвитку бактеріальної інфекції та сепсису володіє саме ПСП, що обґрунтовує використання його рівня для ранньої діагностики генералізації бактеріальної інфекції.

Заміщення гуаніну на аланін в точці 308 гену TNF- $\alpha$  в 5 разів підвищує ризик розвитку сепсису у дітей та із статистично значимою різницею підвищує рівень синтезу TNF- $\alpha$ , що патогенетично пояснює причину розвитку генетичної схильності до розвитку сепсису при даній мутації у дітей.

**Ключові слова:** сепсис, діагностика, діти, біомаркери, пресепсин, прокальцитонін, TNF- $\alpha$ , СРБ, однонуклеотидний поліморфізм.

## АННОТАЦИЯ

**Мургина М.Н. Клинико-диагностические особенности течения сепсиса у детей.** – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.10 – «Педиатрия». – Винницкий национальный университет им. Н.И. Пирогова МЗ Украины, Винница, 2018.

Диссертационная работа посвящена изучению клинических особенностей течения, диагностической ценности биомаркеров для диагностики сепсиса и изучению генетических предикторов развития последнего у детей в возрасте от 1 месяца до 18 лет. Поставленная цель достигалась путем определения диагностической ценности уровней СРБ, TNF- $\alpha$ , ПКТ, ПСП и роли одноаллельной мутации гена TNF- $\alpha$  в точке 308. Уровень ПКТ и ПСП коррелирует с тяжестью течения сепсиса, что позволяет использовать их для оценки тяжести состояния. Было доказано, что наибольшей чувствительностью и специфичностью для диагностики развития бактериальной инфекции и сепсиса владеет именно ПСП, что обосновывает использование его для ранней диагностики генерализации бактериальной инфекции.

Замена гуанина на аланин в точке 308 гена TNF- $\alpha$  в 5 раз повышает риск развития сепсиса у детей и с статистически значимой разницей повышает уровень синтеза TNF- $\alpha$ , что патогенетически объясняет причину развития генетической склонности к развитию сепсиса у детей при данной мутации.

**Ключевые слова:** сепсис, диагностика, дети, биомаркеры, пресепсин, прокальцитонин, TNF- $\alpha$ , однонуклеотидный полиморфизм.

## SUMMARY

**Murhina M.M. Clinical and diagnostic features of the course of sepsis in children.– Manuscripts.**

Dissertation for the degree of candidate of medical science, specialty 14.01.10 «Pediatrics» – Vinnitsa National Pirogov Memorial Medical University, Ministry of Health Care of Ukraine, Vinnitsa, 2018.

The thesis is devoted to the study of clinical features of the course, the diagnostic value of biomarkers for the diagnosis of sepsis and the determination of genetic predictors of the latter in children aged 1 month to 18 years. The goal was studied by determining the diagnostic value of the levels of CRP, TNF- $\alpha$ , procalcitonin, presepsin and the role of the single-site mutation of the promoter site of the TNF- $\alpha$  gene at point 308. We carried out a bacteriological study of various biological fluids (blood, liquor and 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 Gram (+) microorganisms were the cause of the infection. 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- $\alpha$ , PCT 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 replacement of guanine by alanine in the promoter site of the TNF- $\alpha$  gene at the 308 point increases the risk of sepsis in children at 5 times. We found that the substitution of guanine for alanine increases the level of synthesis of TNF- $\alpha$ : in children with genotype 308 G / G, its level was 201.9 pg / ml [CI 95% 168.6-235.2 pg / ml], with the allele variant at the 308 G / A point was 460.6 pg / ml [95% 379.2-541.9 pg / ml], the difference was statistically significant ( $p < 0.001$ ), and between these indicators there is a direct medium-strength correlation link ( $r=0,66$ ,  $p = 0,0002$ ), which explains the pathogenetic cause of the development of genetic predisposition for the development of sepsis in this mutation in children.

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

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

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



---

Підписано до друку 10.04.2018 р. Замовлення № 189.  
Формат 60x90 1/16 Ум. друк. арк. 0,8 Друк офсетний.  
Наклад 100 примірників.

---

Вінниця. Друкарня ВНМУ імені М.І. Пирогова, вул.. Пирогова, 56