

3
НОМЕР

БОНЦ

ISSN 2304-9081

ЭЛЕКТРОННЫЙ ЖУРНАЛ
On-line версия журнала на сайте
<http://www.elmag.uran.ru>

БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УРО РАН

Lycaena thersamon (Esper, 1784)
Червонец блестящий
Шовкун Д.Ф.



2019

УЧРЕДИТЕЛЬ
ОРЕНБУРГСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР УРО РАН

© Коллектив авторов, 2019

УДК 575.113:616.94:616.61-002.8-053.2

Е.А. Щуплова, М.Д. Кузьмин, Ю.А. Хлопко, С.В. Черкасов

МЕТОД FISH ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ И СЕПСИСА

Оренбургский федеральный исследовательский центр УрО РАН (Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН), Оренбург, Россия

Цель. Изучить дополнительные методы для точной, ранней диагностики и прогнозирования развития гнойно-септических осложнений хирургических инфекций.

Материалы и методы. В исследовании использовали бактериологический метод и флуоресцентную *in situ* гибридизацию (FISH) образцов крови больных сепсисом и острым пиелонефритом.

Результаты. У обследуемых больных была выявлена полимикробная инфекция, состоящая из 2-3 микробов-ассоциантов. В 1,3-8,7 раз чаще наблюдали адгезию бактерий к поверхности эритроцитов и их внутриэритроцитарное расположение представителей семейства *Enterobacteriaceae*, чем представителей рода *Staphylococcus* spp. В результате статистического анализа была получена регрессионная модель, позволяющая прогнозировать тяжесть течения сепсиса и дифференцировать стадии острого пиелонефрита.

Заключение. При диагностики острого пиелонефрита метод FISH позволяет дифференцировать серозную и гнойную стадии острого пиелонефрита с возможностью обнаружения и одновременной идентификации микроорганизмов (по известным ДНК-зондам), а больных сепсисом с помощью данного методического подхода можно разделить на три группы по степени тяжести течения заболевания.

Ключевые слова: FISH, эритроциты, адгезия, проникновение в эритроциты, сепсис, острый пиелонефрит.

E.A. Shchuplova, M.D. Kuzmin, Yu.A. Khlopko, S.V. Cherkasov

FISH METHOD FOR THE DIAGNOSIS AND PREDICTION OF SURGICAL INFECTIONS AND SEPSIS

Orenburg Federal Research Center, UB RAS (Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, UB RAS), Orenburg, Russia

Objective. To study additional methods for accurate, early diagnosis and prediction of the development of purulent-septic complications of surgical infections.

Materials and methods. The study used the bacteriological method and fluorescent *in situ* hybridization of blood samples from patients with sepsis and acute pyelonephritis.

Results. The surveyed patients had polymicrobial infection, consisting of 2-3 of germs of associates are realized. Adhesion of bacteria to the surface of erythrocytes and their intra-erythrocyte location of representatives of *Enterobacteriaceae* family were observed 1.3-8.7 times more often than representatives of the genus *Staphylococcus* spp. As a result of statistical analysis, a regression model was obtained, the values of which can predict the severity of sepsis and differentiate the stage of acute pyelonephritis.

Conclusion. In the diagnosis of acute pyelonephritis, the FISH method allows to differentiate the serous and purulent stages of acute pyelonephritis with the possibility of detection and simultaneous identification of microorganisms (according to known DNA probes), and patients with sepsis with this methodological approach can be divided into three groups according to the severity of the disease.

Key words: FISH, erythrocytes, adhesion, erythrocyte penetration, sepsis, acute pyelonephritis.

Введение

В настоящее время инфекционные заболевания продолжают играть одну из ведущих ролей в патологии человека. Известно, что сепсис является тяжелым осложнением хирургической инфекции и по-прежнему остается одной из наиболее значимых проблем современной клинической медицины в силу большой распространенности и неприемлемо высокой летальности [1-3]. К инфекционно-воспалительным заболеваниям относят острый пиелонефрит, причем в 25-30% случаев течение данной патологии осложняется развитием гнойно-деструктивных форм (апостематозный пиелонефрит, абсцесс и карбункул почки), которые нередко приводят к развитию уросепсиса.

Этиологическая диагностика сепсиса и уросепсиса представляет собой одну из наиболее сложных проблем современной медицины в связи с широким разнообразием возбудителей, многие из которых являются компонентами нормальной микрофлоры человека [4]. «Золотым стандартом» лабораторной диагностики сепсиса, уросепсиса является бактериологический метод выделения гемокультур. Недостатком данного метода является длительность культивирования посевов до 5-7 суток, длительное время для идентификации чистой культуры с помощью различных биохимических тестов, а также проведение теста на выявление резистентности к антибиотикам. Данный метод не приемлем для некультивируемых бактерий, таких как микоплазмы, нокардии, риккетсии, хламидии и ряд других микроорганизмов [5]. Кроме того, эффективность бактериологического метода составляет около 45% [3].

По сравнению с бактериологическим методом методы молекулярной диагностики лишены вышеуказанных недостатков. Примером молекулярно-генетических методов являются методы ПЦР-анализа гемокультуры, метод флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) и другие.

Для дифференциальной диагностики острого пиелонефрита широкое применение находят современные высокотехнологичные методы исследования, которые позволяют оценивать структурно-функциональное состояние почечной паренхимы. К ним относят УЗ-доплерографию, магнитно-резонансную томографию (МРТ), мультиспиральную компьютерную томографию (МСКТ) [6]. Однако имеющиеся методы диагностики, не всегда позволяют выявлять раннее начало гнойного процесса в почках.

Цель данной работы – изучить дополнительные методы для точной ранней диагностики и прогнозирования развития гнойно-септических ослож-

нений хирургических инфекций.

Материалы и методы

В работе исследованы образцы крови 40 больных (20 женщин и 20 мужчин) с предположительным диагнозом сепсис в возрасте от 30 до 82 лет (средний возраст составил 56 лет) и 45 пациентов (31 женщина, 14 мужчин) с острым пиелонефритом в возрасте от 19 до 85 лет (средний возраст 52 года). При обследовании больных осуществляли сбор анамнеза, общий анализ крови и мочи, а также рентгенологическое и ультразвуковое исследование. Параллельно проводили микробиологическое исследование образцов крови всех обследуемых больных с использованием бактериологического и молекулярно-генетического метода (флуоресцентной *in situ* гибридизации – FISH). Для этого у пациентов брали кровь из локтевой вены стерильным одноразовым шприцем и переливали ее в пробирку с антикоагулянтом. С помощью бактериологического метода выделяли гемокультуру, затем проводили видовую идентификацию по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам, используя тест-системы: Enterotest-24, Staphytest («Erba Lachema s.r.o.», European Union). При FISH использовали ДНК-зонды, комплементарные видоспецифическим участкам гена 16S рРНК микроорганизмов, наиболее часто встречающихся при гнойно-септических осложнениях хирургических инфекций: Oligo 1 (*Enterobacteriaceae*), Oligo 2 (*Pseudomonas aeruginosa*), Oligo 3 (*Staphylococcus aureus*), Oligo 5 (*S. epidermidis*), Oligo 6 (*Staphylococcus spp.*). Данные зонды были синтезированы и на 5'-конце помечены флуоресцеинаизотиоцианатом (FITC) («ДНК-синтез», Москва). Подготовку образцов крови для FISH проводили по методу, описанному в работе Е.А. Щупловой и соавт. [7]. Далее с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа (КЛСМ) определяли количество адгезированных на поверхности эритроцитов и внутриэритроцитарно расположенных бактерий.

Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью программы Statistica 6.0. Для оценки различий (p) использовали критерий (t) Стьюдента, различия считали значимыми (достоверными) при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты клинико-инструментального и лабораторного обследования больных с предварительным диагнозом «сепсис» и острый пиелонефрит явились показанием к микробиологическому исследованию крови. По результатам бактериологического исследования в группе больных

сепсисом в 20% случаев была выделена гемокультура, причем в 7,5% обнаружили *Staphylococcus aureus*, в 5% – представителей семейства *Enterobacteriaceae*, в том числе рода *Proteus*, и *Pseudomonas aeruginosa*, а также грибы рода *Candida*. В группе больных с острым пиелонефритом только у 1 пациента (2,9%) удалось выделить моновидовую гемокультуру, которую с помощью биохимических тестов идентифицировали как *Escherichia coli*.

В связи с известными недостатками бактериологического метода (см. выше) для обнаружения микроорганизмов в образцах крови обследуемых больных параллельно нами использован современный молекулярно-генетический метод флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH). Чувствительность этого метода составляет 95% [4], время для исследований сокращается до 8-12 часов, не требуется выделения гемокультуры, можно сразу использовать образец крови. Метод FISH позволяет одновременно проводить идентификацию микроорганизмов, так как ДНК и рРНК бактерий гибридизуется с ДНК-зондами, комплементарными таксонспецифическим участкам гена 16S рРНК [4].

Для выявления моно- или полимикробной инфекции в образцах крови каждого обследуемого больного использовали одновременно все виды олигонуклеотидных зондов.

В результате работы оказалось, что среди исследуемых образцов крови от больных сепсисом в 30,3% случаев срабатывал только один зонд, то есть у больных отмечалась моноинфекция (рис. 1).

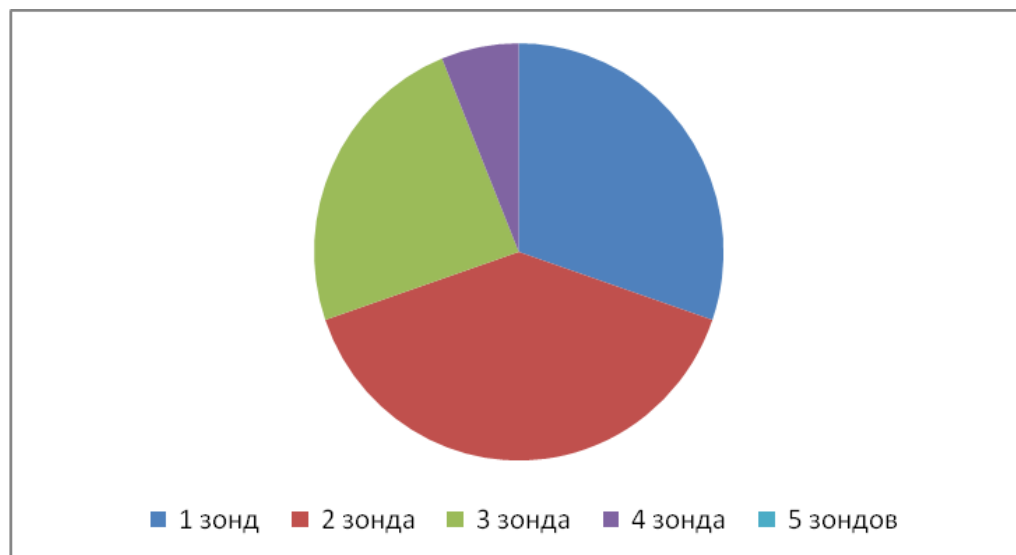


Рис. 1. Встречаемость ассоциаций микроорганизмов в образцах крови септических больных.

В 39,4% случаев свечение в образцах крови обнаруживали одновременно с двумя зондами, а с тремя ДНК-зондами отмечалось в 20% случаев. Необходимо отметить, что одновременное срабатывание четырех зондов наблюдали в 6,1% случаев, а при обработке образцов крови 5-ти зондами свечений от бактерий не выявлено.

Полученные результаты согласуются с данными литературы, где отмечается, что при обследовании образцов крови, взятых от больных сепсисом, чаще наблюдается полимикробная этиология заболевания, которая состоит из ассоциаций, включающих микроорганизмы 2-3 видов [1].

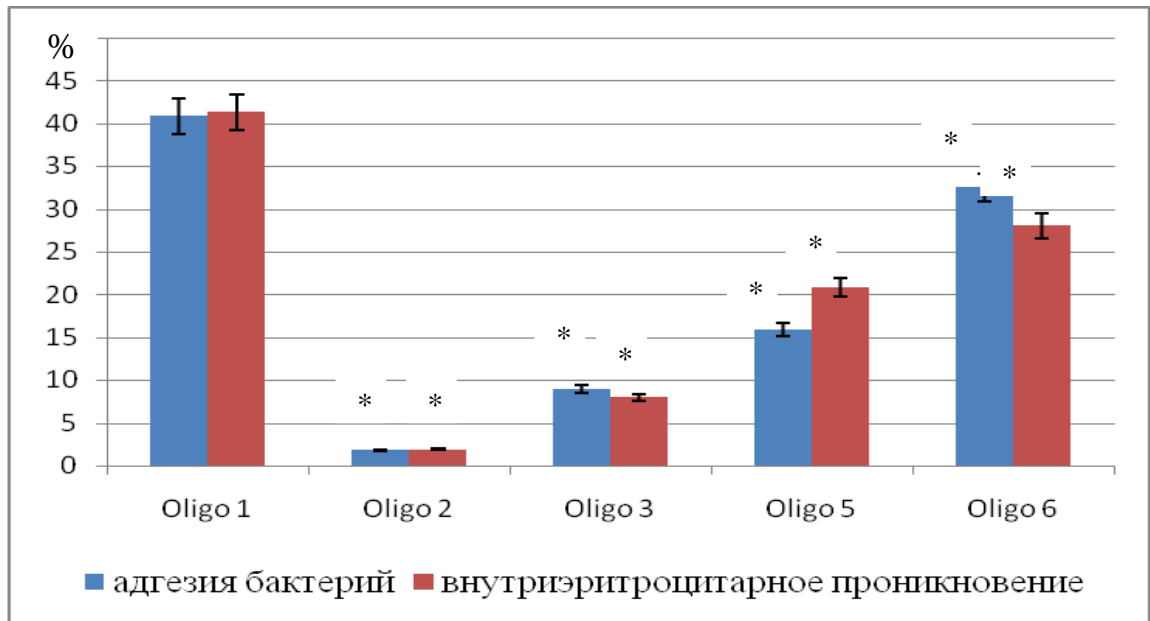
От больных острым пиелонефритом с помощью люминесцентной микроскопии было исследовано 45 образцов крови. Результаты исследования показали, что только у 5 (14,3%) из 45 обследуемых больных выявили свечение от ДНК-зондов в образцах крови, причем было обнаружено 207 специфических свечений от разных ДНК-зондов, что свидетельствовало о развитии полимикробной инфекции.

В образцах крови обследуемых больных выявляли одновременно свечение от двух зондов (то есть двух ассоциантов бактерий), свечение одновременно трех зондов не встречалось. В результате исследования оказалось, что в 2,4 раза чаще в образцах крови обследуемых больных острым пиелонефритом встречались ассоциации представителей семейства *Enterobacteriaceae* с *S. aureus*, чем представителей семейства *Enterobacteriaceae* с *S. epidermidis* (24,8±5,6 против 10,2±4,5 % соответственно, $p < 0,05$).

На следующем этапе исследования с помощью люминесцентной микроскопии определяли процент адгезированных на поверхности эритроцитов и внутриэритроцитарно расположенных бактерий в образцах крови обследуемых больных (рис. 2).

Из представленного графика видно, что в 1,3 раза чаще наблюдали адгезию к поверхности эритроцитов бактерий, представителей семейства *Enterobacteriaceae* (Oligo 1), чем представителей рода *Staphylococcus spp.* (Oligo 5) и в 2,5-4,5 раза чаще, чем *S. epidermidis* (Oligo 4) и *S. aureus* (Oligo 3) соответственно ($p \geq 0,05$).

P. aeruginosa (Oligo 2) в образцах крови больных сепсисом регистрировали редко, всего в 2 случаях из 45.



Примечание: * - $p < 0,05$.

Рис. 2. Значения адгезированных бактерий на поверхности эритроцитов и их внутриэритроцитарное расположение в образцах крови больных сепсисом.

При изучении внутриэритроцитарного проникновения бактерий наблюдали аналогичные результаты. Необходимо отметить, что при обработке исследуемых проб крови Oligo 4 в 1,3 раза чаще наблюдали внутриэритроцитарное проникновение бактерий, чем адгезивную способность ($20,8 \pm 2,5$ против $15,9 \pm 1,6\%$; $p \geq 0,05$).

При обследовании образцов крови 45 больных острым пиелонефритом оказалось, что в 40 пробах свечение не обнаружено, то есть искомые бактерии в образцах крови отсутствовали, тогда как у 5 обследованных наблюдали 207 свечений как адгезированных бактерий на поверхности эритроцитов, так и их внутриэритроцитарное расположение (табл. 1).

Таблица 1. Значения адгезированных бактерий на поверхности эритроцитов и их внутриэритроцитарное расположение в образцах крови больных с острым пиелонефритом

Стадия острого пиелонефрита	Адгезия (%)					Внутриэритроцитарное проникновение (%)				
	Oligo 1	Oligo 2	Oligo 3	Oligo 5	Oligo 6	Oligo 1	Oligo 2	Oligo 3	Oligo 5	Oligo 6
Серозная стадия	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Гнойная стадия	$63,3 \pm 7,9$	$8,7 \pm 4,6$	$12,2 \pm 6,1$	$8,5 \pm 4,9$	$7,3 \pm 4,6$	$54,8 \pm 8,3$	$13,0 \pm 5,8$	$12,9 \pm 6,6$	$11,5 \pm 6,1$	$7,8 \pm 4,5$

При изучении процесса адгезии бактерий к поверхности эритроцитов оказалось, что в 8,7 раз чаще наблюдали свечение от ДНК-зонда, характерного для представителей семейства *Enterobacteriaceae* (Oligo 1), чем от Oligo 6 ($p < 0,05$). В 1,4 раз чаще было выявлено свечение с Oligo 3 (*S. aureus*), чем с зондами, комплементарными таксон-специфическим участкам гена *S. epidermidis* и *P. aeruginosa*, а также в 1,9 раз чаще, чем с представителями рода *Staphylococcus spp.*

При изучении внутриэритроцитарного расположения бактерий в образцах крови больных острым пиелонефритом с гнойной стадии развития заболевания оказалось, что в 4,2 раза чаще наблюдали внутриэритроцитарное расположение бактерий представителей семейства *Enterobacteriaceae*, чем *P. aeruginosa* (Oligo 2) и *S. aureus* (Oligo 3) – $54,8 \pm 8,3$ против $13,0 \pm 5,8$ и $12,9 \pm 6,6$ % соответственно (табл. 1). Кроме того энтеробактерии в 4,7 раза чаще выявляли внутри эритроцитов, чем *S. epidermidis* (Oligo 5), и в 7,4 раза чаще, чем представителей рода *Staphylococcus spp.* (Oligo 6). Необходимо отметить, что в образцах крови больных острым пиелонефритом с серозной стадией развития заболевания не было обнаружено ни адгезированных на поверхности эритроцитов, ни проникших внутрь эритроцитов бактерий.

На следующем этапе нами проведена статистическая обработка полученных данных. В результате для комплексной оценки тяжести течения заболевания у больных сепсисом с использованием одновременно нескольких ДНК-зондов был проведен статистический анализ. Результаты анализа позволили получить регрессионную модель, определяющую степень тяжести течения заболевания в зависимости от количества бактерий адгезированных на поверхности и расположенных внутриэритроцитарно.

Регрессионная модель представляет собой интегральный показатель, значения которого позволили дифференцировать степень тяжести течения сепсиса. Интегральный показатель (ИП) рассчитывается по формуле:

$$\text{ИП} = 1,527 + 0,333 \times X_1 - 1,116 \times X_2 - 0,137 \times X_3 + 0,033 \times X_4 + 0,061 \times X_5 - 0,184 \times X_6 + 3,242 \times X_7 + 0,71 \times X_8 + 0,888 \times X_9 + 0,336 \times X_{10},$$

где: X_1 – количество адгезированных бактерий на поверхности эритроцитов в образце крови больного, обработанных зондом Oligo1;

X_2 - количество адгезированных бактерий на поверхности эритроцитов в образце крови больного, обработанных зондом Oligo2;

X_3 - количество адгезированных бактерий на поверхности эритроцитов

в образце крови больного, обработанных зондом Oligo3;

X₄ - количество адгезированных бактерий на поверхности эритроцитов в образце крови больного, обработанных зондом Oligo4;

X₅ - количество адгезированных бактерий на поверхности эритроцитов в образце крови больного, обработанных зондом Oligo5;

X₆ – количество внутриэритроцитарно расположенных бактерий в образце крови больного, обработанных зондом Oligo1;

X₇ - количество внутриэритроцитарно расположенных бактерий в образце крови больного, обработанных зондом Oligo2;

X₈ - количество внутриэритроцитарно расположенных бактерий в образце крови больного, обработанных зондом Oligo3;

X₉ - количество внутриэритроцитарно расположенных бактерий в образце крови больного, обработанных зондом Oligo4;

X₁₀ - количество внутриэритроцитарно расположенных бактерий в образце крови больного, обработанных зондом Oligo5.

По результатам расчетов регрессионной модели и клинически подтвержденных диагнозов определены 3 группы, отличающиеся по степени тяжести течения заболевания: легкая, средняя и тяжелая формы (табл. 2).

Таблица 2. Диапазоны дифференциации тяжести течения заболевания

№ п/п	Степень тяжести течения заболевания	Диапазоны
1.	Легкая	до 2,5
2.	Средняя	2,5 – 5,6
3.	Тяжелая	свыше 5,6

Из представленной таблицы 2 видно, что чем выше значения диапазонов, рассчитанных с помощью регрессионной модели, тем тяжелее состояние больного.

В настоящее время в медицинской практике достаточно широко используются различные шкалы по оценке тяжести состояния пациентов при сепсисе, алгоритмы выраженности полиорганной недостаточности и прогнозирования исхода заболевания. Но по-прежнему, фатальный исход имеет крайне высокую степень вероятности, что диктует необходимость дальнейшего поиска критериев диагностики.

Статистический анализ результатов, полученных от больных острым пиелонефритом показал, что если в образцах крови больных обнаруживают \geq

5 адгезированных на поверхности эритроцитов и ≥ 2 внутриэритроцитарно расположенных бактерий, то у больных выявляют развитие гнойной стадии острого пиелонефрита.

В дальнейшем, у 5 обследуемых больных, у которых с помощью метода FISH обнаружены и идентифицированы микроорганизмы, через 3-е суток было выполнено повторное ультразвуковое исследование и компьютерная томография почек. В результате исследования у пациентов наблюдали неоднородные гипоэхогенные образования, окруженные эхогенными контурами инфильтрированной паренхимы. Чашечно-лоханочная система у всех обследуемых больных была деформирована. Выставлен клинический диагноз: «Острый гнойный пиелонефрит»: абсцесс почки (n=1), карбункул почки (n=1), апостематозный нефрит (n=3). Всем больным было проведено оперативное вмешательство, в результате которого диагноз был подтвержден.

Дифференциальная диагностика серозной и гнойной стадий острого пиелонефрита так же достаточно сложна. Несмотря на существующие диагностические критерии, далеко не всегда врач может вовремя поставить точный диагноз. По мнению З.С. Вайнберга [9], каждый больной с подозрением на наличие гнойного процесса в почках «в известной степени есть кроссворд, и от умения врача находить единственно правильные ответы и решения зависит жизнь пациента».

Заключение

В данной работе обоснованы дополнительные критерии микробиологической диагностики образцов крови больных с сепсисом и острым пиелонефритом, заключающиеся в определении количества адгезированных на поверхности эритроцитов и внутриэритроцитарно расположенных бактерий, обнаруженных с помощью современного молекулярно-генетического метода флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH).

При диагностике острого пиелонефрита использование метода FISH позволяет дифференцировать серозную и гнойную стадии острого пиелонефрита с возможностью обнаружения и одновременной идентификации микроорганизмов (по известным ДНК-зондам), а больных сепсисом с помощью данного методического подхода можно разделить на три группы по степени тяжести течения заболевания.

Таким образом, клинические параметры обследуемых больных с хирургической инфекцией и сепсисом в сочетании с бактериологическими ха-

рактическими образцами крови помогут врачам как можно скорее провести точную и раннюю диагностику заболеваний и своевременно назначить антибактериальную терапию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каргальцева Н.М., Кочеровец В.И., Иванов А.М. Полимикробность гемокультур – современная тенденция в этиологии инфекции кровотока. *Инфекционные болезни и антимикробная терапия*. 2012. 1(56): 56-61.
2. Чеботкевич В.Н., Кайтанджан Е.И., Бурyleв В.В., Щетинкина Е.Е. Современные методы лабораторной диагностики сепсиса. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2013. 4 (15): 295-300.
3. Руднов В.А. Сепсис: современные подходы к диагностике и интенсивной терапии. *Вестник анестезиологии и реаниматологии*. 2010.1 (7): 48-57.
4. Гаврилов С.Н., Скачкова Т.С., Шипулина О.Ю., Савочкина Ю.А., Шипулин Г.А., Малеев В.В. Современные молекулярно-генетические методы, используемые для этиологической диагностики сепсиса. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2016. 2: 91-99.
5. Киселева Е.Е. Алгоритм выявления и видовой идентификации бактерий в крови с использованием ПЦР. *Вестник гематологии*. 2017. 1 (13): 19-24.
6. Аляев Ю., Газимиев М., Еникеев Д. Современные аспекты диагностики острого пиелонефрита. *Врач*. 2009. 6: 76-78.
7. Щуплова Е.А., Черкасов С.В., Плотников А.О. Применение метода FISH для выявления бактерий, локализованных на поверхности и внутри эритроцитов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017. 7 (62): 431-435.
8. Mahmood T., Puckrin R., Sugar L., Naimark D. Staphylococcus-associated glomerulonephritis mimicking henoch-schönlein purpura and cryoglobulinemic vasculitis in a patient with an epidural abscess: a case report and brief review of the literature. *Canadian Journal of Kidney Health and Disease*. 2018. 5: 1-6.
9. Вайнберг З.С. Неотложная урология. М.: Московский рабочий, 1997. 206 с.

Поступила 12 июня 2019 г.

(Контактная информация: Щуплова Елена Алексеевна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории микробной экологии и дисбиозов Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН; адрес: 460000, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11; тел. 8 (3532) 77-54-17; e-mail: Khanina83@yandex.ru)

LITERATURA

1. Kargaltseva N.M., Kocherovets V.I., Ivanov A.M. The polymicrobial nature of hemocultures is a modern trend in the etiology of bloodstream infection. *Infectious diseases and antimicrobial therapy*. 2012. 1 (56): 56-61.
2. Chebotkevich VN, Kaitanjan EI, Burylev VV, Schetinkina E.E. Modern methods of laboratory diagnosis of sepsis. *Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy*. 2013. 4 (15): 295-300.
3. Rudnov V.A. Sepsis: modern approaches to diagnosis and intensive care. *Bulletin of anesthesiology and intensive care*. 2010. 1 (7): 48-57.
4. Gavrillov S.N., Skachkova T.S., Shipulina O.Yu., Savochkina Yu.A., Shipulin G.A., Maleev V.V. Modern molecular genetic methods used for the etiological diagnosis of sepsis. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2016. 2: 91-99.
5. Kiseleva E.E. Algorithm for the identification and species identification of bacteria in the blood using PCR. *Bulletin of hematology*. 2017. 1 (13): 19-24.
6. Alyaev Yu., Gazimiev M., Enikeev D. Modern aspects of the diagnosis of acute pyelo-

- nephritis. Doctor. 2009. 6: 76-78.
7. Schuplova EA, Cherkasov SV, Plotnikov A.O. Application of the FISH method to detect bacteria localized on the surface and inside of red blood cells. Clinical laboratory diagnostics. 2017. 7 (62): 431-435.
 8. Mahmood T., Puckrin R., Sugar L., Naimark D. Staphylococcus-associated glomerulonephritis mimicking henoch-schönlein purpura and cryoglobulinemic vasculitis in a patient with an epidural abscess: a case report and brief review of the literature. Canadian Journal of Kidney Health and Disease. 2018. 5: 1-6.
 9. Weinberg Z.S. Emergency Urology. M.: Moscow Worker, 1997. 206 p.

Образец ссылки на статью:

Щуплова Е.А., Кузьмин М.Д., Хлопко Ю.А., Черкасов С.В. Метод FISH для диагностики и прогнозирования хирургической инфекции и сепсиса. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2019. 3: 10с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2019-3/Articles/EASh-2019-3.pdf>). DOI: 10.24411/2304-9081-2019-13001