

## ДИАГНОСТИКА СЕПСИСА РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОЦЕНКИ CD64 НА НЕЙТРОФИЛАХ И ПРОКАЛЬЦИТОНИНА

© 2017 г. А.А. Калашникова, Т.М. Ворошилова, М.Ю. Фролова

ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова»  
Министерства Российской Федерации по делам гражданской обороны, чрезвычайным ситуациям  
и ликвидации последствий стихийных бедствий, отдел лабораторной диагностики

Поступила: 21.09.2016. Принята: 22.11.2016

Приведены результаты исследований концентраций прокальцитонина и относительного количества и плотности экспрессии CD64 на нейтрофилах у пациентов с сепсисом, вызванным грамотрицательными, грамположительными бактериями и грибами рода *Candida*. Наиболее выраженное повышение относительного количества CD64<sup>+</sup> нейтрофилов и плотности экспрессии этого маркера отмечалось у пациентов с грамотрицательным и грибковым сепсисом. При относительном количестве CD64<sup>+</sup> нейтрофилов более 83% вероятность грамотрицательного или кандидозного сепсиса определяется с чувствительностью 87%, специфичностью 81%. Определена прямая корреляционная зависимость между уровнем прокальцитонина и nCD64. Уровень прокальцитонина в сыворотке пациентов с сепсисом также отличался в зависимости от возбудителей: максимальные концентрации определялись при сепсисе, вызванном грамотрицательными бактериями, тогда как при грамположительном и кандидозном сепсисе повышение прокальцитонина было менее выражено. nCD64 является высоко чувствительным и специфичным маркером бактериальной и грибковой инфекции и может быть использован для оценки эффективности терапии. Определение уровня экспрессии nCD64 позволяет диагностировать сепсис, вызванный грамотрицательными бактериями, и сепсис, вызванный грибами рода *Candida*.

**Ключевые слова:** сепсис, CD64, прокальцитонин

### ВВЕДЕНИЕ

В течение последних лет в ряде зарубежных работ было предложено определение экспрессии нейтрофилами CD64 (nCD64) для ранней диагностики бактериальной инфекции

и сепсиса [1, 2, 3]. CD64 – высокоаффинный рецептор к IgG – не экспрессируется в норме зрелыми нейтрофилами крови. Появление в кровотоке ЛПС, продуктов расщепления компонентов комплемента, провоспалительных цитокинов и активация эндотелия сосудов приводит к быстрому повышению экспрессии CD64 на нейтрофилах [3]. Li S. с соавторами (2013) проанализировали 26 исследований, включавших около 4 тыс. человек, и определили чувствительность (76%) и специфичность (85%) метода для диагностики сепсиса [4]. Динамичность этого показателя позволяет использовать его как для ранней диагностики сепсиса [5], так и для оценки эффективности терапии [6]. При эффективной антибиотикотерапии уровень экспрессии nCD64 снижается в течение суток и опережает улучшение клинической симптоматики у септических больных в течение последующих 2–3 дней [2].

В лабораторной практике возможно определение как относительного количества CD64<sup>+</sup>

**Адрес:** 197345 Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д. 54, ФГБУ ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова МЧС России. Калашникова Анастасия Андреевна. Тел. +79218642386 (моб).  
**E-mail:** petkova\_nas@mail.ru

#### Авторы:

**Калашникова А. А.**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии ФГБУ ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург, Россия;

**Ворошилова Т. М.**, зав. лабораторией бактериологических исследований ФГБУ ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург, Россия;

**Фролова М. Ю.**, к.б.н., старший научный сотрудник, зав. лабораторией клинической химии ФГБУ ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург, Россия.

**Таблица 1.** Характеристика групп «грамотрицательный сепсис», «грамположительный сепсис», «кандидозный сепсис»

Группа	Число пациентов	Число наблюдений	Возраст, лет	Органная дисфункция, баллы	Возбудитель
«Грамотрицательный сепсис»	11	50	57,9 ± 11,6	9,4 ± 2,1	<i>P. aeruginosa</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>A. baumannii</i>
«Грамположительный сепсис»	11	16	56,2 ± 12,3	9,3 ± 2,4	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermis</i> , <i>S. haemolyticus</i> <i>C. amycolatum</i> <i>E. faecium</i>
«Кандидозный сепсис»	3	15	83,7 ± 4,4	10,0 ± 1,6	<i>C. glabrata</i> <i>C. tropicalis</i> <i>C. famata</i>

нейтрофилов, так и плотности экспрессии этого маркера. Наименее удобным способом оценки плотности экспрессии нейтрофилами CD64 является использование величины средней интенсивности флуоресценции (MFI) положительного пика, что связано с трудностями стандартизации межлабораторных результатов. Для стандартизации метода был разработан коммерческий набор реагентов, включающий специальные частицы со стандартным числом молекул флюорохромов. При использовании такого набора плотность экспрессии оценивается по расчетному индексу, учитывающему среднюю интенсивность флуоресценции пика клеток, связавшихся с антителами к CD64, и среднюю интенсивность флуоресценции частиц. Включение в состав набора частиц и программы расчета индекса плотности экспрессии CD64 привело к высокой себестоимости исследования, что затрудняет его использование для мониторинга состояния пациентов с тяжелыми бактериальными инфекциями и сепсисом. В нашем исследовании используется методика оценки плотности экспрессии CD64 по расчетному индексу, учитывающему среднюю интенсивность флуоресценции пика клеток, связавшихся с антителами к CD64, и среднюю интенсивность флуоресценции пика негативного контроля – клеток, связавшихся с изоспецифическими антителами.

Несмотря на то, что определение nCD64 широко используется для диагностики бактериальных инфекций и сепсиса, существуют заметные различия в оценке диагностической значимости теста, связанные с отличиями как между способами оценки уровня nCD64, так и между выбранными исследователями пороговыми значениями (cut-off). Кроме того, как

правило, не учитывается природа возбудителей бактериальных инфекций.

**Цель работы:** оценить диагностическую значимость определения относительного количества нейтрофилов, экспрессирующих CD64, и плотности экспрессии этого маркера в диагностике сепсиса в зависимости от природы возбудителя и в сравнении с прокальцитонином.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Обследованные лица

В динамике наблюдали пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии ФГБУ Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А. М. Никифорова МЧС России. Исследовали периферическую кровь, взятие которой осуществлялось от 1 до 15 раз в зависимости от длительности пребывания пациента в отделении.

Диагноз «сепсис» устанавливался в соответствии с клиническими критериями (ACCP/SCCM Consensus Conference committee, 1992). Во всех случаях клинический диагноз был подтвержден положительными результатами бактериологических посевов крови.

В зависимости от этиологии микроорганизмов были выделены группы: «грамотрицательный сепсис», «грамположительный сепсис», «кандидозный сепсис» (табл. 1). Оценку органной дисфункции проводили в баллах по шкале SOFA.

У 8 человек группы «грамотрицательный сепсис» (15 наблюдений) отмечалось развитие септического шока.

Обследования включали: бактериологический посев, определение концентрации прокальцитонина, определение относительного количества нейтрофилов, экспрессирующих CD64 и определение плотности экспрессии CD64 на нейтрофилах.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета программ Statistica 5.0. Для расчета взаимосвязей использовали непараметрический корреляционный анализ по Спирмену. Для сравнения групп использовали критерий Манна-Уитни. Для определения точек cut-off, чувствительности и специфичности метода проводили ROC-анализ.

#### *Бактериологический посев*

Сбор материала проводили стандартными методами: кровь засеивали на две пары флаконов Bact/Alert 3D (БиоМерье, Франция), инкубировали. Выделенные микроорганизмы идентифицировали с использованием бактериологического анализатора VITEK2 (БиоМерье, Франция), определение чувствительности к антибактериальным препаратам проводили автоматическим методом, применяя соответствующие карты.

#### *Определение сывороточной концентрации прокальцитонина*

Полуколичественное определение прокальцитонина пациентам группы «сепсис» проводили методом иммунохроматографии с использованием тест-систем BRAHMS PCT-Q (Thermo scientific). Значимыми уровнями концентрации являлись:  $<0,5$  нг/мл,  $\geq 0,5$  нг/мл,  $\geq 2$  нг/мл,  $\geq 10$  нг/мл.

#### *Определение относительного количества CD64<sup>+</sup> нейтрофилов*

Кровь брали из локтевой вены, в качестве антикоагулянта использовали ЭДТА. Для обследования каждого пациента готовили 2 пробирки. В первую вносили 50 мкл крови и антитела IgG1FITC, CD14PE, CD16PC5, CD45PC7, во вторую – 50 мкл крови и антитела CD64FITC, CD14PE, CD16PC5, CD45PC7 (Beckman Coulter, США). Инкубировали 15 мин в темноте. Для лизиса эритроцитов использовали VersaLyse по 500 мкл в каждую пробирку, инкубировали 15 мин в темноте. Пробы однократно отмывали фосфатно-солевым буфером в течение 10 мин при 1500 об/мин. В пробирку вносили по 250 мкл фосфатно-солевого буфера и анализировали на проточном цитофлюориметре Navios (Beckman Coulter, США). Для определения

целевой популяции использовали многоэтапное гейтирование. Популяцию нейтрофилов определяли как CD45<sup>+</sup>dimSSCbrightCD16<sup>+</sup> клетки. Накапливали до 20000 событий в регионе целевой популяции. Первая пробирка использовалась для оценки неспецифического связывания с антителами (негативный контроль). Анализ второй пробирки позволял оценить относительное количество CD64<sup>+</sup> нейтрофилов от их общей популяции. В качестве внутреннего позитивного контроля использовали популяцию моноцитов (CD14<sup>+</sup>SSCdim клетки), конститутивно экспрессирующих CD64.

#### *Определение плотности экспрессии CD64 на нейтрофилах*

Плотность экспрессии CD64 на нейтрофилах оценивали с использованием расчетного индекса РИ, который определяли как частное от деления средней интенсивности флуоресценции (MFI) нейтрофилов после связывания с моноклональными антителами к CD64 на среднюю интенсивность флуоресценции негативного контроля:  $РИ = MFI_{CD64^+} / MFI_k$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### *nCD64*

В табл. 2 представлены результаты исследования относительного количества CD64<sup>+</sup> нейтрофилов и плотности экспрессии этого маркера у пациентов с сепсисом различной этиологии.

У пациентов с грамположительным сепсисом отмечалось наименее выраженное повышение относительного количества nCD64 и плотности экспрессии этого маркера (табл. 2). У пациентов группы «кандидозный сепсис» относительное количество нейтрофилов, экспрессирующих CD64, и плотность экспрессии CD64 достоверно превышало таковые у пациентов с сепсисом, вызванным грамположительными бактериями ( $p < 0,001$ ).

Максимальные значения относительного количества nCD64 и плотности экспрессии этого маркера отмечались у пациентов с граммотрицательным сепсисом, они статистически достоверно превышали показатели группы «грамположительный сепсис» ( $p < 0,001$ ). Случаи развития септического шока отмечались только в этой группе больных, при этом относительное количество CD64<sup>+</sup> нейтрофилов превышало 98% с плотностью экспрессии более 8,1.

На основании анализа полученных результатов были определены пороговые значения

**Таблица 2.** Изменение относительного количества CD64<sup>+</sup> нейтрофилов и плотности экспрессии этого маркера у обследованных лиц.

Группа	CD64 <sup>+</sup> нейтрофилы (%) среднее ± среднее отклонение, 1 и 3 квартили	Плотность экспрессии CD64 (PI) среднее ± среднее отклонение, 1 и 3 квартили
«Грамположительный сепсис»	60,5 ± 18,6*** 43,6–76,0	3,1 ± 1,2*** 2,0–3,8
«Кандидозный сепсис»	85,1 ± 14,7** 85,3–99,7	5,6 ± 2,3** 3,5–7,5
«Грамотрицательный сепсис»	93,7 ± 5,83* 93,4–99,5	7,5 ± 3,6* 4,1–8,3

Примечание: \*, \*\*, статистически достоверные отличия между группами (p<0,001).

(cut-off) nCD64 для диагностики сепсиса, вызванного грамотрицательной микрофлорой или грибами рода *Candida*. При относительном количестве CD64<sup>+</sup> нейтрофилов более 83% вероятность грамотрицательного или кандидозного сепсиса определяется с чувствительностью 87%, специфичностью 81%.

#### nCD64 и прокальцитонин

У пациентов с сепсисом, вызванным грамотрицательными бактериями, в 60% случаев отмечались максимальные концентрации прокальцитонина – более 2 нг/мл (рис. 1). У пациентов с грамположительным и кандидозным сепсисом в половине и более случаев отмечалось умеренное повышение прокальцитонина в диапазоне от 0,5 до 2 нг/мл. В группах «грамположительный сепсис» и «кандидозный сепсис» в 25 и 22% случаев соответственно концентрации прокальцитонина сохранились

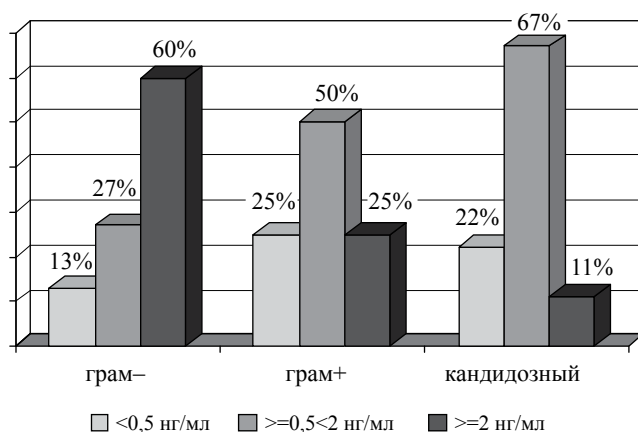
в пределах нормальных значений. Таким образом, определение прокальцитонина наиболее информативно для диагностики сепсиса, вызванного грамотрицательными бактериями.

Определена прямая корреляционная зависимость между содержанием прокальцитонина в сыворотке и показателями экспрессии CD64 нейтрофилами крови (p<0,05). Вместе с тем при кандидозном сепсисе показатели nCD64 преобладали более выраженные изменения, чем прокальцитонин.

Изучение динамики изменений уровня прокальцитонина и nCD64 показало, что относительное количество нейтрофилов, экспрессирующих CD64, и плотность экспрессии CD64 являются более лабильными показателями, снижаясь в течение суток при эффективной санации очага воспаления и корректной антибиотикотерапии.

## ОБСУЖДЕНИЕ

При бактериальной инфекции основными клетками-эффекторами являются гемопоэтические клетки: популяции лейкоцитов и подвижные макрофаги воспалительного очага [7]. Взаимодействие Toll-подобных рецепторов (TLR) иммунокомпетентных клеток с бактериальными патогенассоциированными паттернами (PAMP) приводит к синтезу большого спектра цитокинов. Такие цитокины, как G-CSF и IFN $\gamma$  способны индуцировать транскрипцию гена Fc gamma RI в нейтрофилах путем связывания транскрипционных факторов STAT1 и STAT3 с регуляторным элементом промотора этого гена GRR [8, 9]. Увеличение сывороточных концентраций других провоспалительных цитокинов (TNF $\alpha$ , IL-8, IL-12) также приводит к росту экспрессии CD64 на моноцитах и нейтрофилах. Наименее выраженное повышение



**Рис. 1.** Частота встречаемости различных концентраций прокальцитонина в сыворотке пациентов групп «грамотрицательный сепсис», «грамположительный сепсис» и «кандидозный сепсис».

в периферической крови относительного количества нейтрофилов, экспрессирующих CD64, отмечается при вирусной инфекции [10] или аутоиммунном воспалении [11] (в последнем случае в качестве лигандов TLR4 выступают эндогенные DAMP). Более выраженное повышение доли CD64<sup>+</sup> нейтрофилов – при локальных бактериальных инфекциях [12, 13], максимальное – при тяжелых бактериальных инфекциях и сепсисе [3].

«Прорыв» воспалительных медиаторов и бактериальных паттернов в системный кровоток приводит к системной воспалительной реакции с вовлечением эндотелия и макрофагов-резидентов микрососудов паренхиматозных органов [7]. Экспрессия эндотелиоцитами TLR4 делает возможным его активацию соответствующими PAMP, главным образом, липополисахаридами грамотрицательных бактерий, маннаном и бета-глюканом *Candida*. В работе В. Mc-Donald с соавторами (2013) показана важная роль TLR4-опосредованной активации эндотелия в привлечении нейтрофилов в синусоиды печени при введении ЛПС в системный кровоток мышей [14]. Активация TLR4 эндотелия PAMP при бактериальной инфекции или DAMP при асептическом воспалении приводит к экспрессии эндотелиоцитами TLR2 [15], распознающим основной мембранный антиген грамположительных бактерий – липотейхоевую кислоту. Активированному васкулярному эндотелию принадлежит центральная роль в инициации и регуляции системного воспалительного ответа при эндотоксемии и бактериальном сепсисе [16, 17]. Эндотелиоциты, активированные вследствие взаимодействия TLR4 с ЛПС, становятся основными продуцентами G-CSF [18] – ключевого цитокина гранулопоэза, индуцирующего пролиферацию и созревание миелоидного ростка в костном мозге и экспрессию CD64 на нейтрофилах периферической крови. Среди нейтрофилов, образующих монослой на активированном эндотелии преобладают CD64<sup>+</sup> клетки [19]. Отмеченное нами более выраженное повышение экспрессии CD64 нейтрофилами периферической крови при грамотрицательном и грибковом сепсисе по сравнению с грамположительным сепсисом, возможно, связано со способностью компонентов клеточных стенок грамотрицательных бактерий и *Candida* активировать эндотелий, связываясь с TLR4. Достоверные отличия в способности грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов стимулировать экспрессию nCD64 описаны в ряде исследований

[11, 13]. Результаты работы Nguen Q. T. с соавторами (2013) позволили высказать предположение о том, что при грамотрицательной инфекции нейтрофилы активируются сильнее, чем при грамположительной [20].

Выявленные нами различия в сывороточных концентрациях прокальцитонина при сепсисе различной этиологии согласуются с результатами ряда исследователей [21, 22]. Менее выраженное повышение прокальцитонина у пациентов с кандидемией по сравнению с бактериемией отмечено в работе Charles P. E. и соавторов (2006) [23]. Leli C. с соавторами (2015) были предложены пороговые значения концентрации прокальцитонина для дифференциальной диагностики сепсиса, вызванного грамотрицательными бактериями, от грамположительного сепсиса (cut-off 10,8 нг/мл) и кандидозного сепсиса (cut-off 1,6 нг/мл) [22]. В нашем исследовании получены сходные результаты.

В литературе имеются сообщения о том, что, помимо nCD64 и прокальцитонина, при грамотрицательном сепсисе отмечаются более высокие сывороточные концентрации С-реактивного белка и IL-6 [24]. По-видимому, особенности строения клеточных стенок микроорганизмов и спектра бактериальных токсинов приводят к различиям в преобладающем иммунном ответе на грамотрицательную, грамположительную и грибковую микрофлору, а именно LPS грамотрицательных бактерий является наиболее сильным активатором клеток врожденного иммунитета и индуктором синтеза медиаторов воспаления – цитокинов и острофазных белков.

Особенность грамположительных бактерий в меньшей степени активировать иммунокомпетентные клетки макроорганизма приводит к затруднениям в диагностике грамположительного сепсиса с использованием тестов на СРБ, прокальцитонин, IL-6, nCD64 и, вероятно, других не связанных с прямым выявлением возбудителя, методов и определяет необходимость дальнейшего изучения иммунопатогенеза грамположительного сепсиса для поиска новых быстрых и специфичных лабораторных маркеров.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают искреннюю благодарность сотрудникам ФГБУ ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова МЧС России: к.м.н. Давыдовой Н. И. – заведующей лабораторией клинической иммунологии за консультации при выполнении и написании работы, Макаровой Н. В. – заведующей отделением

статистического анализа и прогнозирования, за неоценимую помощь при статистической обработке результатов, д.м.н., профессору Калининой Н. М., и к.б.н. Бычковой Н. В. за помощь при написании работы, а также д.м.н., профессору, академику РАН Тотоляну А.А. за консультации при редактировании рукописи.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. *Bhandari V., Wang C., Rinder C., Rinder H.* Hematologic profile of sepsis in neonates: neutrophil CD64 as a diagnostic marker. *Pediatrics* 2008, 121(1), 129–134.
2. *Icardi M., Erickson Y., Kilborn S., Stewart B., Grief B., Scharnweber G.* CD64 index provides simple and predictive testing for detection and monitoring of sepsis and bacterial infection in hospital patients. *J. Clin. Microbiol.* 2009, 47(12), 3914–3919.
3. *Hoffman J.J.* Neutrophil CD64 as a sepsis biomarker. *Biochem. Med.* 2011, 21(3), 282–290.
4. *Li S., Huang X., Chen Z., Zhong H., Peng O., Deng O., Qin X., Zhao J.* Neutrophil CD64 expression in the early diagnosis of bacterial infection: a meta-analysis. *Int. J. Infect. Dis.* 2013, 17(1), 12–23.
5. *Gibot S., Bene M. C., Noel R., Massion F., Guy J., Craviosy A., Barraud D., De Carvalho Bittencourt M., Qenot J. P., Bollaert P. E., Faure G., Charles P. E.* Combination biomarkers to diagnose sepsis in the critically ill patient. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2012, 186(1), 65–71.
6. *Gros A., Roussel M., Suavadet E., Gacouin A., Marque S., Klimot L., Lavoue S., Camus C., Fest T., Le Tulzo Y.* The sensitivity of neutrophil CD64 expression as a biomarker of bacterial infection is low in critically ill patients. *Intensive Care Med.* 2012, 38(3), 445–452.
7. *Черешнев В.А., Гусев Е.Ю.* Иммунологические и патофизиологические механизмы системного воспаления. *Медицинская иммунология* 2012, 14(1–2), 9–20. [*Chereshnev V.A., Gusev E. Yu.* Immunological and pathophysiological mechanisms of systemic inflammation. *Med. Immunol.* 2012, 14(1–2), 9–20.]
8. *Bovolenta C., Gasperini S., Cassatella M.A.* Granulocyte colonystimulating factor induces the binding of STAT1 and STAT3 to the IFN $\gamma$  response region within the promoter of the Fc $\gamma$ RI/CD64 gene in human neutrophils. *FEBS Lett.* 1996, 386(2–3), 239–242.
9. *Bovolenta C., Gasperini S., McDonald P.P., Cassatella M.A.* High affinity receptor for IgG (Fc $\gamma$ RI/CD64) gene and STAT protein binding to the IFN- $\gamma$  response region (GRR) are regulated differentially in human neutrophils and monocytes by IL-10. *J. Immunol.* 1998, 160(2), 911–919.
10. *Leino L., Sorvajarvi K., Katajisto J., Laine M., Lilius E. M.* Febrile infection changes the expression of IgG Fc receptors and complement receptors in human neutrophils in vivo. *Clin. Exp. Immun.* 1997, 107(1), 37–43.
11. *Allen E., Bakke A. C., Purtzer M. Z., Deodhar A.* Neutrophil CD64 expression: distinguishing acute inflammatory autoimmune disease from systemic infections. *Ann. Rheum. Dis.* 2002, 61(6), 522–525.
12. *Nishino J., Tanaka S., Kadono Y., Matsui T., Komiyama A., Nishimura K., Tohma S.* The usefulness of neutrophil CD64 expression in the diagnosis of local infection in patients with rheumatoid arthritis in daily practice. *J. Orthop. Sci.* 2010, 15(4), 547–552.
13. *Oppegaard O., Skodvin B., Halse A.-K., Langeland N.* CD64 as a potential biomarker in septic arthritis. *BMC Infect. Dis.* 2013, 13, 278–284.
14. *McDonald B., Jenne C. N., Zhuo L., Kimata K., Kubes P.* Kupffer cells and activation of endothelial TLR4 coordinate neutrophil adhesion within liver sinusoids during endotoxemia. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2013, 305(11), 797–806.
15. *Xu J., Sachdev U.* The Toll of Vascular Insufficiency: Implications for the Management of Peripheral Arterial Disease. *J. Immunol. Res.* 2016; 2016: 8249015, 9 pages.
16. *Andonegui G., Zhou H., Bullard D., Kelly M. M., Mully S. C., McDonald B., Long E. M., Robbins S. M., Kubes P.* Mice that exclusively express TLR4 on endothelial cells can efficiently clear a lethal systemic Gram-negative bacterial infection. *J. Clin. Invest.* 2009, 119, 1921–1930.
17. *Ye X., Ding J., Zhou X., Chen G., Liu S. F.* Divergent roles of endothelial NF- $\kappa$ B in multiple organ injury and bacterial clearance in mouse models of sepsis. *J. Exp. Med.* 2008, 205(6), 1303–1315.
18. *Boettcher S., Gerosa R. C., Radpour R., Bauer J., Ampenberg F., Heikenwalder M., Kopf M., Manz M. G.* Endothelial cells translate pathogen signals into G-CSF-driven emergency granulopoiesis. *Blood.* 2014, 124(9), 1393–1403.
19. *Fadlon E., Vordermeier S., Pearson T. C., Mire-Sluis A. R., Dumonde D. C., Phillips J., Fishlock K., Brown K. A.* Blood polymorphonuclear leukocytes from the majority of sickle cell patients in the crisis phase of the disease show enhanced adhesion to vascular endothelium and increased expression of CD64. *Blood* 1998, 91(1), 266–274.
20. *Nguen Q.T., Nguen T. H., Ju S. A., Lee Y. S., Han S. H., Lee S. C., Kwon B. S., Yu R., Kim G. Y., Lee B. J., Kim B. S.* CD137 expressed on neutrophils plays dual roles in antibacterial responses against Gram-positive and Gram-negative bacterial infections. *Infect. Immun.* 2013, 81(6), 2168–2177.
21. *Guo S.Y., Zhou Y., Hu Q. F., Wang H.* Procalcitonin is a marker of gram-negative bacteremia in patients with sepsis. *Am. J. Med. Sci.* 2015, 349, 499–504.
22. *Leli C., Ferranti M., Moretti A., Al Dhahab Z. S., Mencacci A.* Procalcitonin levels in gram-positive,

- gram-negative, and fungal bloodstream infections. *Dis. Markers*. 2015, 2015; 701480, 8.
23. Charles P.E., Bruyere R., Roche H., Quenot J.P., Prin S., Pavon A., Dalle F. Procalcitonin has a poor prognosis value in critically ill patients with candidemia. *Crit. Care*. 2012, 16(1), 31.
24. Abe R., Oda S., Sadahiro T., Nakamura M., Hirayama Y., Tateishi Y., Shinozaki K., Hirosawa H. Gram-negative bacteremia induces greater magnitude of inflammatory response than Gram-positive bacteremia. *Crit. Care*. 2010, 14(2), R27.

## NEUTROPHIL CD64 AND PROCALCITONIN IN THE DIAGNOSIS OF SEPSIS OF DIFFERENT ETIOLOGIES

A.A. Kalashnikova, T.M. Voroshilova, M.Yu. Frolova


*The Federal State Budgetary Institute «The Nikiforov Russian Centre of Emergency and Radiation Medicine»  
The Ministry of Russian Federation for Civil Defense, Emergencies and Elimination of Consequences of Natural Disaster,  
Saint-Petersburg, Russian Federation*

Received: 21.09.2016. Accepted: 22.11.2016

The article presents the results of investigations of procalcitonin concentrations and the relative amount and density of expression of CD64 on neutrophils in patients with sepsis caused by gram-negative, gram-positive bacteria and *Candida*. The most pronounced increase in the relative amount of CD64<sup>+</sup> neutrophils and expression density of this marker was observed in patients with gram-negative and fungal sepsis. When the relative amount of CD64<sup>+</sup> neutrophils more than 83% probability of gram-negative or candidal sepsis is defined with a sensitivity of 87%, a specificity of 81%. Determined a direct correlation between procalcitonin level and nCD64. The level of procalcitonin in the serum of patients with sepsis is also different depending on causative agents: the maximum concentration determined in sepsis caused by gram-negative bacteria, whereas gram-positive and *Candida* sepsis procalcitonin increase was less pronounced. nCD64 is a highly sensitive and specific marker for bacterial and fungal infections and can be used to assess the effectiveness of therapy. Determination of the expression level nCD64 to diagnose sepsis caused by gram-negative bacteria, and sepsis caused by fungi of the genus *Candida*.

*Key words:* sepsis, CD64, procalcitonin

### Authors:

**Kalashnikova A. A.**,  Candidate of Biological Sciences (Doctor of Philosophy, Ph.D.) Senior Research Officer Laboratory of Clinical Immunology, The Federal State Budgetary Institute «The Nikiforov Russian Centre of Emergency and Radiation Medicine» The Ministry of Russian Federation for Civil Defense, Emergencies and Elimination of Consequences of Natural Disaster, Saint-Petersburg, Russian Federation.

197345 Saint-Petersburg, ul. Optovikov, 54, The Federal State Budgetary Institute «The Nikiforov Russian Centre of Emergency and Radiation Medicine» The Ministry of Russian Federation for Civil Defense, Emergencies and Elimination of Consequences of Natural Disaster. Tel. +79218642386 (mob.). **E-mail:** petkova\_nas@mail.ru

**Voroshilova T. M.**, Head of Laboratory of Bacteriological Studies The Federal State Budgetary Institute «The Nikiforov Russian Centre of Emergency and Radiation Medicine», The Ministry of Russian Federation for Civil Defense, Emergencies and Elimination of Consequences of Natural Disaster, Saint-Petersburg, Russian Federation;

**Frolova M. Yu.**, Candidate of Biological Sciences (Doctor of Philosophy, Ph.D.) Head, Senior Research Officer Laboratory of Clinical Chemistry, The Federal State Budgetary Institute «The Nikiforov Russian Centre of Emergency and Radiation Medicine» The Ministry of Russian Federation for Civil Defense, Emergencies and Elimination of Consequences of Natural Disaster, Saint-Petersburg, Russian Federation.