

Extracorporeal Detoxification In Sepsis

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ СЕЛЕКТИВНОЙ АДСОРБЦИИ ЭНДОТОКСИНА ПРИ СЕПСИСЕ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Н. Д. Ушакова, А. Н. Шевченко, М. В. Четвериков, Е. Ю. Златник, Т. А. Зыкова

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия
344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

Results of Using Selective Endotoxin Adsorption in Cancer Patients with Sepsis

N. D. Ushakova, A. N. Shevchenko, M. V. Chetverikov, E. Yu. Zlatnik, T. A. Zyкова

Rostov Cancer Research Institute, Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia
63, 14th Line, Rostov-on-Don 344037, Russia

Цель. Изучить клиническую эффективность применения селективной ЛПС-адсорбции при грамотрицательном сепсисе, развившемся в послеоперационном периоде у онкологических больных. **Материал и методы.** Обследовано 47 больных в возрасте от 47 до 84 лет (11 женщин и 36 мужчин), подвергнутых хирургическому вмешательству по поводу онкологических заболеваний, послеоперационный период которых осложнился развитием грамотрицательного сепсиса. Больные были разделены на 2 группы – контрольную и основную. Контрольная группа – 15 человек, получавших стандартную терапию, основная группа – 32, которым была применена ЛПС-адсорбция с иммобилизованным полимиксином В. **Результаты.** После завершения программы селективной ЛПС-адсорбции в 87,5% случаев наблюдали регресс клинических признаков сепсиса, статистически значимое снижение уровня лейкоцитов и нейтрофилов в периферической крови, улучшение биохимических показателей крови. У 89% больных регистрировали снижение исходно высоких показателей активности эндотоксина от >0,6 ед. до <0,4 ед. После заключительного сеанса ЛПС-адсорбции отмечено снижение потребности в вазопрессорной поддержке в связи с оптимизацией «гемодинамического профиля». В 15 из 26 случаев после проведения курсов селективной адсорбции эндотоксина необходимости в продолжении органозаместительной терапии не было. Летальность (28-дневная) в основной группе составила 25,0%, в контрольной – 53,3%. **Заключение.** Включение в комплекс интенсивной терапии грамотрицательного сепсиса метода ЛПС-адсорбции является патогенетически обоснованным и позволяет эффективно купировать проявления системного воздействия бактериального эндотоксина. Раннее и своевременное применение метода ЛПС-адсорбции обеспечивает ингибирование инициирующего стимула, что позволяет предупредить прогрессирование септического процесса, развитие тяжелого сепсиса и септического шока, улучшает результаты лечения госпитального периода онкологических больных. **Ключевые слова:** грамотрицательный сепсис, ЛПС-адсорбция с иммобилизованным полимиксином В.

Objective: to study the clinical efficiency of using selective lipopolysaccharide (LPS) adsorption in postoperative gram-negative sepsis in cancer patients. **Subjects and methods.** Examinations were made in 47 patients (11 women and 36 men) aged 47 to 84 years, who had been operated on for cancer and whose postoperative period had been complicated by gram-negative sepsis. The patients were divided into 2 groups: 1) 15 patients who received standard therapy (a control group); 2) 32 who had LPS adsorption using immobilized polymyxin B (a study group). **Results.** Upon completion of the selective LPS adsorption program, there was regression of the clinical signs of sepsis, statistically significantly lower peripheral blood leukocyte and neutrophil levels, and better blood biochemical parameters in 87.5% of cases. High baseline endotoxin activity decreased from >0.6 to <0.4 units in 89% of the patients. After the final session of LPS adsorption, the need for vasopressor support reduced due to hemodynamic profile optimization. After selective endotoxin adsorption cycles, 15 of 26 cases did not need to continue organ replacement therapy. Twenty-eight-day mortality rates in the study and control groups were 25.0 and 53.3%, respectively. **Conclusion.** Incorporation of LPS adsorption into a set of intensive therapy for gram-negative sepsis is pathogenetically substantiated and can effectively abolish the manifestations of the systemic effects of bacterial endotoxin. The early and timely use of LPS adsorption provides inhibition of an initiating stimulus, which makes it possible to prevent the progression of a septic process and the development of severe sepsis and septic shock and improves the results of therapy in cancer inpatients. **Key words:** gram-negative sepsis, lipopolysaccharide adsorption using immobilized polymyxin B.

DOI:10.15360/1813-9779-2014-6-32-38

Адрес для корреспонденции:

Ушакова Наталья Дмитриевна
E-mail: ndu2000@rambler.ru

Correspondence to:

Ushakova Natalia Dmitrievna
E-mail: ndu2000@rambler.ru

Введение

Несмотря на значительные успехи в области фундаментальных исследований, фармакологии, клинической медицины инфекционные осложнения и сепсис остаются одной из основных причин смерти при критических состояниях [1–4]. По данным современной литературы в мире регистрируется примерно 18 млн случаев при смертности более 30% при тяжелом сепсисе и более 50% при септическом шоке [5, 6]. Встречаемость сепсиса у онкологических больных в 4–8 раз чаще, чем в общей популяции больных, а госпитальная летальность составляет 10% среди всех причин смерти [7]. При лечении злокачественных новообразований хирургические вмешательства являются главным методом лечения у подавляющего большинства больных. По данным ВОЗ в мире в год выполняется 31 млн онкологических операций. В свою очередь, в их структуре расширенные радикальные вмешательства составляют большую часть. Эти операции, как правило, сопровождаются массивным повреждением тканей, большой кровопотерей. Агрессивность проводимых хирургических вмешательств и анестезиологического пособия; частота изначального инфицирования опухоли в процессе развития онкологического процесса; вторичный иммунодефицит, сопровождающий его течение; значительный процент больных пожилого и старческого возраста, имеющих тяжелые сопутствующие соматические заболевания; необходимость проведения в предоперационном периоде полихимиотерапии и лучевого лечения, а в раннем послеоперационном периоде — высокоинвазивного интенсивного лечения и комбинированной антибиотикотерапии определяют высокий риск развития у онкологических больных гнойно-септических осложнений [7–10].

В настоящее время сепсис рассматривается как «...патологический процесс, в основе которого лежит реакция организма в виде генерализованного воспаления на инфекцию различной природы» [11], который сопровождается нарушениями гомеостаза, как неконтролируемого каскада изменений в системах воспаления, коагуляции и фибринолиза, происходящих одновременно, как цикл автоматического наложения взаимобусловленных процессов с последующими нарушениями микроциркуляции и тканевой оксигенации, развитием метаболических расстройств вследствие митохондриальной дисфункции. Как результат уникальной комбинации в ответ на инфекцию клеточных, метаболических, сосудистых и воспалительных нарушений развивается органная дисфункция и полиорганная недостаточность (ПОН) [12, 13].

Согласно современным представлениям, эндотоксин — бактериальный липополисахарид (ЛПС) считается самым мощным медиатором микробного происхождения и играет ключевую роль в патогенезе сепсиса, являясь наиболее важным из патоген-ассоциированных молекул сигнализации (*pathogen-associated molecular pattern, PAMP*). Бактериальный эндотоксин — постоянный структурный компонент наружной кле-

Introduction

Despite considerable progress in fundamental medicine, pharmacology and clinical medicine infectious complications and sepsis remains a major cause in critical conditions [1–4]. Approximately 18 million cases with more than 30% mortality from severe sepsis and 50% from septic shock are reported each year worldwide [5, 6]. The incidence of sepsis in patients with cancer is 4–8 times more frequent than in general population of patients, and in-hospital mortality is 10% of all causes of death [7]. Surgery is the main method in the treatment of malignant tumors for the vast majority of patients. According to the WHO, 31 million cancer surgeries are performed in the world per year. In turn, extended radical interventions constitute the majority of them. These operations are usually accompanied by massive tissue damage and blood loss. The aggressiveness of the surgical procedures and anesthetic support; frequency of the initial infection of the tumor in the process of cancer development; accompanying secondary immunodeficiency; significant percentage of patients of elderly and senile age with severe medical comorbidity; the need for preoperative chemotherapy and radiation therapy, and in the early postoperative period — highly invasive intensive treatment and combined antibiotic therapy determine a high risk of developing of suppurative-septic complications in cancer patients [7–10].

Currently, sepsis is seen as «...a pathological process, based on the reaction of the organism in the form of generalized inflammation due to infection of different nature» [11], which is accompanied by disturbances of homeostasis that include uncontrolled cascade of changes occurs simultaneously in the inflammation, coagulation and fibrinolysis systems/ Pathogenesis of sepsis is considered as a cycle of automatic imposition of interrelated processes leading to subsequent destruction of microcirculation, alteration of tissue oxygenation and mitochondrial dysfunction that results in development of metabolic disorders. Organ dysfunction and multiple organ failure develop as a result of the unique combination of metabolic, vascular and inflammatory disorders in response to infection [12,13].

According to modern ideas, endotoxin — bacterial lipopolysaccharide (LPS) — is the most potent mediator of microbial origin and plays a key role in the pathogenesis of sepsis, being the most known pathogen-associated molecular pattern (PAMP). Bacterial endotoxin is a permanent structural component of the outer cell wall of gram-negative bacteria, which is necessary for vital activity of the latter. According to the chemical structure it is lipopolysaccharide (LPS). The cell wall of each bacterium includes up to 4 million LPS molecules. LPS acts as a signaling molecule, which timely warns about the possibility of the implementation of gram-negative bacteria into the body. Endotoxin has an extensive set of pathogenic qualities that manifest themselves only when its concentration in the general circulation exceeds the physiologically acceptable norms and / or in case of failure of anti-endotoxin immunity. When endotoxin is released in the systemic circulation

точной стенки грамотрицательных бактерий, который необходим для поддержания жизнедеятельности последних. По структуре это липополисахарид (ЛПС). Клеточная стенка каждой бактерии включает до 4 млн молекул ЛПС. ЛПС выступает в роли сигнальной молекулы, своевременно предупреждающей о возможности внедрения грамотрицательных бактерий во внутреннюю среду организма. Эндотоксин обладает обширным набором патогенных качеств, которые проявляют себя только тогда, когда его концентрация в общем кровотоке превышает физиологически допустимые нормы и/или при недостаточности антиэндотоксинового иммунитета. При высвобождении эндотоксина в системный кровоток происходит незамедлительная реакция моноцитов, которые связываются с последним и запускают воспалительный ответ. В результате активации моноцитов в реакцию вступают липопротеины, которые с помощью липида А также связывают эндотоксин, фиксированный моноцитами. Эта реакция направлена на ингибирование развития воспалительного ответа [14]. При избыточности высвобождения ЛПС в системный кровоток реакция моноцитов превалирует над липопротеин-опосредованным удалением ЛПС, что в свою очередь индуцирует генерализацию воспалительного ответа. Таким образом, ЛПС является ключевой сигнальной молекулой в патогенезе инфекции, воспаления, сепсиса, ПОН и септического шока. Следует подчеркнуть, что потенциальные последствия высвобождения ЛПС обусловлены реакцией гомеостаза на ЛПС, а не внутренними свойствами самого эндотоксина [15, 16]. Клинические исследования последних лет свидетельствуют, что высокий уровень активности эндотоксина в системном кровотоке коррелирует у больных сепсисом с худшими клиническими исходами [17]. Это является патогенетическим обоснованием к включению в комплекс интенсивного лечения грамотрицательного сепсиса антиэндотоксиновой терапии.

Накопленный к настоящему времени в мире клинический опыт свидетельствует, что гемоперфузия с полимиксином-В представляет собой новый и перспективный метод лечения, способный оказывать положительное влияние на выживаемость больных сепсисом [18–21].

Цель исследования — изучить клиническую эффективность применения селективной ЛПС-адсорбции при грамотрицательном сепсисе, развившемся в послеоперационном периоде у онкологических больных.

Материал и методы

В рамках одноцентрового рандомизированного слепого исследования обследовали 47 больных в возрасте от 47 до 84 лет (11 женщин и 36 мужчин), подвергнутых хирургическому вмешательству по поводу онкологических заболеваний на органах брюшной полости и забрюшинного пространства, послеоперационный период которых осложнился развитием сепсиса.

Критерии включения в исследование:

- I. Клинические признаки сепсиса [22]:
 - регистрация в течение предыдущих 24 часов двух и более признаков ССВО: температура тела $>38,3^{\circ}\text{C}$ или $<36^{\circ}\text{C}$;

immediate response of monocytes occurs to bind to the latter and trigger an inflammatory response. Monocytes bind lipoproteins via cel-surface lipid A. This reaction is directed to inhibit the inflammatory response [14]. In case of excessive release of LPS into the systemic circulation monocyte reaction predominates over lipoprotein-mediated removal of the LPS, which in turn induces generalization of inflammatory response. Thus, LPS is a key-signaling molecule in the pathogenesis of infection, inflammation, sepsis, septic shock and multiple organ failure. It should be emphasized that the potential consequences of the LPS release are caused by a reaction of the homeostasis, not by intrinsic properties of the endotoxin [15, 16]. Clinical studies in recent years show that high levels of endotoxin activity in the systemic circulation in patients with sepsis correlate with worse clinical outcomes [17]. This is a pathogenic rationale for inclusion of anti-endotoxin therapy in the complex of gram-negative sepsis intensive treatment.

Worldwide clinical experience to date suggests that hemoperfusion with Polymyxin B is a new and promising method of treatment that can have a positive effect on the survival of patients with sepsis [18–21].

Aim of the study. To study the clinical efficacy of using the selective LPS-adsorption in case of gram-negative sepsis, which developed in the postoperative period in patients with cancer.

Materials and Methods

Within the framework of a single-site, randomized, blinded study 47 patients aged 47 to 84 years (11 women and 36 men) who underwent cancer surgery and their postoperative period was complicated by the development of gram-negative sepsis were examined.

Criteria for inclusion in the study:

- I. Clinical signs of sepsis [22]:
 - Two or more SIRS signs registered during last 24 hours:
 - Body temperature $>38,3^{\circ}\text{C}$ or $<36^{\circ}\text{C}$; heart rate >90 / min; tachypnea >20 / min or the partial pressure of carbon dioxide in arterial blood (PaCO_2) less than 32 mm WG; leukocyte count — more than 12×10^9 / L, or less than 4×10^9 / L, or more than 10% of immature cell forms;
 - Clinical signs of organ dysfunction:
 - Arterial hypoxemia ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 <300$); acute oliguria (urine output <0.5 mL / kg / h for at least 2 hours despite adequate fluid resuscitation; increased creatinine level >0.4 mM; violation of coagulation parameters (INR $>1,5$ or aPTT >60 s); intestinal parietic manifestations; thrombocytopenia (platelet count $<100 \times 10^9$ / L; hyperbilirubinemia (total bilirubin level >70 mM); violation of tissue perfusion, hyperlactatemia >1 mM); hemodynamic violations (hypotension — SBP <90 mmHg, MAP <70 mmHg or decrease of SBP >40 mmHg below normal values for this age.
 - II. Blood level of procalcitonin (PCT) more than 2 ug/ml.
 - III. Endotoxin activity (EA) according to EAA-test — >0.6 units.

Exclusion criteria: terminal condition of the patient, massive bleeding, need for surgical treatment of purulent inflammation site.

The patients were divided into 2 groups — control and main. The control group included 15 people who received standard therapy, the main group comprised of 32 patients, in which LPS-adsorption with immobilized Polymyxin B was employed.

Standard therapy was performed according to international guidelines for the treatment of sepsis — Surviving Sepsis

ЧСС > 90/мин.; тахипноэ > 20/мин. или напряжение углекислоты в артериальной крови (раСО₂) менее 32 мм вод. ст.; количество лейкоцитов более 12×10⁹/л или менее 4×10⁹/л, либо более 10% незрелых клеточных форм;

– наличие клинических признаков органной дисфункции:

артериальная гипоксемия (РаО₂/FiO₂ < 300); острая олигурия (диурез < 0,5 мл/кг/час не менее 2 часов, несмотря на адекватную инфузионную терапию; увеличение креатинина крови > 0,4 мкмоль/л; нарушения показателей коагуляции (INR > 1,5 или АЧТВ > 60 с); паретические проявления со стороны кишечника; тромбоцитопения (количество тромбоцитов < 100×10⁹/л; гипербилирубинемия (общий билирубин крови > 70 мкмоль/л); нарушения тканевой перфузии гиперлактатемия > 1 ммоль/л); гемодинамические нарушения (артериальная гипотензия – САД < 90 мм рт. ст., МАР < 70 мм рт. ст. или снижение САД > 40 мм рт. ст. ниже нормы для данного возраста).

II. Уровень прокальцитонина крови (PCT) более 2 нг/мл.

III. Активность эндотоксина (АЭ) по данным ЕАА-теста – > 0,6 ед.

Критерии исключения: терминальное состояние больного, массивное кровотечение, необходимость хирургической санации очага гнойной воспаления.

Все больные были разделены на 2 группы – контрольную и основную. Контрольную группу составили 15 человек, получавших стандартную терапию сепсиса, в основную группу вошли 32 больных, стандартная терапия которым была дополнена экстракорпоральной антиэндотоксиновой терапией – ЛПС-адсорбцией. Стандартную терапию проводили согласно международным рекомендациям по лечению сепсиса – Surviving Sepsis Campaign, Sepsis Campaign: International Guidelines, 2012 [22]. Группы больных по полу, возрасту, нозологическим формам онкологического процесса, характеру и объему хирургического вмешательства, тяжести септического процесса были однородны. Следует отметить, что у 44 из 47 (93,6%) исследуемых больных диагностировали III стадию онкологического заболевания (у 30 из 32 больных основной и у 1 из 15 больных контрольной группы), в 3 (6,4%) случаях регистрировали II стадию онкологического процесса.

Причиной развития сепсиса у 15 больных (31,9%) был перитонит, 8 (17,0%) – пневмония, 8 (17,0%) – мочевиная инфекция, 6 (12,8%) – панкреатит, 5 (10,7%) – эмпиема плевры, 4 (8,5%) – раневая инфекция, 1 (2,1%) – ангиогенная инфекция.

При оценке тяжести состояния больных по шкале APACHE-II средний балл составлял 24,3±6,3 (в основной группе – 23,2±5,5; в контрольной – 24,6±6,1). У 38 из 47 (80,9%) больных регистрировали развитие ПОН (в основной группе – у 32 из 44 больных; в контрольной – у 6 из 15 больных). Средний балл по шкале SOFA был 9,2±2,7 (в основной группе – 9,4±2,5; в контрольной – 8,7±2,6). При этом в 26 из 38 (55,3%) случаев (в основной группе – у 22 из 32 больных; в контрольной – у 4 из 6 больных) тяжесть нарушений функций жизненно-важных органов определяла необходимость проведения органозамещающей терапии (ИВЛ, гемофильтрация/гемодиализация).

Всем больным проводили микробиологические исследования. Изоляцию микроорганизмов осуществляли по стандартным методикам. Определяли видовую принадлежность изолированных штаммов. Чувствительность выделенных штаммов микроорганизмов к антибактериальным препаратам осуществляли диско-диффузионным методом. Исследования проводили с использованием автоматической биохимической системы VITEK 2 (bioMérieux, Франция). Выявление генов карбапенемаз групп KPC и OXA-подобных, метало-β-лактамаз групп VIM, IMP и NDM проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с гибридационно-флуоресцентной детекцией. Интерпретацию результатов выполняли в соответствии с критериями и рекомендациями EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility

Campaign, Sepsis Campaign: International Guidelines, 2012 [22]. Группы пациентов были подобны по полу, возрасту, клиническим проявлениям сепсиса, характеру и объему хирургического вмешательства, и тяжести сепсиса. Следует отметить, что у 44 из 47 (93,6%) исследуемых больных III стадия онкологического заболевания была диагностирована (30 из 32 пациентов в основной и 1 из 15 пациентов в контрольной группе), в 3 (6,4%) случаях II стадия онкологического заболевания была диагностирована.

У 15 пациентов (31,9%) сепсис был вызван перитонитом, в 8 (17,0%) случаях пневмония была диагностирована, в 8 (17,0%) случаях сепсис был вызван мочевой инфекцией, в 6 (12,8%) случаях панкреатит был обнаружен, в 5 (10,7%) случаях доказательства эмпиемы были получены, в 4 (8,5%) случаях раневая инфекция была источником сепсиса, в то время как у одного пациента (2,1%) сепсис был вызван ангиогенной инфекцией.

Тяжесть состояния пациента по шкале APACHE-II в основной группе – 24,3±6,3; в контрольной – 24,6±6,1. У 38 из 47 (80,9%) пациентов развитие множественной органной дисфункции было выявлено (в основной группе – 32 из 44 пациентов, в контрольной – 6 из 15 пациентов). Средний балл SOFA составил 9,2±2,7 (в основной группе – 9,4±2,5; в контрольной – 8,7±2,6). В то же время у 26 из 38 (55,3%) пациентов (в основной группе – 22 из 32 пациентов, в контрольной – 4 из 6 пациентов) тяжесть нарушений функций жизненно-важных органов определяла необходимость интенсивной терапии (механической вентиляции, гемофильтрации/гемодиализации).

У всех пациентов проводили микробиологические исследования. Изоляцию микроорганизмов осуществляли по стандартным методикам. Видовую принадлежность выделенных штаммов микроорганизмов определяли с помощью диффузионного метода. Исследования проводили с использованием автоматической биохимической системы VITEK 2 (bioMérieux, Франция). Выявление генов карбапенемаз групп KPC и OXA-подобных, метало-β-лактамаз групп VIM, IMP и NDM проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с гибридационно-флуоресцентной детекцией. Интерпретацию результатов проводили в соответствии с критериями и рекомендациями EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). Микробиологическое подтверждение сепсиса было получено у 30 из 47 (63,8%) случаев (в основной группе – 25 из 32 пациентов и в контрольной группе – в 5 из 15 пациентов). Грамотрицательные инфекции были представлены K. pneumoniae, Ps. aeruginosa, Acinetobacter baumannii, Enterococcus faecalis.

Уровни прокальцитонина в крови и активность эндотоксина в сыворотке крови были исследованы в дополнение к общим клиническим исследованиям.

Уровни прокальцитонина (PCT) в крови были исследованы с помощью полуколичественного теста Brahms PCT-Q of Brahms Diagnostica (Германия). Исследования проводили с помощью тест-системы на реакцию эндотоксина (липополисахарида А) внешней мембраны грамотрицательных бактерий с моноклональными эндотоксическими антителами с помощью хемилюминесцентного метода с помощью Smart Line Tube Illuminometer (Berthold Detection Systems GmbH, Германия) с использованием иммунодиагностических реагентов ЕАА (ЕААТМ). Активность эндотоксина была классифицирована как низкая (< 0,4 единицы), умеренная (от 0,4 до < 0,6 единицы), и высокая (> 0,6 единицы) [23].

Клинические и лабораторные исследования проводили в течение 24 часов после регистрации клинических признаков сепсиса до начала ЛПС-адсорбции, 24 часа после окончания процедуры, 24–48 часов после завершения процедуры экстракорпоральной антиэндотоксиновой терапии.

ЛПС-адсорбцию проводили с помощью «Toray» картриджа с полистирольными волокнами, на которые ковалентно зафиксирован полимиксин В. Процедура была начата 4–24 часа после установления диагноза сепсиса. Венозный доступ был достигнут катетеризацией главного венозного сосуда с установкой двойного люмена венозного катетера. Скорость кровотока была 120–250 мл/мин, гепаринизация – 800–1000 единиц/час, продолжительность процедуры – от 120 до 240 минут. Гемоперфузия проводилась с интервалом в 24 часа. В случае сохранения/прогрессирования клинических и лабораторных признаков генерализованного воспаления и высоких уровней активности эндотоксина (> 0,6 единицы) ЛПС-адсорбционные процедуры повторялись. У 4 пациентов 1

Extracorporeal Detoxification In Sepsis

Testing). Микробиологическое подтверждение сепсиса получено в 30 из 47 (63,8 %) случаев (в основной группе — у 25 из 32 больных; в контрольной — у 5 из 15 больных). Грамотрицательная инфекция была представлена *K.pneumonia*, *Paeruginosa*, *Acinetobacter baum.*, *Enterococcus fecalis*.

Наряду с общеклиническими исследованиями изучали показатели прокальцитонина крови и активности эндотоксина в цельной крови.

Уровень прокальцитонина крови (PCT) определяли полуколичественным тестом Brahms PCT-Q фирмы Brahms Diagnostica (Germany). Тест на активность эндотоксина в цельной крови, основанный на реакции эндотоксина (липолисахарида А) наружной клеточной мембраны грамотрицательных микроорганизмов с моноклональными эндотоксическими антителами, выполняли хемилюминесцентным методом на люминометре Smart Line Tube Illuminometer (Berthold Detection Systems GmbH, Germany) с использованием набора иммунодиагностических реагентов ЕАА™. Активность эндотоксина классифицировали как низкую (<0,4 ед.), умеренную (от 0,4 ед. до 0,6 ед.) и высокую (>0,6 ед.) [23].

Клинико-лабораторные исследования проводили в течение 24 часов после регистрации клинических признаков сепсиса, до проведения ЛПС-адсорбции, через 24 часа после окончания каждой процедуры, через 24–48 часов после завершения программы экстракорпоральной антиэндотоксиновой терапии.

ЛПС-адсорбцию выполняли с использованием картриджа фирмы «Тогау» с полистироловыми волокнами, на которых ковалентно фиксирован полимиксин-В. Процедуру начинали через 4–24 часа после установки диагноза сепсиса. Сосудистый доступ обеспечивали путем катетеризации магистрального венозного сосуда с установкой двухпросветного венозного катетера. Скорость кровотока составляла 120–250 мл/мин., гепаринизация — 800–1000 ед./час, длительность процедуры — от 120 до 240 минут. Гемоперфузии выполняли с интервалом 24 часа. Показанием к проведению повторных процедур ЛПС-адсорбции являлось сохранение/прогрессирование клинико-лабораторных признаков генерализованного воспаления и высоких показателей (>0,6 ед.) активности эндотоксина. У 4 больных была выполнена 1 процедура ЛПС-адсорбции, у 26 — 2 и в 2 случаях — 3 процедуры.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы «Statistica 6.1» с вычислением критерия достоверности Стьюдента (*t*). Достоверным считалось различие при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При проведении ЛПС-адсорбции с использованием картриджа с иммобилизованным полимиксином В каких-либо нежелательных явлений нами отмечено не было.

Анализ проведенного клинико-лабораторного исследования показал, что включение в комплекс интенсивного лечения селективной ЛПС-адсорбции способствовало оптимизации характера течения генерализованного воспаления. Так у больных основной группы, в комплекс интенсивного лечения сепсиса которым был включен метод селективной ЛПС-адсорбции, наблюдали более ранний и выраженный регресс клинико-лабораторных проявлений генерализованного воспаления по сравнению с результатами, регистрируемыми в контрольной группе исследования.

После завершения программы селективной ЛПС-адсорбции у 28 из 32 больных наблюдали оптимизацию клинического течения генерализованного воспаления:

LPS-adsorption procedure was performed, in 26 patients- 2 procedures, and in 2 patients — 3 procedures.

Statistical analysis was performed using the program «Statistica 6.1» with the calculation of statistical significance by Student's t-test. Statistical differences were considered significant at $p < 0.05$.

Results and Discussion

LPS-adsorption with cartridge with immobilized Polymyxin B showed no adverse events.

Analysis of the conducted clinical and laboratory study has shown that the inclusion of selective LPS-adsorption in a set of intensive treatment optimized the flow pattern of generalized inflammation. In the main group, where the intensive treatment of sepsis included selective LPS-adsorption, earlier and the apparent regression of clinical and laboratory manifestations of generalized inflammation compared with those recorded in the control group was observed.

After completion of the selective LPS-adsorption program in 28 of 32 patients there was optimization of the clinical course of generalized inflammation: regression of hyperthermia, statistically significant lowering of leukocytes and neutrophils in the peripheral blood, improvement of blood biochemical parameters. In 29 of 32 patients the normalization of PCT levels and the reduction of endotoxin activity were noticed. EA values in these patients were less than 0.4 units. Statistically significant decrease of these parameters was observed only in 3 of 15 patients in the control group. In other 12 patients from the control group the levels of PCT and EA determined at the same study day had no significant changes from baseline values. After the final procedure of LPS-adsorption a significant improvement in hemodynamic parameters was observed in case of lower levels of EA. Against the background of inclusion of LPS-adsorption in complex of intensive treatment in 6 of 13 patients there was a reduction of more than 20% of the demand in vasopressor support in connection with the optimization of hemodynamic profile. Indicators of mean arterial pressure and heart rate changed respectively from 70.21 ± 1.77 mmHg and 108.21 ± 11.71 beats per min to 85.07 ± 3.22 mmHg and 76.25 ± 11.71 beats per min ($p < 0.05$). White blood cell count and the percentage of neutrophils decreased respectively from $17.6 \pm 6.17 \times 10^9 / L$ and $86.4 \pm 3.7\%$ to $6.9 \pm 2.1 \times 10^9 / L$ and $66.4 \pm 3.3\%$ ($p < 0.05$). In the control group during the study day no statistically significant changes were recorded. After the final procedure of sorption therapy in 15 of 26 patients with severe sepsis and MOF there was no need in further intensive care. At the same time a decrease in SOFA delta-score by 3.6 points after 72 hours was registered. In patients of control group the delta of this indicator after 72 hours was lower in comparison with the results obtained in main study group, and was 2.1 points ($p < 0,05$).

According to a trend, 28-day-long mortality in main group was more optimistic than in control study group. Only 8 of the 32 patients died in the main study group, whereas 8 out of 15 patients died in the control

регресс гипертермии, статистически значимое снижение уровня лейкоцитов и нейтрофилов в периферической крови, улучшение биохимических показателей крови. В 29 из 32 случаев регистрировали нормализацию уровня РСТ и снижение уровня активности эндотоксина. Показатели АЭ у этих больных были ниже 0,4 ед. У больных контрольной группы только в 3 из 15 наблюдений отмечали статистически значимые снижение этих показателей. У 12 из 15 больных контрольной группы уровни РСТ и АЭ в те же сутки исследования существенных изменений по сравнению с исходными значениями не имели. После заключительной процедуры ЛПС-адсорбции при снижении значений АЭ наблюдали существенное улучшение гемодинамических показателей. На фоне включения в комплекс интенсивного лечения ЛПС-адсорбции у 6 из 13 больных отмечено снижение более чем на 20% потребности в вазопрессорной поддержке в связи с оптимизацией «гемодинамического профиля». Показатели среднего артериального давления и ЧСС изменились соответственно от $70,21 \pm 1,77$ мм рт. ст. и $108,21 \pm 11,71$ уд. в мин. до $85,07 \pm 3,22$ мм рт. ст. и $76,25 \pm 11,71$ уд. в мин. ($p < 0,05$). Количество лейкоцитов и процентного содержания нейтрофилов уменьшилось соответственно от $17,6 \pm 6,17 \times 10^9$ /л и $86,4 \pm 3,7\%$ до $6,9 \pm 2,1 \times 10^9$ /л и $66,4 \pm 3,3\%$ ($p < 0,05$). В контрольной группе в данные сутки исследования статистически значимых изменений не регистрировали. После заключительной процедуры сорбционной терапии у 15 из 26 больных тяжелым сепсисом и ПОН необходимости в дальнейшем проведении органозаместительной терапии не было. При этом регистрировали снижение дельта оценки по шкале SOFA на 3,6 баллов за 72 часа. У больных контрольной группы дельта этого показателя за 72 часа была ниже в сравнении с результатами, полученными в основной группе исследования, и составила 2,1 балла ($p < 0,05$).

Показатель 28-дневной летальности у больных основной группы был более оптимистичен в сравнении с контрольной группой исследования. В основной группе исследования умерли 8 из 32 больных, в контрольной — 8 из 15 больных. Взаимосвязи летального исхода сепсиса с выявленной при микробиологическом исследовании микрофлорой не было. Следует также отметить, что среднегодовая летальность у больных гнойно-септическими осложнениями, лечение кото-

group of people. There was no relationship between sepsis lethal outcome and microbial population identified in microbiological research. It should also be noted that the average annual mortality rate in patients with purulent-septic complications, who received treatment without the use of LPS-adsorption, was 46.9% (15 of 32 people died). Our results are consistent with those of published studies from the world literature that also showed a positive trend toward a more favorable outcome in a cohort of patients with severe sepsis, who were receiving hemoperfusion therapy with Polymyxin B [18, 19].

Conclusion

Inclusion of the LPS-adsorption method in the intensive care complex treatment option for gram-negative sepsis is pathogenically justified and might effectively arrest the manifestation of systemic exposure to the bacterial endotoxin. Early and timely application of the LPS-adsorption method provides inhibition of initiation stimuli; it prevents the progression of sepsis, development of severe sepsis and septic shock, improves treatment outcomes during in-hospital period in cancer patients.

рым проводили без применения ЛПС-адсорбции, составила 46,9% (умерли 15 из 32 человек). Полученные нами результаты согласуются с данными мировой литературы, свидетельствующей о более благоприятных исходах в популяции больных тяжелым сепсисом, которым была применена гемоперфузионная терапия с полимиксином В [18, 19].

Выводы

Включение в комплекс интенсивной терапии граммотрицательного сепсиса метода ЛПС-адсорбции обеспечивает ингибирование иницирующего стимула генерализованного воспаления, что позволило более эффективно в сравнении с традиционным комплексом интенсивного лечения купировать проявления системного воздействия бактериального эндотоксина, предупредить прогрессирование септического процесса, улучшить результаты лечения госпитального периода онкологических больных.

Литература

1. Белобородова Н.В. Интеграция метаболизма человека и его микробиома при критических состояниях. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (4): 42–54. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-4-42>
2. Млинник Р.А., Военнов О.В. Влияние методов детоксикации на газообменную функцию легких у пациентов с распространенным перитонитом. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (2): 38–42. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-2-38>
3. Мороз В.В., Кузовлев А.Н., Половников С.Г., Стец В.В., Варварин В.В. Ингаляционный тобрамицин в лечении тяжелых нозокомальных пневмоний. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (2): 5–10. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-2-5>
4. Шабанов А.К., Хубутия М.Ш., Булава Г.В., Белобородова Н.В., Кузовлев А.Н., Гребенчиков О.А., Косолапов Д.А., Шпитонков М.И. Динамика уровня прокальцитонина при развитии нозокомальной пневмонии у пострадавших с тяжелой сочетанной травмой в отде-

References

1. Beloborodova N.V. Integratsiya metabolizma cheloveka i ego mikrobioma pri kriticheskikh sostoyaniyakh. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Integration of metabolism in man and his microbiome in critical conditions. *General Reanimatology*]. 2012; 8 (4): 42–54. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-4-42>. [In Russ.]
2. Mlinnik R.A., Voennov O.V. Vliyanie metodov detoksikatsii na gazoobmennuyu funktsiyu legkikh u patientsov s rasprostranennym peritonitom. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Impact of detoxification techniques on pulmonary gas exchange function in patients with generalized peritonitis. *General Reanimatology*]. 2012; 8 (2): 38–42. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-2-38>. [In Russ.]
3. Moroz V.V., Kuzovlev A.N., Polovnikov S.G., Stets V.V., Varvarin V.V. Ingalyatsionnyi tobramitsin v lechenii tyazhelykh nozokomialnykh pnevmonii. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Inhaled tobramycin in the treatment of severe nosocomial pneumonias. *General Reanimatology*]. 2012; 8 (2): 5–10. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-2-5>. [In Russ.]

Extracorporeal Detoxification In Sepsis

- лени реанимации. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (5): 11–17. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-5-11>
5. Karlsson S, Varpula M, Ruokonen E, Pettilä V, Parviainen I, Ala-Kokko T.I., Kolho E., Rintala E.M. Incidence, treatment, and outcome of severe sepsis in ICU-treated adults in Finland: the Finnsepsis study. *Intensive Care Med*. 2007; 33 (3): 435–443. <http://dx.doi.org/10.1007/s00134-006-0504-z>. PMID: 17225161
 6. Blanco J., Muriel-Bombín A., Sagredo V., Taboada F., Gandía F., Tamayo L., Collado J., García-Labattut A., Carriedo D., Valledor M., De Frutos M., López M.J., Caballero A., Guerra J., Alvarez B., Mayo A., Villar J.; Grupo de Estudios y Análisis en Cuidados Intensivos. Incidence, organ dysfunction and mortality in severe sepsis: a Spanish multicentre study. *Crit. Care*. 2008; 12 (6): R158. <http://dx.doi.org/10.1186/cc7157>. PMID: 19091069
 7. Hexaев И.В. Сепсис в торакоабдоминальной хирургии. М.: АБВ-пресс; 2011: 6–16.
 8. Страчунский Л.С., Белоусов Ю.Б., Козлов С.Н. Практическое руководство по антибактериальной терапии. М.; 2013.
 9. Анисимова Н.Ю., Киселевский М.В., Громова Е.Г., Кузнецова Л.С. Селективная и неселективная гемосорбция в интенсивной терапии онкологических больных с тяжелым сепсисом. *Медицинский алфавит*. 2011; 4 (18): 29–33.
 10. Sevin B.U., Ramos R., Lichtinger M., Girtanner R.E., Azerette H.E. Antibiotic prevention of infections complicating radical abdominal hysterectomy. *Obstet. Gynecol*. 1984; 64 (4): 539–545. PMID: 6384850
 11. Савельев В.С., Гельфанд Б.Р., Гологорский В.А. Сепсис в хирургии: состояние проблемы. *Врач*. 2000; 10: 3–7.
 12. Ince C. The microcirculation is the motor of sepsis. *Crit. Care*. 2005; 9 (Suppl 4): S13–S19. PMID: 16168069
 13. Mizock B.A. Redox pairs, tissue hypoxia, organ dysfunction, and mortality. *Crit. Care Med*. 2002; 28 (1): 270–272. <http://dx.doi.org/10.1097/00003246-200001000-00056>. PMID: 10667546
 14. Bhor V.M., Thomas C.J., Surolia N., Surolia A. Polymyxin B: an ode to an oldantidote for endotoxin shock. *Mol. Biosyst*. 2005; 1 (3): 213–222. PMID: 16880985
 15. Akira S., Takeda K. Toll-like receptor signaling. *Nat. Rev. Immunol*. 2004; 4 (7): 499–511. <http://dx.doi.org/10.1038/nri1391>. PMID: 15229469
 16. Takeda K. Evolution and integration of innate immune recognition systems: the Toll-like receptors. *J. Endotoxin. Res*. 2005; 11 (1): 51–55. <http://dx.doi.org/10.1177/09680519050110011101>. PMID: 15826379
 17. Marshall J.C., Foster D., Vincent J.L., Cook D.J., Cohen J., Dellinger R.P., Opal S., Abraham E., Brett S.J., Smith T., Mehta S., Derzko A., Romaschin A.; MEDIC study. Diagnostic and prognostic implications of endotoxemia in critical illness: results of the MEDIC study. *J. Infect. Dis*. 2004; 190 (3): 527–534. <http://dx.doi.org/10.1086/422254>. PMID: 15243928
 18. Cruz D.N., Perazella M.A., Bellomo R., de Cal M., Polanco N., Corradi V., Lentini P., Nalesso F., Ueno T., Ranieri V.M., Ronco C. Effectiveness of polymyxin B-immobilized fiber column in sepsis: a systematic review. *Crit. Care*. 2007; 11 (2): R47. PMID: 17448226
 19. Cruz D.N., Antonelli M., Fumagalli R., Foltran F., Brienza N., Donati A., Malcangi V., Petrini F., Volta G., Bobbio Pallavicini F.M., Rottoli F., Giunta F., Ronco C. Early use of polymyxin B-hemoperfusion in abdominal septic shock: the EUPHAS randomized controlled trial. *JAMA*. 2009; 301 (23): 2445–2452. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2009.856>. PMID: 19531784
 20. Nakamura T., Matsuda T., Suzuki Y., Shoji H., Koide H. Polymyxin B-immobilized fiber hemoperfusion in patients with sepsis. *Dial. Transplant*. 2003; 32: 602–607.
 21. Nemoto H., Nakamoto H., Okada H., Sugahara S., Moriwaki K., Arai M., Kanno Y., Suzuki H. Newly developed immobilized polymyxin B fibers improve the survival of patients with sepsis. *Blood Purif*. 2001; 19 (4): 361–368. <http://dx.doi.org/10.1159/000046966>. PMID: 11574732
 22. Dellinger R.P., Levy M.M., Rhodes A., Annane D., Gerlach H., Opal S.M., Sevransky J.E., Sprung C.L., Douglas I.S., Jaeschke R., Osborn T.M., Nunnally M.E., Townsend S.R., Reinhart K., Kleinpell R.M., Angus D.C., Deuschman C.S., Machado F.R., Rubenfeld G.D., Webb S.A., Beale R.J., Vincent J.L., Moreno R.; Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including the Pediatric Subgroup. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit. Care Med*. 2013; 41 (2): 580–637. <http://dx.doi.org/10.1097/CCM.0b013e31827e83af>. PMID: 23353941
 23. Romaschin A.D., Harris D.M., Ribeiro M.B., Paice J., Foster D.M., Walker P.M., Marshall J.C. A rapid assay of endotoxin in whole blood using autologous neutrophil-dependent chemiluminescence. *J. Immunol. Methods*. 1998; 212 (2): 169–185. [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-1759\(98\)00003-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-1759(98)00003-9). PMID: 9672205
 4. Shabanov A.K., Khubutiya M.Sh., Bulava G.V., Beloborodova N.V., Kuzovlev A.N., Grebenchikov O.A., Kosolapov D.A., Shpitionkov M.I. Dinamika urovnya prokaltsitonina pri razvitiy nozokomialnoi pnevmonii u posttravdavshikh s tyazheloi sochetannoi travmoi v otdelenii reanimatsii. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Time course of changes in the level of procalcitonin in the development of nosocomial pneumonia in victims with severe concomitant injury in an intensive care unit. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (5): 11–17. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-5-11>. [In Russ.]
 5. Karlsson S, Varpula M, Ruokonen E, Pettilä V, Parviainen I, Ala-Kokko T.I., Kolho E., Rintala E.M. Incidence, treatment, and outcome of severe sepsis in ICU-treated adults in Finland: the Finnsepsis study. *Intensive Care Med*. 2007; 33 (3): 435–443. <http://dx.doi.org/10.1007/s00134-006-0504-z>. PMID: 17225161
 6. Blanco J., Muriel-Bombín A., Sagredo V., Taboada F., Gandía F., Tamayo L., Collado J., García-Labattut A., Carriedo D., Valledor M., De Frutos M., López M.J., Caballero A., Guerra J., Alvarez B., Mayo A., Villar J.; Grupo de Estudios y Análisis en Cuidados Intensivos. Incidence, organ dysfunction and mortality in severe sepsis: a Spanish multicentre study. *Crit. Care*. 2008; 12 (6): R158. <http://dx.doi.org/10.1186/cc7157>. PMID: 19091069
 7. Nekhaev I.V. Sepsis v torakoabdominalnoi khirurgii. [Sepsis in thoracoabdominal surgery]. Moscow: ABV-press; 2011: 6–16. [In Russ.]
 8. Strachunsky L.S., Belousov Yu.B., Kozlov S.N. Prakticheskoe rukovodstvo po antibakterialnoi terapii. [Practice guidelines for antibacterial therapy]. Moscow; 2013. [In Russ.]
 9. Anisimova N.Yu., Kiselevskiy M.V., Gromova E.G., Kuznetsova L.S. Selektivnaya i neselektivnaya gemosorbtsiya v intensivnoi terapii onkologicheskikh bolnykh s tyazhelym sepsisom. [Selective and nonselective hemodesorption during intensive care of cancer patients with severe sepsis]. *Meditsinsky Alfavit*. 2011; 4 (18): 29–33. [In Russ.]
 10. Sevin B.U., Ramos R., Lichtinger M., Girtanner R.E., Azerette H.E. Antibiotic prevention of infections complicating radical abdominal hysterectomy. *Obstet. Gynecol*. 1984; 64 (4): 539–545. PMID: 6384850
 11. Savelyev V.S., Gelfand B.R., Gologorsky V.A. Sepsis v khirurgii: sostoyaniye problemy. [Sepsis in surgery: state-of-the-art]. *Vrach*. 2000; 10: 3–7. [In Russ.]
 12. Ince C. The microcirculation is the motor of sepsis. *Crit. Care*. 2005; 9 (Suppl 4): S13–S19. PMID: 16168069
 13. Mizock B.A. Redox pairs, tissue hypoxia, organ dysfunction, and mortality. *Crit. Care Med*. 2002; 28 (1): 270–272. <http://dx.doi.org/10.1097/00003246-200001000-00056>. PMID: 10667546
 14. Bhor V.M., Thomas C.J., Surolia N., Surolia A. Polymyxin B: an ode to an oldantidote for endotoxin shock. *Mol. Biosyst*. 2005; 1 (3): 213–222. PMID: 16880985
 15. Akira S., Takeda K. Toll-like receptor signaling. *Nat. Rev. Immunol*. 2004; 4 (7): 499–511. <http://dx.doi.org/10.1038/nri1391>. PMID: 15229469
 16. Takeda K. Evolution and integration of innate immune recognition systems: the Toll-like receptors. *J. Endotoxin. Res*. 2005; 11 (1): 51–55. <http://dx.doi.org/10.1177/09680519050110011101>. PMID: 15826379
 17. Marshall J.C., Foster D., Vincent J.L., Cook D.J., Cohen J., Dellinger R.P., Opal S., Abraham E., Brett S.J., Smith T., Mehta S., Derzko A., Romaschin A.; MEDIC study. Diagnostic and prognostic implications of endotoxemia in critical illness: results of the MEDIC study. *J. Infect. Dis*. 2004; 190 (3): 527–534. <http://dx.doi.org/10.1086/422254>. PMID: 15243928
 18. Cruz D.N., Perazella M.A., Bellomo R., de Cal M., Polanco N., Corradi V., Lentini P., Nalesso F., Ueno T., Ranieri V.M., Ronco C. Effectiveness of polymyxin B-immobilized fiber column in sepsis: a systematic review. *Crit. Care*. 2007; 11 (2): R47. PMID: 17448226
 19. Cruz D.N., Antonelli M., Fumagalli R., Foltran F., Brienza N., Donati A., Malcangi V., Petrini F., Volta G., Bobbio Pallavicini F.M., Rottoli F., Giunta F., Ronco C. Early use of polymyxin B-hemoperfusion in abdominal septic shock: the EUPHAS randomized controlled trial. *JAMA*. 2009; 301 (23): 2445–2452. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2009.856>. PMID: 19531784
 20. Nakamura T., Matsuda T., Suzuki Y., Shoji H., Koide H. Polymyxin B-immobilized fiber hemoperfusion in patients with sepsis. *Dial. Transplant*. 2003; 32: 602–607.
 21. Nemoto H., Nakamoto H., Okada H., Sugahara S., Moriwaki K., Arai M., Kanno Y., Suzuki H. Newly developed immobilized polymyxin B fibers improve the survival of patients with sepsis. *Blood Purif*. 2001; 19 (4): 361–368. <http://dx.doi.org/10.1159/000046966>. PMID: 11574732
 22. Dellinger R.P., Levy M.M., Rhodes A., Annane D., Gerlach H., Opal S.M., Sevransky J.E., Sprung C.L., Douglas I.S., Jaeschke R., Osborn T.M., Nunnally M.E., Townsend S.R., Reinhart K., Kleinpell R.M., Angus D.C., Deuschman C.S., Machado F.R., Rubenfeld G.D., Webb S.A., Beale R.J., Vincent J.L., Moreno R.; Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including the Pediatric Subgroup. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit. Care Med*. 2013; 41 (2): 580–637. <http://dx.doi.org/10.1097/CCM.0b013e31827e83af>. PMID: 23353941
 23. Romaschin A.D., Harris D.M., Ribeiro M.B., Paice J., Foster D.M., Walker P.M., Marshall J.C. A rapid assay of endotoxin in whole blood using autologous neutrophil-dependent chemiluminescence. *J. Immunol. Methods*. 1998; 212 (2): 169–185. [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-1759\(98\)00003-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-1759(98)00003-9). PMID: 9672205

Поступила 16.04.14

Submitted 16.04.14