

**ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ  
В ОЦЕНКЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПОЛИМОРФНО-  
ЯДЕРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМ ТЕЧЕНИЕМ  
ОСТРОГО ДЕСТРУКТИВНОГО ПАНКРЕАТИТА**

Е.А. Усанова<sup>1</sup>, С.В. Чаусова<sup>1</sup>, Е.Э. Арутюнова<sup>1</sup>, О.Ю.Филатов<sup>2</sup>, Ю.В. Балякин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО Российский Национальный Исследовательский Медицинский  
Университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России.

117997, Москва, ул. Островитянова, 1. Телефон: 8(495) 434 -87-64. [www.rsmti.ru](http://www.rsmti.ru)

<sup>2</sup> ГБОУ ВПО Московский Государственный Медико-Стоматологический  
Университет им. А.И. Евдокимова Минздрава России.

127473, Москва, ул. Десятская, 20, стр.1. Телефон: 8(495) 609-67-00.

[www.msmsu.ru](http://www.msmsu.ru)

**Резюме.**

В статье оценивали фагоцитарную, НАДФН-оксидазную активность и прайминг-эффект полиморфно-ядерных лейкоцитов крови при воздействии комплексных антигенных препаратов *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* у больных острым деструктивным панкреатитом с асептическим или инфицированным течением процесса. Исследование крови больных осуществлялось на 1-е, 3-и, 7-е и 14-е сутки стационарного лечения с помощью методов люминол- и люцигенинзависимой хемилюминесценции. Было выявлено, что при инфицировании панкреонекроза уже в ранние сроки заболевания наблюдается нарушение окислительного метаболизма полиморфно-ядерных лейкоцитов крови, что проявляется в снижении их фагоцитарной и НАДФН-оксидазной активности по сравнению с пациентами, имеющими асептическое течение панкреонекроза. Способность полиморфно-ядерных лейкоцитов к праймированию комплексными антигенными препаратами бактерий, участвующих в бактериальной транслокации при панкреонекрозе, у таких пациентов также снижена.

**Ключевые слова:** хемилюминесценция, полиморфно-ядерные лейкоциты, острый деструктивный панкреатит, панкреонекроз, инфицирование, прайминг

**Abstract.**

In this article estimated were the fagocitic, NADPH-oxidase activity and priming effect at the polymorphonuclear leukocytes of blood under the effect of *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* complex antigen preparations with the patients having aseptic or infected pancreonecrosis. The taking away of patient's blood was performed on 1-st, 3-rd, 7-th, 14-th day of a stationary treatment by the methods of luminol and lucigenin amplified chemiluminescence. On the basic of the obtained results it has been found out that under infection of a pancreonecrosis the infringement of oxidation metabolism at polymorphonuclear leukocytes has been observed even in the early periods of disease, which is manifested in the lowering of fagocitic and NADPH-oxidase activity of polymorphonuclear leukocytes as compared to the patients with aseptic pancreonecrosis. The ability of polymorphonuclear leukocytes for priming by the complex antigen preparations of bacteria, participant in bacterial translocation under pancreonecrosis, is also reduced with these patients.

**Key words:** chemiluminescence, polymorphonuclear leukocytes, acute pancreatitis, pancreonecrosis, infected pancreonecrosis, priming

**ВВЕДЕНИЕ**

В хирургической практике острый панкреатит в 20-40% случаев носит деструктивный, некротический характер [1-4]. Большинство летальных исходов после первой недели заболевания вызваны инфицированным панкреонекрозом и сепсисом. В настоящее время экспериментальными исследованиями доказано, что активированные полиморфно-ядерные лейкоциты (ПМЛ) одними из первых приходят в очаг панкреонекроза (ПН) [5-7]. Считается, что они являются важными компонентами в защите и ограничении повреждения ткани поджелудочной железы. Но ряд недавних научных исследований свидетельствует и о негативной роли ПМЛ в патогенезе ПН. Инфильтрируя ткань поджелудочной железы и секретируя активные формы кислорода (АФК) в ходе респираторного взрыва, они способны вызывать еще большее локальное повреждение железы [8-10]. Также существует точка зрения, что ПМЛ, находясь в микроциркуляторном русле под действием «цитокинового шторма» приходят в состояние гиперстимуляции и, мигрировав в очаг деструкции, «перевыполняют» там свои эффекторные функции. А далее, по мере развития ответной противовоспалительной реакции, приходят в состояние иммунодепрессии, тем самым способствуя усугублению ПН и инфицированию очагов панкреатогенной деструкции [11]. Инфицирование очагов

повреждения происходит за счет бактериальной транслокации флоры кишечника уже в 1-е сутки от начала заболевания, а развитие гнойно-септических осложнений ПН – на 10 - 14 –е сутки заболевания [12-14]. Наиболее часто высеваемыми возбудителями при инфицировании ПН по данным литературы являются *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* [15,16]. Вопрос, в силу каких причин в одном случае у больных ПН протекает асептично и разрешается, а у других усугубляется инфицированием и развитием гнойно-деструктивных осложнений, остается до сих пор нерешенным.

Существование такой способности у ПМЛ, как прайминг или предстимуляция, известно еще с 80-х годов прошлого века. Суть данного эффекта заключается в том, что действие праймирующего стимула на клетку не приводит к ее непосредственной активации, а вызывает развитие повышенной функциональной готовности клетки, что, влечет за собой усиление интенсивности ответа (например, повышенную секрецию АФК) на последующее добавление этого же или другого стимула [17]. На сегодняшний день описано много праймирующих стимулов для лейкоцитов, среди которых есть и микроорганизмы, и их отдельные компоненты [18]. Возможно, способность ПМЛ к праймингу, может рассматриваться как один из ранних и специфических маркеров адекватного ответа на бактериальную агрессию при ПН.

Регистрация секреции АФК ПМЛ посредством хемилюминесцентного анализа может характеризовать фагоцитарную активность этих клеток, активность кислородозависимых ферментов их окислительного метаболизма, и даже способность ПМЛ к праймированию при инфицировании острого деструктивного панкреатита [18,19].

**ЦЕЛЬЮ** нашего исследования явилась оценка фагоцитарной активности крови (ФА), активности НАДФН-оксидазы ПМЛ крови и эффекта прайминга ПМЛ крови при воздействии комплексных антигенных препаратов *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* у пациентов с острыми деструктивными панкреатитами.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

**Характеристика групп пациентов.** В исследование были включены 29 доноров-добровольцев и 28 пациентов с острым деструктивным панкреатитом (таблица 1.). Забор крови больных осуществлялся на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е сутки стационарного лечения. В зависимости от клинико-морфологической формы острого панкреатита все обследованные пациенты были разделены на две группы: I группа - пациенты с асептическим ПН и II группа - пациенты с различными гнойно-деструктивными формами ПН (инфицированный ПН).

**Таблица 1.**

Общая характеристика пациентов, включенных в исследование.

Количество человек, (n)			
Доноры	Острый деструктивный панкреатит (панкреонекроз)	I группа Асептический панкреонекроз	II группа Инфицированный панкреонекроз
29	28	15	13
Пол, М/Ж			
14 / 15	16 / 12	9 / 6	7 / 6
Возраст, года			
28,6 ± 2,8	50,7 ± 3,3	52,0 ± 1,9	48,7 ± 2,3

### **Определение фагоцитарной активности полиморфно-ядерных лейкоцитов крови.**

Определение ФА ПМЛ крови производили с помощью метода люминолзависимой хемилюминесценции цельной крови (Л-ХЛ), стимулированной сульфатом бария. Измерение Л-ХЛ проводили на биохемилюминесцентном анализаторе БЛМ 3606 - 01 (СКТБ «Наука» КНЦ СО РАН, Россия), сигнал от которого поступал на персональный компьютер и анализировался с помощью программы VLM- Obrab (СКТБ «Наука» КНЦ СО РАН, Россия). Для этого к образцам крови, содержащим  $1 \times 10^6$  ПМЛ в пробе (конечный объем пробы составлял 0,7 мл и доводился раствором Хенкса, рН=7,45) добавляли активатор свечения – люминол (который используют для регистрации интенсивности ХЛ, отражающую суммарную выработку всех АФК) в количестве 0,15 мл (рабочая концентрация растворов  $2 \times 10^{-3}$  М, Sigma, США). Регистрировали спонтанный уровень Л-ХЛ, затем добавляли стимулятор свечения – сульфат бария, в количестве 0,15 мл (рабочая концентрация раствора 2 мг/мл) и измеряли уровень стимулированной Л-ХЛ. Регистрация Л-ХЛ проводилась в режиме постоянного перемешивания и температуре 37° С. С помощью компьютерной программы VLM- Obrab определяли следующие параметры Л-ХЛ: интенсивность спонтанной Л-ХЛ; интенсивность максимальной Л-ХЛ; время достижения максимальной вспышки Л-ХЛ; интенсивность стимулированной Л-ХЛ; площадь под кривой Л-ХЛ, отражающей светосумму Л-ХЛ и прямо пропорциональной ФА ПМЛ крови.

### **Определение активности НАДФН-оксидазы ПМЛ крови.**

Определение активности НАДФН-оксидазы ПМЛ крови производили с помощью метода люцигенинзависимой хемилюминесценции цельной крови (Лц-ХЛ), стимулированной сульфатом бария. Методика определения аналогична методу Л-ХЛ, отличительной особенностью данной методики является использование специфического активатора свечения ХЛ - люцигенина. Он избирательно связывается с супероксид анион радикалом ( $O_2^-$ ), который образуется в ходе респираторного взрыва ПМЛ при активации НАДФН-оксидазы. Определяемая площадь под кривой Лц-ХЛ, отражающей светосумму Лц-ХЛ, прямо пропорциональна активности НАДФН-оксидазы ПМЛ крови.

### **Определение эффекта прайминга ПМЛ крови при воздействии комплексными антигенными препаратами *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*.**

Комплексные препараты антигенов *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, получали из штаммов клинических изолятов методом приготовления бактериальных комплексов на целлофановом диске по методу Федосеевой В.Н. Камышевой В.А.[20]. Полученные маточные суспензии представляли собой комплексные антигенные препараты, которые содержали цельные инактивированные бактерии, их разрушенные компоненты (ЛПС или пептидогликаны), ферменты и токсины, продукты их жизнедеятельности. Воздействие таких комплексных бактериальных антигенов на ПМЛ в условиях *in vitro* дает возможность наблюдать ответную реакцию этих клеток, наиболее приближенную к ответной реакции *in vivo*. Препараты стандартизировали по количеству микробных клеток в 1 мл суспензии.

Для достижения эффекта прайминга отбирали объемы образцов крови, содержащие  $1 \times 10^6$  ПМЛ, доводили до 0,7 мл средой Хенкса (рН 7,45), предварительно инкубировали с 0,01 мл препарата антигенов *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* в различных рабочих концентрациях (от  $5 \times 10^6$  до  $1000 \times 10^6$  микробных клеток/мл суспензии препарата) в течение 45 минут при  $37^\circ C$  в режиме постоянного перемешивания. Контрольные пробы вместо препарата антигенов содержали тот же объем физиологического раствора и также инкубировались. После инкубации производили измерение интенсивности хемилюминесценции и определение параметров ХЛ по ранее описанной методике.

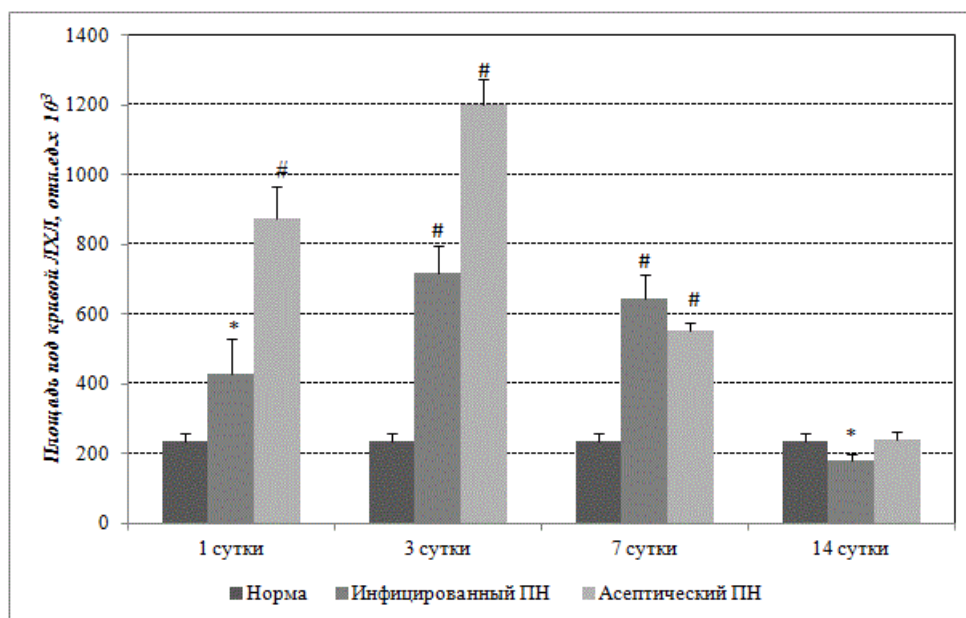
Для оценки эффекта прайминга вычисляли следующий показатель: показатель соотношения светосумм ХЛ опытной (праймированной комплексным препаратом антигенов) и контрольной проб, который обозначали как индекс соотношения площадей под кривыми ХЛ (*ИП*). Наличие эффекта прайминга у ПМЛ крови было актуально, если показатель, характеризующий его, превышал значение 1,0.

### Статистическая обработка результатов.

Статистический анализ результатов проводили с использованием общепринятых статистических методов, обрабатывая их с помощью статистических компьютерных программ «Statistica for Windows 7.0.» (StatSoft, USA) и приложения Microsoft Word Excel 2010. Все параметры и показатели вычислялись в виде среднего арифметического ( $M$ ), ошибки среднего ( $m$ ). Для сравнения средних использовался параметрический  $t$  критерий (критерий Стьюдента). Достоверно значимыми считали результаты с  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

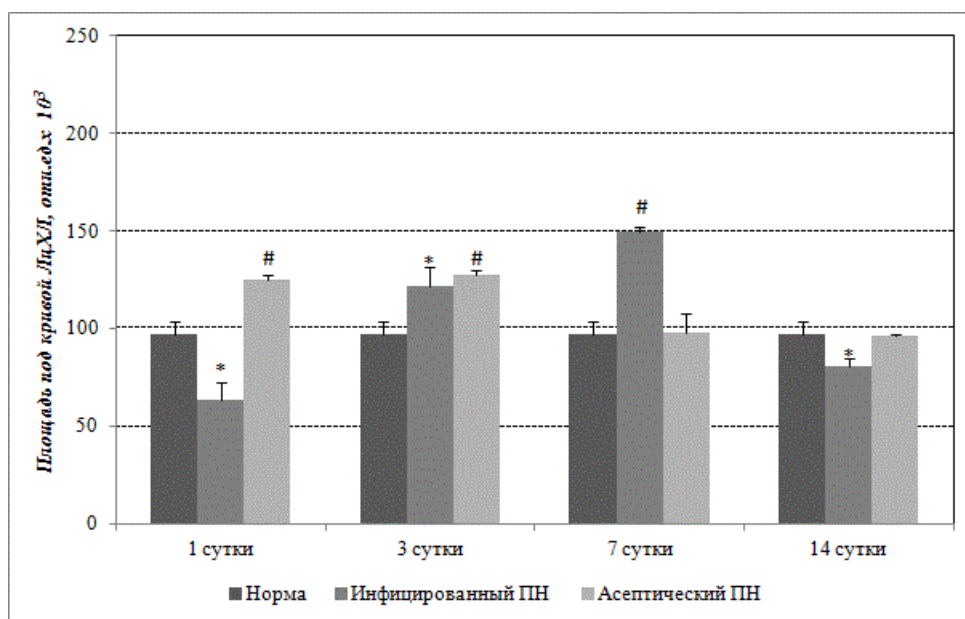
Анализ данных хемилюминесцентного исследования крови позволил выявить, что у всех больных с острым деструктивным панкреатитом при поступлении в стационар фиксировалось достоверное увеличение ФА ПМЛ крови по сравнению с донорами (рис.1.). В I группе пациентов регистрировались максимальные значения данного показателя, превышающие норму на 272,1%. Во II группе это увеличение составило 83,5%. В динамике развития ПН, по мере увеличения выраженности воспалительной реакции, к 3-м суткам стационарного лечения у всех больных наблюдался дальнейший рост ФА ПМЛ крови.



**Рис.1.** Динамика изменения ФА ПМЛ крови, выражаемой площадью под кривой Л-ХЛ крови пациентов с ПН. *Примечание.* #  $p < 0,001$ , \*  $p < 0,05$  по сравнению с нормой.

У пациентов I группы ФА ПМЛ крови увеличивалась на 411,0%, а у пациентов II группы - на 206,5%. К 7-м суткам данный показатель начинал достоверно снижаться в обеих обследуемых группах больных, но не достигал нормальных значений. В I группе пациентов ФА ПМЛ крови снижалась больше, чем во II группе. К 14-м суткам ФА ПМЛ крови в I группе приближалась к нормальным величинам, а у пациентов II группы была ниже нормы. Таким образом, можно констатировать, что пик ФА крови в обеих группах пациентов приходится на 1-е – 3-и сутки стационарного лечения заболевания, но у пациентов с гнойно-деструктивными формами ПН – ФА имеет значения ниже.

Активность НАДФН-оксидазы ПМЛ крови в I группе пациентов была выше нормы на 1-е и 3-и сутки стационарного лечения ПН, а на 7-е и 14-е сутки не отличалась от значений в группе доноров. Во II группе пациентов уже на 1-е сутки стационарного лечения наблюдалось снижение НАДФН-оксидазной активности ПМЛ крови на 34,2 % по сравнению с донорами. К 3-м суткам ее активность возрастала и не сильно отличалась от значений в I группе пациентов. А на 7-е сутки значения активности НАДФН-оксидазы становились максимальными по сравнению с I группой пациентов. Но к 14-м суткам данный показатель опять снижался и его значения были ниже нормы (рис.2.). Исходя из полученных данных, можно заключить, что пик НАДФН-оксидазной активности у пациентов с асептическим течением ПН наблюдается в 1-е – 3-и сутки стационарного лечения, а у пациентов с гнойно-деструктивными формами ПН - только на 7-е сутки. Таким образом, из полученных нами результатов по изучению ФА и активности НАДФН-оксидазы ПМЛ крови видно, что у пациентов с гнойно-деструктивными формами ПН уже в ранние сроки заболевания наблюдаются нарушения окислительного метаболизма ПМЛ крови, проявляющиеся в снижении ФА крови и активности НАДФН-оксидазы ПМЛ крови. Это свидетельствует о наличии дефектов в работе кислородозависимых систем ПМЛ крови у таких больных. И подтверждает тот факт, что инфицирование очагов панкреодеструкции может происходить уже в 1-е сутки заболевания.

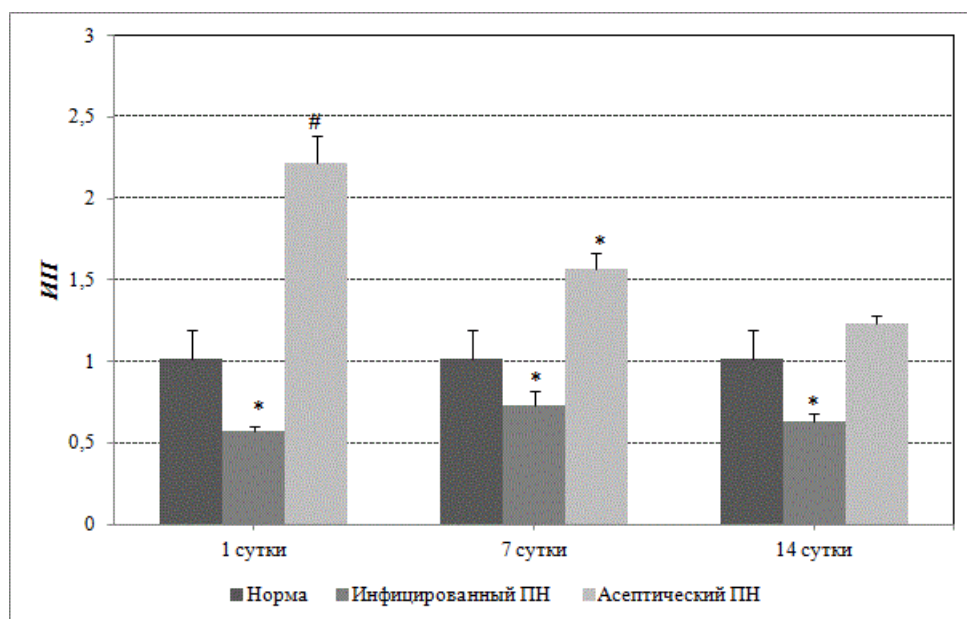


**Рис.2.** Динамика изменения активности НАДФН-оксидазы ПМЛ крови, выражаемой площадью под кривой Лц-ХЛ крови пациентов с ПН. *Примечание.* #  $p < 0,001$ , \*  $p < 0,05$  по сравнению с нормой.

Для подтверждения данных заключений нами было выполнено исследование способности ПМЛ крови больных с ПН к праймингу под влиянием комплексных антигенных препаратов. При воздействии различными концентрациями комплексных препаратов антигенов *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* (от  $5 \times 10^6$  до  $1000 \times 10^6$  микробных клеток/мл суспензии препарата) на ПМЛ крови больных I группы не наблюдалось обратной дозовой зависимости *ИП*, как в группе доноров. На протяжении всего исследования вплоть до 14-х суток стационарного лечения все концентрации препаратов вызвали праймирование ПМЛ крови, в том числе и самые высокие концентрации препаратов ( $1000 \times 10^6$  микробных клеток/мл), достоверно не вызывающие прайминг ПМЛ у доноров. Это говорит о том, что у пациентов с асептической формой течения ПН ПМЛ крови находятся в состоянии повышенной функциональной готовности по отношению к бактериальному агенту, способному вызвать инфицирование очагов ПН. Поэтому у таких пациентов не возникало никаких гнойно-септических осложнений, и к 14-м суткам стационарного лечения наступало улучшение клинической картины, а затем - выздоровление. У больных II группы воздействие этими двумя препаратами имело следующий характер: на протяжении 1-14-х суток наблюдалась обратная дозовая зависимость *ИП* от концентрации бактериального препарата, но все показатели были достоверно снижены по сравнению с таковыми у доноров и у I группы. Это свидетельствует о снижении способности ПМЛ крови больных II группы к праймингу,

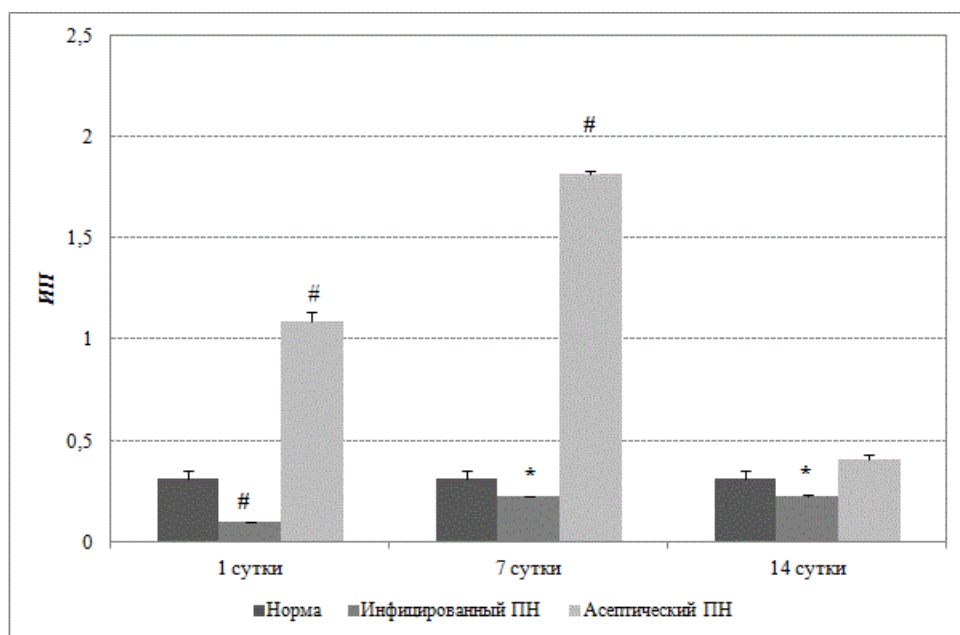


вызываемому препаратами *Klebsiella pneumoniae* и *Staphylococcus aureus*. Высокие концентрации данных препаратов, вызывающие эффект прайминга в I группе пациентов, во II группе подавляли этот эффект (рис.3 и рис.4).



**Рис.3.** Динамика изменения индекса соотношения площадей под кривыми Л-ХЛ крови пациентов с ПН при воздействии комплексным антигенным препаратом *Klebsiella pneumoniae* в рабочей концентрации  $1000 \times 10^6$  микробных клеток/мл. *Примечание.* #  $p < 0,001$ , \*  $p < 0,05$  по сравнению с нормой.

Таким образом, можно отметить, что в группе пациентов с гнойно-деструктивными формами ПН происходит снижение способности ПМЛ крови к праймированию бактериальными комплексными препаратами, что хорошо просматривается при воздействии высоких концентраций препаратов. Это может служить ранним маркером инфицирования очагов панкреатогенной деструкции. А также подтверждает факт существования дефекта в кислородозависимых механизмах эффекторных функций ПМЛ крови у пациентов с инфицированием очагов ПН.



**Рис.4.** Динамика изменения индекса соотношения площадей под кривыми Л-ХЛ крови пациентов с ПН при воздействии комплексным антигенным препаратом *Staphylococcus aureus* в рабочей концентрации  $1000 \times 10^6$  микробных клеток/мл. *Примечание.* #  $p < 0,001$ , \*  $p < 0,05$  по сравнению с нормой.

## ВЫВОДЫ

1. При гнойно-деструктивных формах ПН уже в ранние сроки заболевания наблюдается нарушение окислительного метаболизма ПМЛ крови, что проявляется в снижении ФА крови, активности НАДФН-оксидазы ПМЛ крови по сравнению с пациентами, имеющими асептическое течение ПН.

2. Способность к праймированию комплексными антигенными препаратами бактерий, участвующих в бактериальной транслокации при ПН, у пациентов с гнойно-деструктивными формами ПН снижается.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Багненко С.Ф., Толстой А.Д., Гольцов В.Р. Современные представления о тактике лечения острого панкреатита. //Актуальные вопросы диагностики и хирургического лечения заболеваний органов брюшной полости: сб.статей. –СПб.-2005. – С. 127-129.

2. Шелест П.В., Миронов В.И. Диагностика и прогнозирование клинко-морфологических форм острого деструктивного панкреатита.//Сибирский медицинский журнал.-2007.- №6.- С.5-9.

3. *Beger H.G., Rau B., Isenmann R. Natural history of necrotizing pancreatitis. //Pancreatology. - 2003. – Vol.3. - P.93-101.*
4. *Dambrauskas Z., Pundzius J., Barauskas G. Predicting development of infected necrosis in acute necrotizing pancreatitis.//Medicina (Kaunas). – 2006. - Vol.42.- №6.- P.441-449.*
5. *Sandoval D., Gukovskaya A., Reavey P., Gukovsky S., Sisk A., Braquet P., Pandol S.J., Poucell-Hatton S. The role of neutrophils and platelet-activating factor in mediating experimental pancreatitis. //Gastroenterology. - 1996. Vol.111 - P.1081–1091.*
6. *Fujimoto K., Hosotani R., Doi R., Wada M., Lee J.U., Koshiha T., Miyamoto Y., Imamura M. Role of neutrophils in cerulein- induced pancreatitis in rats: possible involvement of apoptosis.//Pancreatology.- 1997.- №58. – P.421-430.*
7. *Poch B., Gansauge F., Rau B., Wittel U., Gansauge S., Nüssler A.K., Schoenberg M. H., Beger H.G. The role of polymorphonuclear leukocytes and oxygen-derived free radicals in experimental acute pancreatitis: mediators of local destruction and activators of inflammation. //FEBS Letters. – 1999. – Vol.461. –P.268-272.*
8. *Dabrowski A., Konturek P.C., Konturek S.J., Gabryelewicz A. Role of reactive oxygen species in the pathogenesis of caerulein-induced acute pancreatitis; in Büchler MW, Uhl W, Friess H, Malfertheiner P (eds): Acute Pancreatitis. Novel Concepts in Biology and Therapy. Berlin. Blackwell. - 1999. - P. 77–87.*
9. *Schoenberg M.H, Büchler M., Beger H.G. Oxygen radicals in experimental acute pancreatitis. //Hepatogastroenterology. - 1994. – Vol.41. – P.313–319.*
10. *Shi C., Andersson R., Zhao X., Wang X. Potential role of reactive oxygen species in pancreatitis-associated multiple organ dysfunction.//Pancreatology.- 2005. - Vol.5, №4 – P.492-500.*
11. *Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Евлевский А.А., Фомичева Е.В., Ковалева С.В., Ломпатидзе Л.В. Спонтанная и индуцированная реструктуризация хроматина ядер нейтрофильных гранулоцитов при остром деструктивном панкреатите в стадии гнойных осложнений. //Цитокины и воспаление. – 2010. –Т.9. - №2. –С.13-17.*
12. *Beger H.G., Bittner R., Block S., Buchler M. Bacterial contamination of pancreatic necrosis. A prospective clinical study. //Gastroenterology. – 1986. - Vol.91. - №2. - P.433–438.*
13. *Schwarz M., Thomsen J., Meyer H., Buchier M.W., Beger H.G. Frequency and time course of pancreatic and extrapancreatic bacterial infection in experimental acute pancreatitis in rats. //Surgery. - 2000. - Vol.127. - №4. – P.427-432.*

14. *Beger HG, Rau BM. Severe acute pancreatitis: Clinical course and management. //World Journal Gastroenterology.- 2007.-Vol.13.- №38.- P.5043-5051.*
15. *Михайлузов С.В., Мoiseенкова Е.В., Черняков А.В. и др. Острые скопления жидкости, осложняющие течение панкреонекроза. Приемлем ли выжидательный подход?//Вестник РГМУ.- М. – 2009.- №2.- С.30-33.*
16. *McNaught C.E., Woodcock N.P., Mitchell C.J. at all. Gastric colonization, intestinal permeability and septic morbidity in acute pancreatitis. //Pancreatology.- 2002.- №2. – P.463-468.*
17. *Клебанов Г.И., Владимиров Ю.А. Клеточные механизмы прайминга и активация фагоцитов. // Успехи соврем. биол. - 1999. - Т.119. - №5. - С. 462–475.*
18. *Усанова Е.А., Чаусова С.В., Филатов О.Ю. Прайминг полиморфно-ядерных лейкоцитов крови доноров комплексами бактериальных антигенов *Klebsiella pneumoniae*. //Материалы II Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Сибирские Медико-биологические чтения».- Барнаул. - 2012. - С. 80-81.*
19. *Винник Ю.С., Савченко А.А., Перьянова О.В., Теплякова О.В., Якимов С.В., Мешикова О.С. Клинический аспекты применения хемиллюминесцентного анализа.//Сибирское медицинское обозрение.- 2006.- Т.40.- №3.- С. 3-6.*
20. *Федосеева В.Н., Камышева В.А. Способ получения бактериальных аллергенов. Патент № 2183970. Рег. Гос. реестр изобретений РФ 27.06.2002. Заявка № 2001102725 от 31.01.2001.*