

Кучеров Ю.И., Жиркова Ю.В., Чеботаева Л.И., Шишкина Т.Н.

ЛАБОРАТОРНЫЕ МАРКЕРЫ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ НЕОНАТАЛЬНОГО СЕПСИСА

ФГБНУ Научный центр здоровья детей, 119991, Москва, Россия

Сепсис у новорожденных по-прежнему остается трудной задачей для клиницистов, в данной статье приведен обзор литературы о ранней лабораторной диагностике неонатального сепсиса. Рассматриваются последние данные по известным уже методикам диагностики сепсиса у новорожденных – результатам общего анализа крови, острофазовых показателей, цитокиновых маркеров, их преимущества и недостатки, а также статистическая значимость, данные различных метаанализов и крупных многоцентровых исследований в различных странах. Даются сведения о новейших мировых методиках диагностики сепсиса, таких как плазменный амилоид А, гаптоглобин, DAMP молекулы, поверхностные клеточные маркеры – CD64, CD11b, интер-α ингибирующие протеины. Приводятся сведения о комплексной оценке и анализе геномных данных, протеомного профайла, техники на основе нуклеиновых кислот. Рассматриваются данные по различным лабораторным маркерам раннего и позднего сепсиса новорожденных и их статистическая ценность – чувствительность, специфичность, прогностическая ценность положительного и отрицательного результата.

Ключевые слова: сепсис; новорожденные; диагностика сепсиса; лабораторные маркеры сепсиса.

Для цитирования: *Anestезиология и реаниматология.* 2015; 60 (3): 11-15.

LABORATORY MARKERS FOR EARLY DIAGNOSIS OF NEONATAL SEPSIS

Kucherov Y.I., Zhirkova Y.V., Chebotaeva L.I., Shishkina T.V.

Scientific Center of Children's Health, 119991, Moscow, Russian Federation

Sepsis in neonates still remains difficult issue for clinicians. This review observes literature data about early laboratory diagnosis of neonatal sepsis. The paper considers the latest information about well-known methods of sepsis diagnosis in neonates such as complete blood count, acute phase reactants, cytokine markers, their advantages and disadvantages, as well as statistical value based on different meta-analysis and large multicenter investigations in many countries. We notified the newest methods in sepsis diagnosis such as plasma amyloid A, DAMP molecules, cell surface markers CD64, CD11b, and inter-α inhibitor proteins. The review informs about analysis of genomic and proteomic profile, nucleic acids tools. This data considering for early and late neonatal sepsis and their statistical values: sensitivity, specificity, positive and negative predictive value.

Key words: sepsis, newborns, sepsis diagnosis, laboratory markers of sepsis.

Citation: *Anestезиологиya i reanimatologiya.* 2015; 60 (3): 11-15. (in Russ.)

Сепсис является одной из главных причин заболеваемости и смертности у новорожденных, госпитализированных в отделения интенсивной терапии, в особенности среди глубоко недоношенных и детей с хирургической патологией, а также с заболеваниями, требующими длительной госпитализации. Согласно данным Национального института развития и здоровья детей в США заболеваемость сепсисом составляет 2 на 1000 живорожденных новорожденных. Смертность среди детей с очень низкой массой тела (ОНМТ) в среднем составляет 10%, но в зависимости от патогена может достигать 40%. Среди доношенных уровень смертности от раннего неонатального сепсиса (РНС) варьирует от 4 до 11% [1]. РНС встречается у 1% детей с ОНМТ и экстремально низкой массой тела (ЭНМТ). Частота позднего неонатального сепсиса (ПНС) увеличивается до 12,21% со смертностью до 15% (по сравнению со средним уровнем для РНС – 8,5%) и наибольшей частотой заболеваемости среди детей с гестационным возрастом 26,6–27,6 нед [2]. Раннее выявление и диагностика сепсиса у новорожденных по-прежнему остается трудной задачей в неонатальных ОИТ. Клинические проявления неспецифичны, поэтому большое число исследований направлено на поиск идеального метода ранней диагностики сепсиса у данной группы пациентов. Идеальным считается метод с высокой чувствитель-

ностью, специфичностью, прогностической ценностью отрицательного (ПЦОР) и положительного результата (ПЦПР), рано появляющийся и сохраняющийся достаточный промежуток времени. Несмотря на многолетний поиск, до сих пор не найдено идеального метода, отвечающего всем критериям.

Посевы крови принятые за «золотой стандарт» в лабораторной диагностике сепсиса, часто дают ложноотрицательный результат, частота положительных результатов варьирует от 8 до 73%. Низкая плотность микроорганизмов, интермиттирующая бактериемия, малые объемы крови, антибактериальная терапия на фоне взятия образцов могут снижать диагностическую значимость исследования [3, 4]. В дополнение к ограниченной чувствительности посевов крови этот метод требует времени. Большинство лабораторий дают развернутый ответ через 5–7 дней, наиболее клинически значимые бактерии определяются до 48 ч.

Общий анализ крови (ОАК) рекомендован в качестве обязательного исследования у детей с высоким риском инфекции. Однако нет четких протоколов, как оценивать результаты ОАК и предполагать вероятность инфекции. По данным различных исследований границы нормы широко варьируют. Показатели включают общее число лейкоцитов (ОЧЛ), абсолютное число нейтрофилов (АЧН) и отношение незрелых форм к ОЧН (Н/О), незрелых форм к зрелым нейтрофилам (Н/З) [5, 6]. На ОЧЛ и формулу крови влияют, помимо инфекции, возраст ребенка в часах, метод взятия крови, способ родоразрешения, наличие гипертензии у матери и пол ребенка. В исследовании Newman и соавт. [7] на выборке более 67 тыс. новорожден-

Информация для контакта:

Чеботаева Лидия Игоревна

Correspondence to:

Chebotaeva Lidiya; e-mail: chebotaeva.l.i@gmail.com

денных за период 12 лет было показано, что среди детей с инфекцией среднее ОЧЛ было ниже на 29%, среднее ОЧН ниже на 39% и отношение Н/О было выше на 133%, число тромбоцитов не изменялось. Авторы делают выводы, что через 4 ч жизни значительно отличается формула крови у инфицированных и здоровых детей. Целесообразнее не дихотомически оценивать результаты ОАК, а ориентироваться на возрастные изменения нормы [7]. Похожие данные были получены в другом исследовании, где использовалась балльная оценка показателей ОАК (ОЧЛ, ОЧН, Н/О, Н/З, тромбоциты). Баллы ≤ 2 рассматривались как низкая вероятность сепсиса, 3–4 балла – возможный риск инфекции, ≥ 5 баллов – сепсис или высокий риск инфекции. Статистически достоверным и наиболее чувствительным индикатором сепсиса было число незрелых форм нейтрофилов, отношения Н/З (93%) и Н/ОЧЛ – наиболее специфичным (97%). При этом большая чувствительность (92%) и специфичность (86%) балльной оценки наблюдалась среди недоношенных, а также отмечалось, что с ростом баллов (≤ 5) увеличивалась вероятность сепсиса (83%) [8]. В будущем возможно создание компьютерных алгоритмов оценки гематологических показателей, где для вычисления вероятности сепсиса будут учитываться такие параметры, как возраст ребенка [9].

Острофазовые биохимические показатели.

С-реактивный белок (СРБ) и прокальцитонин (Пкт) наиболее часто используются в диагностике инфекции. В зарубежных исследованиях, также обсуждается возможность оценки плазменного амилоида А как дополнительного маркера инфекции. СРБ – острофазовый протеин, который секретируется печенью в ответ на выработку ИЛ-6 активированными гранулоцитами. При сепсисе и других воспалительных состояниях плазменные концентрации СРБ увеличиваются в 100–1000 раз. У детей с инфекцией уровень СРБ (более 10 мг/дл) начинает расти через 6–8 ч, достигая пика через 2–3 дня [10]. Такой отсроченный ответ СРБ снижает его чувствительность и специфичность как диагностического маркера сепсиса, особенно раннего. В крупном исследовании из 1000 детей имели повышенный уровень СРБ в начале заболевания только 35% с доказанным ранним сепсисом и 39% с высокой вероятностью сепсиса [11]. В ряде мелких исследований чувствительность этого диагностического метода на момент начала инфекции имела достаточно широкий диапазон (29–90%) [12, 13], т. е. использовать СРБ в качестве диагностического маркера при подозрении сепсиса у новорожденных трудно. Серии последовательных измерений уровня СРБ в течение 2–3 дней болезни могут быть полезными для определения продолжительности антибактериальной терапии. Один из трех образцов показывает повышение уровня СРБ через 12–24 ч после начала болезни у 92% новорожденных с грамотрицательной бактериемией и у 64% с грамположительным сепсисом (79% высевали *S. epidermidis*) [14]. Однако повышение уровня СРБ наблюдается не только при бактериальном сепсисе, но и вирусных инфекциях, травматическом и ишемическом повреждении тканей, мекониальной аспирации и других болезнях новорожденных. Один или несколько эпизодов повышения уровня СРБ при отсутствии других признаков инфекции не является определяющим для продолжения антибактериальной терапии. В то же время постоянно нормальный уровень строго коррелирует с отсутствием инфекции и позволяет безопасно отменять антибиотики. Такая стратегия может уменьшить продолжительность эмпирического лечения детей с неспецифическими симптомами и асимптоматичных новорожденных с высоким риском бактериального сепсиса [15]. Пкт – пептид, являющийся предшественником кальцитонина.

Пкт повышается в плазме с пикограммов до 1–1000 нг/мл при тяжелых инфекциях, коррелирует с тяжестью инфекции и смертностью. Микробная инфекция индуцирует усиление экспрессии в *CALC1*-гене и последующем высвобождении предшественников кальцитонина всеми типами клеток организма. В течение 6–8 ч уровень его достигает пика и остается высоким как минимум 24 ч. Для сравнения СРБ появляется через 12 ч, достигая плато через 20–72 ч. Снижается Пкт и СРБ соответственно через 2–3 и 3–7 дней [16]. Результаты исследований Пкт как раннего маркера неонатального сепсиса противоречивы. В течение первых дней жизни уровни Пкт увеличиваются физиологически у здоровых доношенных и недоношенных новорожденных, достигая пика к 18–30-му часу жизни и возвращению к «нормальным» уровням к 42–48-ми часам [17, 18]. Увеличение Пкт может быть результатом гипоксемии, которая сопровождается различными состояниями стресса у новорожденных (респираторный дистресс-синдром, недостаточность кровообращения, ВЖК, реанимация) до значений равных тем, которые определялись у детей с сепсисом [19, 20]. Назначение антибиотиков также влияет на концентрацию Пкт и является значимым фактором, определяющим его диагностическую ценность в отношении инфекции [20–22]. В то же время была доказана высокая чувствительность и специфичность Пкт как маркера инфекции у недоношенных с ОНМТ и ЭНМТ при раннем сепсисе до 86 и 80% и позднем 97 и 80% соответственно [23, 24], а также увеличение чувствительности до 100% через 24 ч после инфицирования [25]. Интересно, что определялись сниженные уровни Пкт при инфицировании коагулазонегативными стафилококками [23]. Кроме того, при сравнении новорожденных с сепсисом и без наблюдался подъем Пкт в 100% случаев среди доношенных с сепсисом и 90% среди недоношенных, в то время как подъем СРБ среди доношенных составил 75% и недоношенных 40%. При этом для Пкт чувствительность определилась 92,8%, специфичность 75%, для СРБ – 50% чувствительность и 69,4% специфичность [26]. **Плазменный амилоид А (ПАА)** – острофазовый белок, который синтезируется в печени макрофагами и моноцитами, под воздействием интерлейкинов и может быть полезен для диагностики различных острых состояний, включая вирусные, бактериальные и грибковые инфекции. ПАА присутствует в крови новорожденных в норме от 5 до 10 мкг/мл, но после естественных родов у 34% новорожденных наблюдается уровень до 94 мкг/мл [27]. Чувствительность ПАА в диагностике сепсиса варьирует от 26 до 100%, а специфичность – 44–100%, но в отличие от СРБ ПАА повышается быстрее с момента клинической манифестации сепсиса. В одном из исследований у 104 новорожденных с РНС наблюдался уровень ПАА значительно выше на 0, 24 и 48-й час жизни ($p < 0,01$) по сравнению со здоровыми, достигая максимального значения к 24-м часам жизни и постепенно снижаясь до начального уровня [28]. Сравнительное изучение ПАА и СРБ/Пкт для диагностики неонатального сепсиса показало, что общая чувствительность теста была несколько ниже, чем у СРБ (0,89 и 0,92 соответственно) и Пкт (0,78 и 0,89 соответственно). Площадь под ROC-кривой больше у ПАА, чем у СРБ (0,95 и 0,91), но ПАА и Пкт имели одинаковую специфичность (0,87 в обоих случаях). Таким образом, исследователи заключают, что ПАА может быть полезен как еще один маркер неонатального сепсиса, особенно в первые 24 ч, однако этот тест имеет выраженную гетерогенность. Оценка ПАА в дополнение к СРБ и Пкт может увеличивать диагностическую точность на 10% и позволяет воздержаться от назначения антибиотиков [29].

Подъем **цитокинов** возникает до появления первых клинических признаков сепсиса и изменения уровней острофазовых показателей. Во время инфекции отмечается подъем как провоспалительных (ИЛ-2, ИЛ-6, ИФН- γ), так и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10) цитокинов ($p < 0,0001$). Плазменные концентрации ИЛ-6, ИЛ-10 и ФНО α , а также соотношения ИЛ-10/ФНО α и ИЛ-6/ИЛ-10 значительно выше у детей с сепсисом и ДВС, чем у детей с сепсисом и без коагулопатии. Соотношение ИЛ-10/ФНО α снижается в течение 48 ч после начала антибактериальной терапии, т. е. наличие высоких концентраций цитокинов, а также высокие соотношений про- и противовоспалительных медиаторов может служить как маркером тяжести инфекции, так и показателем ответа на противомикробную терапию [30]. ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО α – провоспалительные цитокины, имеющие сходную кинетику. ИЛ-6 достоверно повышается в пуповинной крови при РНС с чувствительностью 87–100% и ПЦОР 93–100% [31]. Однако имеет короткий период полураспада, поэтому его чувствительность снижается через 24–48 ч после назначения антибиотиков до 67–58% соответственно [32]. ИЛ-8 служит достоверным маркером раннего сепсиса и указывает на тяжесть процесса с чувствительностью 80–91% и специфичностью 76–100%, но недостоверен при позднем сепсисе [33, 35]. При раннем сепсисе диагностическая точность ФНО α эквивалентная Пкт, а чувствительность комбинации ИЛ-6 и ФНО α – 98,5% [34]. При позднем сепсисе ИЛ-6 снижает чувствительность до 68%, а специфичность до 76% [35]. Интересно, что увеличение ИЛ-6 и ИЛ1 α наблюдается за 48 ч до появления первых клинических симптомов позднего сепсиса [36]. ИЛ-6 может повышаться при неинфекционных состояниях новорожденных (БЛД, ПВЛ) и варьирует в зависимости от гестационного возраста [37]. Быстрое снижение титров цитокинов после начала антимикробной терапии, техническая трудоемкость и дороговизна, подъем уровней при неинфекционных состояниях и широкий спектр диагностических значений не позволяют их использовать в рутинной практике.

Молекулярные структуры, связанные с повреждением (DAMP – damage-associated molecular pattern). Алярмины (DAMP) – белковые молекулы, которые продуцирует клетка в ответ на повреждение. К алярминам относятся протеины теплового шока, S100 протеин, мочевиная кислота, интерлейкин 1 α и HMGB1-белок (high mobility group box 1 protein). Они быстро высвобождаются в условиях некроза и апоптоза, а также вырабатываются иммунными клетками, стимулируя адаптивную иммунную систему, поддерживают гомеостаз, способствуя заживлению тканей [38]. HMGB1 негистоновый ядерный белок, который играет важную роль в регуляции взаимодействия между ДНК и факторами транскрипции [39]. HMGB1 действует как внутриклеточный сигнал тревоги, посредством взаимодействия с различными поверхностными клеточными рецепторами. При гибели клеток он попадает во внеклеточное пространство, поэтому его уровень резко повышается при сепсисе. Генетические вариации HMGB1 могут влиять на исход сепсиса [40]. HMGB1 играет роль в активации макрофагов/моноцитов на выброс провоспалительных цитокинов, увеличивает синтез эндотелиальных молекул адгезии, стимулирует нарушение эндотелиального барьера и способствует развитию анорексии и лихорадки и вовлечен в процесс прогрессирования сепсиса в септический шок [41]. Изучается возможность использования его в качестве прогностического маркера. В одном из исследований у взрослых отмечалось выраженное повышение HMGB1 при тяжелом сепсисе, но не подтвердилась значимость его как маркера предполагаемой госпитальной смертно-

сти [42]. В другом исследовании изучалась зависимость между фетальным воспалением и другими алярминами (RAGE, HMGB1 и S100 β -протеином). Было установлено, что количество sRAGE значительно ниже у плодов с резко выраженным воспалением, уровни HMGB1 и ИЛ-6 коррелировали между собой ($p < 0,001$), отмечалось увеличение протеина S100 β ($p < 0,001$). В условиях хронического воспаления высокие концентрации DAMP обнаружены в мозге, мозжечке, перивентрикулярных областях, печени и кишечнике. Таким образом, наличие НЭК, ВЖК, ПВЛ – это закономерное развитие повреждения тканей запущенное внутриутробно хроническим воспалением. Вероятно, в условиях острого воспаления, удаление плода из враждебной среды (т. е. преждевременные роды) – попытка спасти его от необратимых повреждений тканей медиаторами хронического воспаления (DAMP). Если эта гипотеза верна, то концентрации DAMP могут быть полезными для прогноза неонатальных осложнений [43].

Интер- α -ингибирующие протеины (Inter- α Inhibitor Proteins – I α Ip) – семейство структурно связанных сериновых протеазных ингибиторов. I α Ip вовлечены во множество биологических процессов, включая опухолевую инвазию, стабилизацию экстрацеллюлярного матрикса, заживление ран, а также играют важную регуляторную роль в воспалении [44]. Уровень I α Ip в пуповинной и периферической крови новорожденных составляет 525 \pm 66 мг/л и не зависит от гестационного возраста. Установлено значительное снижение I α Ip у новорожденных с сепсисом по сравнению со здоровыми детьми (169 \pm 126 и 613 \pm 286 мг/л соответственно; $p < 0,0001$) [45]. Chaaban и соавт. [46] среди 532 новорожденных получили аналогичные результаты: уровень I α Ip 121 \pm 71 мг/л, ДИ 95% у детей с сепсисом и 322 \pm 91 мг/л, ДИ 95% у неинфицированных новорожденных. Оптимальный диагностически значимый уровень I α Ip < 177 мг/л. Значимость I α Ip как диагностического маркера сепсиса во много раз превосходила гематологические показатели (уровень тромбоцитов, абсолютное число нейтрофилов, отношение незрелых/зрелых форм, абсолютное число палочкоядерных лейкоцитов и др.) с чувствительностью 89,5%, специфичностью 99%, ПЦПР 95%, ПЦОР 99%, площадь под кривой 0,94 (ДИ 95%). Исследователи заключают, что I α Ip – перспективный маркер, обладающий высокой диагностической значимостью, независимый от гестационного возраста и полезный для мониторинга ответа на антимикробную терапию.

Поверхностные клеточные маркеры – клеточные антигены, такие как кластеры дифференцировки нейтрофилов CD64 и CD11 β , для лабораторного определения требуют малого количества крови (до 0,05 мл) и быстро выполнимы [32]. CD11 β – это α -субъединица β_2 -интегрированной молекулы адгезии, которая принимает участие в адгезии нейтрофилов, диапедезе и фагоцитозе. В течение 5 мин после стимуляции нейтрофилов бактериальными агентами этот маркер определяется в плазме крови [47]. Диагностическая значимость CD11 β при РНС достигает 100% [48]. При ПНС чувствительность и специфичность CD11 β несколько ниже (96–100%) [49]. CD64 в норме экспрессируется на поверхности не стимулированных нейтрофилов в малой концентрации по мере увеличения бактериальной инвазии концентрация данных молекул увеличивается по принципу положительной обратной связи. Доказано, что CD64 вовлечены в процесс фагоцитоза и внутриклеточного разрушения патогенов [47]. У недоношенных количество CD64 не отличается от такового у доношенных, детей старшей возрастной группы и взрослых [50]. Диагностическая значимость CD64 самая высокая по сравнению с другими лейкоцитарными кластерами дифференцировки и достигает 97% чувстви-

тельности, 90% специфичности и 99% ПЦОР. Диагностическая точность на момент начала инфекции и спустя 24 ч одинаковая, а при комбинации с ИЛ-6 или СРБ чувствительность и ПЦОР достигают 100% [51]. В случаях ПНС площадь под ROC-кривой составляла 0,71–0,74, а чувствительность, специфичность и ПЦОР – соответственно 75–78, 59–77 и 81–96%. Однако в комбинации с абсолютным числом палочкоядерных нейтрофилов чувствительность увеличивалась до 80–91%, а специфичность – до 79–93% [52].

Геном, протеом и техники, основанные на нуклеиновых кислотах. Протеомный анализ – это исследование целого ряда белковых молекул организма их структуры и функций, которые появляются и/или увеличиваются/снижаются при различных патологических состояниях. В последнее 10-летие многие исследователи сфокусированы на поиске не одного, а целого ряда, сочетания протеинов (панели), являющихся про- или противовоспалительными маркерами, клеточными поверхностными молекулами адгезии или клеточными антигенами, которые по принципу положительной/отрицательной обратной связи увеличиваются/уменьшаются в крови при бактериальной инвазии [53]. Хотя эти медиаторы выбираются целенаправленно, согласно их важным биохимическим функциям и ключевым ролям в процессе воспаления или инфицирования, этот подход имеет недостаток, заключающийся в том, что исследователи ограничены только известными протеинами [54]. Ng и соавт. [55] использовали протеомный подход для составления балльной шкалы с целью постановки точного диагноза у маловесных недоношенных детей с сепсисом/НЭК, более того этот подход они положили в основу стратегии назначения/отмены антибактериальной терапии у данной группы пациентов. В исследовании участвовало 77 недоношенных детей с сепсисом/НЭК и 77 здоровых детей из группы недоношенных. Среди биомаркеров авторы выделили проаполипротеин С II (про-АпоСII) и дес-аргининовый вариант ПАА, как наиболее перспективные и полезные в постановке диагноза показатели протеомной панели. Был составлен ApoSAA балл, согласно концентраций проаполипротеина и ПАА в крови в исследовании отдельных случаев и когортных исследованиях детей с сепсисом и НЭК. Разделение детей на группы риска по этому баллу позволило воздержаться от ненужной антибактериальной терапии в 45% случаев и остановить бесполезное антимикробное лечение в 16%. Такая тактика в отношении антибактериальной терапии показала ПЦОР 100%. В то же время это позволило не только рано и точно поставить диагноз сепсиса, но и выявить детей для немедленного начала антибактериальной терапии [55]. Esparcia и соавт. [56] использовали основанную на генах молекулярную технику с 16г ДНК для точной диагностики бактериального менингита и раннего неонатального сепсиса. Kasper и соавт. [57] изучали чувствительность и специфичность мультиплекса ПЦР в режиме реального времени для ранней диагностики позднего нозокомиального сепсиса новорожденных. Недостатками и ограничением в использовании этих методов является низкая информативность в отношении резистентности к антибиотикам микроорганизмов, неспособность в выявлении ложноположительных результатов при комбинации во время взятия крови и высокая стоимость исследований. Требуются дальнейшие проспективные исследования для изучения безопасности и пользы этих новых технологичных методик.

Несмотря на усилия в ранней диагностике, лечении и профилактике, неонатальный сепсис по-прежнему остается загадочной областью для неонатологов. Из-за постоянного изменения эпидемиологической ситуации,

отсутствия идеального маркера и нечеткой клинической картины на ранних этапах болезни, системная инфекция по-прежнему является одной из основных причин неонатальной смертности и инвалидизации, особенно среди недоношенных новорожденных. Потребность в идеальном маркере сепсиса для ранней и точной его диагностики, оценке риска инфицирования и рациональной антибиотикотерапии остается первостепенной задачей в современной неонатальной интенсивной терапии.

REFERENCES. ЛИТЕРАТУРА

1. Anderson-Berry A.L., Bellig L.L., Ohning B.L., Rosenkrantz T., Clark D.A., MacGilvray S.S. et al. Neonatal Sepsis. 2014. Available at: <http://emedicine.medscape.com/article/978352-overview>. (Updates: 11 Feb. 2014).
2. Hornik C.P., Fort P., Clark R.H., Watt K., Benjamin D.K. Jr, Smith P.B. et al Early and late onset sepsis in very-low-birth-weight infants from a large group of neonatal intensive care units. *Early Hum. Dev.* 2012; 88 (2): 69–74.
3. Selimovic A., Skokic F., Bazardzanovic M., Selimovic Z. The predictive score for early-onset neonatal sepsis. *Turk. J. Pediatr.* 2010; 52 (2): 139–44.
4. Connell T.G., Rele M., Cowley D., Buttery J.P., Curtis N. How reliable is a negative blood culture result? Volume of blood submitted for Culture in Routine Practice in a Children's Hospital. *Pediatrics.* 2007; 119 (5): 891–6.
5. Jackson G.L., Engle W.D., Sendelbach D.M., Vedro D.A., Josey S., Vinson J. et al. Are complete blood cell counts useful in the evaluation of asymptomatic neonates exposed to suspected chorioamnionitis? *Pediatrics.* 2004; 113 (5): 1173–80.
6. Christensen R.D., Henry E., Jopling J., Wiedmeier S.E. The CBC: reference ranges for neonates. *Semin. Perinatol.* 2009; 33 (1): 3–11.
7. Newman T.B., Puopolo K.M., Wi S., Draper D., Escobar G.J. Interpreting complete blood counts soon after birth in newborns at risk for sepsis. *Pediatrics.* 2010; 126 (5): 903–9.
8. Makkar M., Gupta C., Pathak R., Garg S., Mahajan N.C. Performance evaluation of hematologic scoring system in early diagnosis of neonatal sepsis. *J. Clin. Neonatol.* 2013; 2 (1): 25–9.
9. Srinivasan L., Harris M.C. New technologies for the rapid diagnosis of neonatal sepsis. *Curr. Opin. Pediatr.* 2012; 24 (2): 165–71.
10. Philip A.G. Response of C-reactive protein in neonatal Group B streptococcal infection. *Pediat. Infect. Dis.* 1985; 4 (2): 145–8.
11. Benitz W.E., Han M.Y., Madan A., Ramachandra P. Serial serum C-reactive protein levels in the diagnosis of neonatal infection. *Pediatrics.* 1998; 102 (4): 41.
12. Fowlie P.W., Schmidt B. Diagnostic tests for bacterial infection from birth to 90 days – systematic review. *Arch. Dis. Fetal Neonat. Ed.* 1998; 78 (2): 92–8.
13. Garland S.M., Bowman E.D. Reappraisal of C-reactive protein as a screening tool for neonatal sepsis. *Pathology.* 2003; 35 (3): 240–3.
14. Pourcyrous M., Bada H.S., Korones S.B., Baselski V., Wong S.P. Significance of serial C-reactive protein responses in neonatal infection and other disorders. *Pediatrics.* 1993; 92 (3): 431–5.
15. Benitz W.E. Adjunct laboratory tests in the diagnosis of early-onset neonatal sepsis. *Clin. Perinatol.* 2010; 37 (2): 421–38.
16. Van Rossum A.M., Wulkan R.W., Oudesluys-Murphy A.M. Procalcitonin as an early marker of infection in neonates and children. *Lancet Infect. Dis.* 2004; 4 (10): 620–30.
17. Chiesa C., Panero A., Rossi N., Stegagno M., De Giusti M., Osborn J.F. et al. Reliability of procalcitonin concentration for the diagnosis of sepsis in critically ill neonates. *Clin. Infect. Dis.* 1998; 26 (3): 664–72.
18. Sachse C., Dressler F., Henkel E. Increased serum procalcitonin in newborn infants without infection. *Clin. Chem.* 1998; 44 (6, Pt 1): 1343–4.
19. Chiesa C., Pacifico L., Rossi N., Panero A., Matrunola M., Mancuso G. Procalcitonin as a marker of nosocomial infections in the neonatal intensive care unit. *Intensive Care Med.* 2000; 26 (2): 175–7.
20. Lapillonne A., Basson E., Monneret G., Bienvenu J., Salle B.L. Lack of specificity of procalcitonin for sepsis diagnosis in premature infants. *Lancet.* 1998; 351 (9110): 1211–2.
21. Janota J., Stranák Z., Bělohávková S., Mudra K., Simák J. Postna-

- tal increase of procalcitonin in premature newborns is enhanced by chorioamnionitis and neonatal sepsis. *Eur. J. Clin. Invest.* 2001; 31 (11): 978–83.
22. Petzold L., Guibourdenche J., Boissinot C., Benoist J.F., Luton D., Demelier J.F. et al. Determination of procalcitonin in the diagnosis of maternal-fetal infections. *Ann. Biol. Clin.* 1998; 56 (5): 599–602.
 23. José L.S., David P.S., Vicente R.S., Belén F.C., Gil C.C., Xavier K.V. et al. Procalcitonin is not sufficiently reliable to be the sole marker of neonatal sepsis of nosocomial origin. *BMC Pediat.* 2006; 6: 16.
 24. Vazzalwar R., Pina-Rodriguez E., Puppala B.L., Angst D.B., Schweig L. Procalcitonin as a screening test for late-onset sepsis in preterm very low birth weight infants. *J. Perinatol.* 2005; 25 (6): 397–402.
 25. Kawczynski P., Piotrowski A. Procalcitonin and C-reactive protein as a marker of neonatal sepsis. *Ginekol. Pol.* 2004; 75 (6): 439–44.
 26. Sucilathangam G., Amuthavalli K., Velvizhi G., Ashihabegum M.A., Jeyamurugan T., Palaniappan N. Early diagnostic markers for neonatal sepsis. *J. Clin. Diagn. Res.* 2012; 6 (4): 627–31.
 27. Golden S.M., Hauge I., Elwood R., Young S., Thornton J. Serum amyloid A concentrations in full-term infant umbilical cord serum using a solid phase indirect ELISA. *Lab. Med.* 2005; 36 (6): 357–61.
 28. Arnon S., Litmanovitz I., Regev R.H., Bauer S., Shainkin-Kestenbaum R., Dolfin T. Serum amyloid A: an early and accurate marker of neonatal early-onset sepsis. *J. Perinatol.* 2007; 27 (5): 297–302.
 29. Haining Yuan, Jie Huang, Bokun L., Wenying Yan, Guang Hu, Jian Wang et al. Diagnosis value of the serum amyloid A test in neonatal sepsis: A meta-analysis. 2013. Available at: <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/520294/> (Accepted 4 July, 2013)
 30. Ng P.C., Li K., Wong R.P., Chui K., Wong E., Li G. et al. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokine responses in preterm infants with systemic infections. *Arch. Dis. Child Fetal Neonat. Ed.* 2003; 88 (3): 209–13.
 31. Cernada M., Badia N., Modesto V., Alonso R., Mejias A., Golombek S et al. Cord blood interleukin-6 as a predictor of early-onset neonatal sepsis. *Acta Paediat.* 2012; 101 (5): 203–7.
 32. Birju A.S., Padbury F.J. Neonatal sepsis an old problem with new insights. *Virulence.* 2014; 5 (1): 170–8.
 33. Mishra U.K., Jacobs S.E., Doyle L.W., Garland S.M. Newer approaches to the diagnosis of early onset neonatal sepsis. *Arch. Dis. Child Fetal Neonat. Ed.* 2006; 91 (3): F208–12.
 34. Silveira R.C., Procianny R.S. Evaluation of interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta for early diagnosis of neonatal sepsis. *Acta Paediat.* 1999; 88 (6): 647–50.
 35. Verboon-Maciolek M.A., Thijsen S.F., Hemels M.A., Menses M., van Loon A.M., Krediet T.G. et al. Inflammatory mediators for the diagnosis and treatment of sepsis in early infancy. *Pediat. Res.* 2006; 596 (3): 457–61.
 36. Küster H., Weiss M., Willeitner A.E., Detlefsen S., Jeremias I., Zbojan J. et al. Interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-6 for early diagnosis of neonatal sepsis 2 days before clinical manifestation. *Lancet.* 1998; 352 (9136): 1271–7.
 37. Chiesa C., Signore F., Assumma M., Buffone E., Tramontozzi P., Osborn J.F. et al. Serial measurements of C-reactive protein and interleukin-6 in the immediate postnatal period: reference intervals and analysis of maternal and perinatal confounders. *Clin. Chem.* 2001; 47 (6): 1016–22.
 38. Bianchi M.E. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J. Leukoc. Biol.* 2007; 81 (1): 1–5.
 39. Van Zoelen M.A., Laterre P.F., van Veen S.Q., van Till J.W., Wittebole X., Bresser P. et al. Systemic and local high mobility group box 1 concentrations during severe infections. *Crit. Care Med.* 2007; 35 (12): 2799–804.
 40. Kornblit B., Munthe-Fog L., Madsen H.O., Strøm J., Vindeløv L., Garred P. et al. Association of HMGB1 polymorphisms with outcome in patients with SIRS. *Crit. Care.* 2008; 12: R83.
 41. Wang H., Yang H., Tracey K.J. Extracellular role of HMGB1 in inflammation and sepsis. *J. Intern. Med.* 2004; 255 (3): 320–31.
 42. Karlsson S., Pettilä V., Tenhunen J., Laru-Sompa R., Hynninen M., Ruokonen E. HMGB1 as a predictor of organ dysfunction and outcome in patients with severe sepsis. *Intensive Care Med.* 2008; 34 (6): 1046–53.
 43. Buhimschi C.S., Baumbusch M.A., Dulay A.T., Oliver E.A., Lee S., Zhao G. et al. Characterization of RAGE, HMGB1, and S100b in inflammation-induced preterm birth and fetal tissue injury. *Am. J. Pathol.* 2009; 175 (3): 958–75.
 44. Suraj Gupte. *Recent Adv. Pediat.* 2013; *Spec. Vol. 22: Immunol., Infect., Immunizat.*
 45. Baek Y.W., Brokat S., Padbury J.F., Pinar H., Hixson D.C., Lim Y.P. Inter-alpha inhibitor proteins in infants and decreased levels in neonatal sepsis. *J. Pediat.* 2003; 143 (1): 11–5.
 46. Chaaban H., Singh K., Huang J., Siryaporn E., Lim Y.P., Padbury J.F. The role of inter-alpha inhibitor proteins in the diagnosis of neonatal sepsis. *J. Pediat.* 2009; 154 (4): 620–2.
 47. Simms H.H., D'Amico R. et al. Lipopolysaccharide induces intracytoplasmic migration of the polymorphonuclear leukocyte CD11b/CD18 receptor. *Shock.* 1995; 3 (3): 196–203.
 48. Ng P.C. Diagnostic markers of infection in neonates. *Arch. Dis. Child Fetal Neonat. Ed.* 2004; 89 (3): 229–35.
 49. Ng P.C., Li K., Wong R.P., Chui K.M., Wong E., Fok T.F. Neutrophil CD64 expression: a sensitive diagnostic marker for late-onset nosocomial infection in very low birthweight infants. *Pediat. Res.* 2002; 51 (3): 296–303.
 50. Fjaertoft G., Håkansson L., Ewald U., Foucard T., Venge P. Neutrophils from term and preterm newborn infants express the high affinity Fc[gamma]-receptor I (CD64) during bacterial infection. *Pediat. Res.* 1999; 45 (6): 871–6.
 51. Ng P.C., Li K., Wong R.P., Chui K.M., Wong E., Fok T.F. Neutrophil CD64 expression: a sensitive diagnostic marker for late-onset nosocomial infection in very low birthweight infants. *Pediat. Res.* 2002; 51 (3): 296–303.
 52. Bhandari V., Wang C., Rinder C., Rinder H. Hematologic profile of sepsis in neonates: Neutrophil CD64 as a diagnostic marker. *Pediatrics.* 2008; 121 (1): 129–34.
 53. Ng P.C., Lam H.S. Diagnostic markers for neonatal sepsis. *Curr. Opin. Pediat.* 2006; 18 (2): 125–31.
 54. Buhimschi C.S., Bhandari V., Hamar B.D., Bahtiyar M.O., Zhao G., Sfakianaki A.K. et al. Proteomic profiling of the amniotic fluid to detect inflammation, infection, and neonatal sepsis. Available at: <http://www.plosmedicine.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pmed.0040018> (Published Jan, 16, 2007).
 55. Ng P.C., Ang I.L., Chiu R.W., Li K., Lam H.S., Wong R.P. Host-response biomarkers for diagnosis of late-onset septicemia and necrotizing enterocolitis in preterm infants. *J. Clin. Invest.* 2010; 120 (8): 2989–3000.
 56. Esparcia O., Montemayor M., Ginovart G., Pomar V., Soriano G., Pericas R. et al. Diagnostic accuracy of a 16S ribosomal DNA gene-based molecular technique (RT-PCR, microarray and sequencing) for bacterial meningitis, early-onset neonatal sepsis, and spontaneous bacterial peritonitis. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2011; 69 (2): 153–60.
 57. Kasper D.C., Altiok I., Mechtler T.P., Böhm J., Straub J., Langgartner M. et al. Molecular detection of late-onset neonatal sepsis in premature infants using small blood volumes: proof-of-concept. *Neonatology.* 2013; 103 (4): 268–73.

Received. Поступила 15.02.15