

На правах рукописи

**ВЕРШИНИНА
МАРИНА ГЕРМАНОВНА**

**ДИАГНОСТИКА СЕПСИСА НА ОСНОВЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ,
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ИММУНОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Санкт-Петербург – 2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении дополнительного профессионального образования «Центральная государственная медицинская академия управления делами Президента Российской Федерации»

Научный консультант:

член-корреспондент РАН
доктор медицинских наук профессор

Иванов Андрей Михайлович

Официальные оппоненты:

Кушлинский Николай Евгеньевич - академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лаборатория клинической биохимии, заведующий.

Припутневич Татьяна Валерьевна – член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И.Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, институт микробиологии, антимикробной терапии и эпидемиологии, директор.

Шляпников Сергей Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, государственное бюджетное учреждение «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И.Джанелидзе» Комитета по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга, отдел хирургических инфекций, руководитель.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «04» апреля 2023г. в 11.30 часов на заседании диссертационного совета 04.1.001.01 на базе ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197374, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д. 54 и на сайте: <https://www.nrcerm.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук доцент

Санников Максим Валерьевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Сепсис в настоящее время представляется не только одной из самых актуальных и сложных междисциплинарных проблем современной медицины во всем мире, но и наиболее частой причиной смерти госпитализированных пациентов, его называют «скрытой медико-санитарной катастрофой». Это связано, прежде всего, с тенденцией роста заболеваемости и высоким уровнем летальности (30–50%) в отделениях хирургического профиля и ОРИТ (Гельфанд Б.Р. и др., 2017). Результаты международного аудита, проведенного в 2018 году, по отделениям реанимации и интенсивной терапии в различных странах показали, что сепсис с сопутствующей органной недостаточностью является основной причиной смерти, а госпитальная летальность у пациентов с сепсисом составляла 35,3% (Sakr Y. et al, 2019). Кроме того, накопленные за последние два десятилетия данные показали постепенное увеличение (8-13% в год) заболеваемости сепсисом в странах с высоким уровнем дохода (Martin G. S. et al, 2019) Всемирная организация здравоохранения на Всемирной ассамблее здравоохранения в 2017 определили приоритетные направления деятельности по борьбе с сепсисом приняв резолюцию «Совершенствование профилактики, диагностики и клинического ведения сепсиса» (Доклад секретариата 25A70/13, 13.04.2017).

Несмотря на наличие различных руководств, международных дискуссий и опубликованных алгоритмов, помогающих в ранней диагностике сепсиса, все еще сохраняются разногласия, что приводит к неправильному (недостаточному или избыточному) лечению. Клинические симптомы, связанные с сепсисом, ненадежны, а лабораторные показатели не всегда специфичны, что затрудняет раннюю диагностику сепсиса. Диагностика, основанная на использовании одного лабораторного маркера, не обеспечивает достаточной точности. Отсутствие специфических лабораторных тестов для диагностики и высокий процент отрицательных микробиологических тестов даже у пациентов с сепсисом усугубляют положение. Неспособность выявить сепсис на ранних стадиях задерживает эффективное лечение, что приводит к высокой смертности больных. Чтобы преодолеть эти ограничения, медицинские исследователи находятся в постоянном поиске лучших лабораторных тестов, для возможности отличия сепсиса от других неинфекционных причин синдрома системного воспалительного ответа.

В современных определениях сепсиса указано на инфекционную этиологию возникновения данного заболевания. По данным литературы, доля бактерий в патогенезе данного процесса составляет от 80% до 97% (Van Engelen T. S. R. et al., 2018) Следует отметить, что сепсис проявляется по-разному в зависимости от источника первоначальной инфекции и может диагностироваться только на поздних стадиях заболевания, когда признаки и симптомы становятся очевидными. Максимально быстрая постановка диагноза и своевременно назначенная антибиотикотерапия являются основополагающими для благоприятного исхода заболевания пациентов с сепсисом. Своевременно назначенная АБТ с предварительным взятием крови для проведения микробиологических лабораторных исследований, инфузионная и вазопрессорная терапия, под контролем определения концентрации лактата крови ведут к уменьшению летальности на 3,9% (Rello J. et al., 2018). Для идентификации инфекции, сегодня чаще используются классические методы микробиологической диагностики, которые принято считать «золотым стандартом». Однако ответ о наличии/отсутствии возбудителя инфекции по времени занимает 24-72 часа (известны случаи получения ответа и через 5-7 дней), это связано, прежде всего, с возможностями лаборатории, ее техническим оснащением. Достижения молекулярной биологии последних десятилетий позволило выявлять и идентифицировать ДНК/РНК патогена методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) в любом исследуемом биологическом материале, полученном от пациентов. Более того, возможно определение

резистентности выделенного патогена к действию АБП. Данные мероприятия ведут к снижению числа неблагоприятных исходов у пациентов с сепсисом (Scicluna B. P. et al., 2017)

Таким образом, в настоящее время, в связи с гетерогенностью природы септического процесса и недостаточной специфичностью клинических проявлений, для ранней диагностики сепсиса универсального лабораторного метода не существует. Использование совокупности микробиологических, молекулярно-биологических и иммунохимических методов могут обеспечить не только точную лабораторную диагностику, но и уточнять патогенез заболевания. Разработка новых, комплексных подходов и совершенствование методов лабораторной диагностики сепсиса гарантируют возможность ранней диагностики, мониторинга и прогноза снижения неблагоприятных исходов в условиях генерализации инфекции

Степень разработанности темы исследования

В настоящее время улучшилось понимание патофизиологии сепсиса, увеличилось количество применяемых в клинических условиях лабораторных маркеров бактериальной инфекции, сепсиса и ССВР, постоянно совершенствуются диагностические и лабораторные системы. Все существующие на данный момент биомаркеры используемые в диагностике сепсиса, можно разделить на диагностические и прогностические: диагностические предназначены для дифференциации бактериальной инфекции и сепсиса от неинфекционных тяжелых заболеваний, для определения возбудителей и оценки степени тяжести заболевания; прогностические определяют степень рисков для пациентов и прогнозируют результаты лечения.

Важно подчеркнуть, что почти во всех исследованиях, в качестве «золотого стандарта» обычно используется «культурально-положительный» сепсис, хотя у ряда пациентов с сепсисом гемокультуры могут оставаться отрицательными. До сих пор, недостаточно данных об оценке экономической эффективности большинства предлагаемых методов диагностики и лечения сепсиса и ССВР.

В литературе белковые и цитокиновые лабораторные маркеры сепсиса и ССВР рассматриваются как «традиционные» (Дон Е. С. и др., 2017). Прокальцитонин, является наиболее изученным биомаркером и достоверным лабораторным показателем, который часто применяется для определения продолжительности АБТ (Westwood M. et al 2015). Другими хорошо изученными биомаркерами являются лактат, С-реактивный белок (CRP), липополисахарид-связывающий белок, IL-6, растворимый запускающий рецептор, экспрессируемый на миелоидных клетках (TREM-1) и рецептор растворимого активатора плазминогена урокиназы (suPAR). Однако, ни один из них, не обладает достаточной специфичностью и чувствительностью для самостоятельного использования в диагностике и контроле лечения пациентов с сепсисом и ССВР, а также регулярного и простого применения в клинической практике.

Таким образом, сохраняется актуальность комплексной оценки лабораторно - диагностического значения отдельных лабораторных маркеров для верификации и прогнозирования течения септических состояний, разработка актуального, научно обоснованного клинико-лабораторного алгоритма своевременной диагностики сепсиса и ССВР для коррекции интенсивной терапии.

Цель и задачи исследования

Цель работы - на основе комплексного клинико-лабораторного анализа различных микробиологических, молекулярно-генетических и иммунохимических биомаркеров у пациентов с сепсисом обосновать и разработать алгоритм для верификации и прогнозирования течения септических состояний у больных ОРИТ в многопрофильном стационаре. Для достижения указанной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Провести сравнительную оценку результатов микробиологических и молекулярно-генетических методов выявления патогенов и определить диагностическую эффективность метода ПЦР для поиска этиологических инфекционных агентов;
2. Проанализировать и оценить диагностическую эффективность существующего в настоящее время алгоритма гемокультивирования для микробиологического исследования в диагностике септических состояний у пациентов многопрофильного стационара;
3. Определить наиболее информативные биомаркеры при сепсисе и ССВР для ранней диагностики, прогнозирования течения патологического процесса, неблагоприятного исхода и своевременной коррекции лечения;
4. Определить эффективность применения различных комбинаций биомаркеров для диагностики сепсиса и тяжелого сепсиса у больных в критическом состоянии;
5. По данным результатов микробиологических, молекулярно-генетических и иммунохимических исследований разработать комплексный клиничко-лабораторный диагностический алгоритм для мониторинга течения сепсиса, ССВР и коррекции интенсивной терапии.

Научная новизна

На большом клиническом материале продемонстрирована высокая эффективность комплексного лабораторно-диагностического обследования пациентов многопрофильного стационара с сепсисом и ССВР.

Впервые проведен сравнительный анализ результатов микробиологических и молекулярно-генетических исследований у пациентов ОРИТ, изучены возможности метода полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) для выявления инфекционного агента при сепсисе и ССВР.

Доказана возможность и определено клиническое значение применения методов молекулярной биологии для поиска инфекционного агента при септических состояниях.

Проведен комплексный клиничко-лабораторный анализ значимости отдельных биомаркеров и определен перечень наиболее информативных маркеров, позволяющих прогнозировать развитие, течение и исход сепсиса и ССВР у пациентов реанимационных отделений многопрофильного стационара.

Впервые изучена и определена прогностическая ценность определения пресепсина у пациентов ОРИТс целью диагностики, мониторинга и прогноза неблагоприятного исхода.

Впервые определены показатели расчета клиренса прокальцитонина и клиренса проадренормедулина, которые охарактеризованы как независимые предикторы неблагоприятного исхода сепсиса и ССВР.

Изучена и обоснована целесообразность включения определения концентрации проадренормедулина крови в перечень лабораторных исследований для пациентов реанимационных отделений.

На основе исследования комбинации различных биомаркеров (прокальцитонина, проадренормедулина, пресепсина, С-реактивного белка и абсолютного числа лейкоцитов) у пациентов реанимационных отделений создан диагностический алгоритм ранней диагностики септических осложнений.

Впервые разработан диагностический алгоритм клиничко-лабораторной диагностики сепсиса и ССВР пациентов реанимационных отделений для своевременной диагностики, мониторинга, коррекции интенсивной терапии и улучшения результатов лечения с указанием пороговых значений биомаркеров.

Теоретическая и практическая значимость

Показано, что проведение молекулярно-генетических лабораторных исследований параллельно со стандартными микробиологическими исследованиями для выявления

инфекционного агента при сепсисе и ССВР способствует своевременной диагностике, возможности раннего начала этиотропной терапии и улучшению результатов лечения.

Полученные в результате исследования данные позволяют расширить представления о механизмах развития сепсиса и ССВР. Прежде всего, показано, что белки семейства САРА ассоциированы с осложнениями и неблагоприятным исходом у пациентов ОРИТ.

Установлено, что одновременный расчет клиренсов лабораторных маркеров PCT и MR-proADM с оценкой в динамике через 24 и 120 часов от поступления пациентов в ОРИТ, значимо повышает диагностическую ценность данных лабораторных маркеров, позволяя определять развитие неблагоприятного исхода. Клиренс MR-proADM и клиренс PCT могут служить ранними лабораторными маркерами прогноза неблагоприятного исхода для пациентов, находящихся в реанимационных отделениях. Полученные результаты позволяют рекомендовать внедрение одновременного расчета клиренсов PCT и MR-proADM с оценкой в динамике для клинической практики.

Проведено углубленное изучение диагностических и прогностических характеристик пресепсина у пациентов, поступивших в ОРИТ с признаками сепсиса и ССВР. Полученные прогностические и диагностические характеристики этого показателя не выявили явных преимуществ по сравнению с другими известными биомаркерами.

Представлены ключевые данные по пороговым значениям лабораторных маркеров, которые могут быть использованы в стратификации госпитализированных пациентов с инфекцией в ОРИТ и предотвращения неблагоприятных исходов.

Впервые разработан и внедрен в клиническую практику многопрофильного стационара научно обоснованный алгоритм клинико-лабораторной диагностики сепсиса и ССВР для своевременной коррекции интенсивной терапии у пациентов ОРИТ, что может значительно улучшить результаты лечения.

Составлены научно обоснованные протоколы клинико-лабораторного обследования пациентов, поступающих в ОРИТ.

Методология и методы исследования

Методология настоящего исследования спланирована согласно поставленной цели. Методологической основой данной диссертационной работы явилось последовательное применение методов научного исследования, включающих: аналитический метод (теоретический анализ) – изучение отечественной и зарубежной литературы, касающейся вопросов этиологии, эпидемиологии, патогенеза, диагностики сепсиса и ССВР; эмпирические методы – сбор лабораторных и клинических данных, сравнение, логический анализ. Работа выполнена в дизайне продольного ретроспективного исследования с использованием клинических, лабораторных, аналитических и современных статистических методов обработки полученных данных. В работе были использованы биологические пробы пациентов реанимационных отделений (образцы сыворотки, плазмы, цельной крови, а также других биологических жидкостей), проходящих лабораторное обследование (в соответствии с нозологиями)

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Расширение стандартного микробиологического алгоритма выявления бактериальных патогенов в гемокультуре за счет включения молекулярно-генетических методов с учетом анализа микробного пейзажа ОРИТ способствует ранней диагностике инфекционных агентов.

2. Определение концентрации MR-proADM в сыворотке/плазме крови с расчетом клиренса MR-proADM и PCT при лабораторном обследовании пациентов, поступающих в ОРИТ с признаками сепсиса и ССВР, позволяет стратифицировать пациентов с тяжелым течением и высокой вероятностью неблагоприятного исхода.

3. Диагностическая значимость оценки лабораторных маркеров при сепсисе возрастает при использовании комбинации биомаркеров (PCT, MR-proADM, PSEP и абсолютное число лейкоцитов).

4. Применение разработанного алгоритма клинико-лабораторной диагностики сепсиса и ССВР для пациентов, поступающих в ОРИТ, способствует ранней диагностике, уточнению прогноза течения заболевания и своевременной коррекции терапии.

Степень достоверности и апробация результатов диссертационной работы

Достоверность результатов диссертационного исследования обеспечена детальным теоретическим анализом проблемы, подтверждается достаточным количеством наблюдений, использованием современных методов исследования, которые соответствуют поставленным в работе цели и задачам. Научные положения, выводы и практические рекомендации, сформулированные в диссертационной работе, подкреплены убедительными фактическими данными, наглядно представлены в таблицах и рисунках. Подготовка, анализ и интерпретация полученных результатов проведены с использованием современных методов обработки информации и статистического анализа.

Материалы диссертации представлены и обсуждены на: Российском конгрессе лабораторной медицины (30 сентября - 02 октября 2015, Москва), V научно-практической конференции «Здоровье иммунной системы. Лабораторная диагностика» (16 марта 2016, Москва), XXII Всероссийской научно-практической конференции «Теория и практика клинической лабораторной диагностики» (21-23 марта 2017, Москва), Межрегиональной научно-практической конференции «Санкт-Петербургский септический форум - 2017» (13-15 сентября 2017), XII Ежегодном конгрессе специалистов перинатальной медицины «Современная перинатология: организация, технологии, качество» (25 сентября 2017, Москва), III Российском конгрессе лабораторной медицины (11-13 октября 2017, Москва), Всероссийской научно-практической конференции «Лабораторная диагностика - клинической медицине: традиции и новации», (5-6 декабря 2017, Санкт-Петербург), VI Ежегодной научно-практической конференции «Здоровье иммунной системы. Иммунология от А до Я» (17 марта 2017, Москва), 22nd IFCC - EFLM European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (11-15 июня 2017, Афины, Греция), XI межрегиональной научно-практической конференции «Инновации в современной лабораторной медицине» (25-26 октября 2017, Новосибирск), IV Ежегодной научно-практической конференции «Лабораторная медицина - будущее и новации. 60 лет ЦКБ» (24 ноября 2017, Москва), Всероссийском конгрессе с международным участием «Актуальные вопросы медицины критических состояний» (11-13 мая 2018, Санкт-Петербург), V Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Санкт - Петербургский септический форум – 2018» (12-14 сентября 2018), IV Российском конгрессе лабораторной медицины (3-5 октября 2018, Москва), 4th Central and Eastern European Sepsis Forum «SepsEast-2018» (15-17 ноября 2018, Будапешт, Венгрия), Всероссийской научно-практической конференции «Лабораторная диагностика - клинической медицине: традиции и новации» (4-5 декабря 2018, Санкт-Петербург), I Национальном конгрессе с международным участием «Лабораторные технологии в репродуктивной медицине и неонатологии» (22-23 апреля 2019, Москва), 23rd IFCC-EFLM European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine EuroMedLab (19-23 мая 2019, Барселона, Испания), Всероссийской конференции с международным участием «Беломорский симпозиум VIII» (27-28 июня 2019, Архангельск), V Российском конгрессе лабораторной медицины (11-13 сентября 2019, Москва), VI Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Санкт - Петербургский септический форум - 2019» (11-13 сентября 2019, Санкт-Петербург), Всероссийской научно-практической конференции «Лабораторная диагностика - клинической медицине: традиции и новации» (3-4 декабря 2019,

Санкт-Петербург), XI Всероссийская с международным участием школа – конференция по клинической иммунологии «Иммунология для врачей» (2-8 февраля 2020, Пушкинские горы), VI Российском конгрессе лабораторной медицины (27 августа 2020, Москва), VII Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Санкт - Петербургский септический форум - 2020» (8-11 сентября 2020, Санкт-Петербург), XXV Юбилейная Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием наука и практика лабораторных исследований (16-18 сентября 2020, Москва), XVI Всероссийская конференция с международным участием «Проблема инфекции при критических состояниях» (18 июня 2021, Москва), VIII Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Санкт - Петербургский септический форум - 2021» (13-14 сентября 2021, Санкт-Петербург), VII Российском конгрессе лабораторной медицины (19-21 октября 2021, Москва), Всероссийская научно-практическая конференция «Межведомственное взаимодействие в лабораторной диагностике: традиции и инновации» (13-14 декабря 2021, Санкт-Петербург), XXVII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Клиническая лаборатория: вклад в борьбу с пандемией» (4-6 апреля 2022, Москва), VIII Российском конгрессе лабораторной медицины (6-8 сентября 2022, Москва), IX Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Санкт-Петербургский септический форум - 2022» (13-14 сентября 2022, Санкт-Петербург).

Диссертация апробирована на заседании кафедры Семейной медицины с курсами клинической лабораторной диагностики, психиатрии и психотерапии ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации (протокол № 1 от 12 февраля 2020 года).

Внедрение результатов в практику

Результаты настоящего исследования были внедрены в практическую работу и применяются в лечебно-диагностических процессах: Центра анестезиологии-реаниматологии ФГБУ «Центральная клиническая больница с поликлиникой» Управления делами Президента Российской Федерации, в лабораторном отделе ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Материалы диссертации включены в Клинические рекомендации «Особенности клинических проявлений и лечения заболевания, вызванного новой коронавирусной инфекцией (COVID-19), у детей» Версия 2 Министерства здравоохранения Российской Федерации и во Временные Методические рекомендации «Особенности клинических проявлений и лечения заболевания, вызванного новой коронавирусной инфекции COVID-19 у детей» Версия 2 Минздрава России, 2020 г.

Материалы работы внедрены в педагогический процесс ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации на кафедрах анестезиологии и реаниматологии, дерматовенерологии и косметологии, семейной медицины и терапии, хирургии с курсом эндоскопии, оториноларингологии, Института подготовки медицинских кадров НМИЦ здоровья детей Минздрава России, ДПО ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации на кафедре клинической биохимии и лабораторной диагностики. В ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия», разработана и внедрена в педагогический процесс профессиональная программа повышения квалификации для врачей-специалистов: «Микробиологические методы лабораторной диагностики и эпидемиологического мониторинга в отделениях ОРИТ», учебно-методические пособия «Современные маркеры сепсиса и системного воспаления для диагностики, мониторинга и прогноза состояния пациентов», «Лабораторная диагностика сепсиса и системного воспаления в многопрофильном стационаре».

Личный вклад автора

Автором сформулированы идея и направление научной работы, широко пропагандировала их на различных, в том числе международных научных форумах. Организовала и лично принимала участие в выполнении исследований по всем разделам диссертации: планирование научной работы, постановка цели и задач, разработка методических подходов и их выполнения, алгоритмы стратификации пациентов, выбор лабораторных маркеров и статистических методов, проведение лабораторных исследований, анализ клинических и лабораторных данных, их систематизация и обобщение, статистическая обработка, описание полученных результатов, на основании которых были сформулированы основные положения диссертационного исследования, выводы, практические рекомендации, написание и оформление основных публикаций по выполненной работе.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Областью исследования представленной диссертационной работы Вершининой Марины Германовны является изучение вопросов комплексной лабораторной диагностики сепсиса и ССВР на основе микробиологических, молекулярно-генетических и иммунохимических исследований, их значимости для разработки клиничко - лабораторного алгоритма диагностики у пациентов, поступающих в реанимационные отделения многопрофильного стационара. Задачи и научные положения диссертации, выносимые на защиту, соответствуют паспорту специальности 3.3.8 – Клиническая лабораторная диагностика, пунктам 1, 2, 4, 8 области исследования паспорта специальности.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 46 печатных работ, из них в рецензируемых научных журналах, включенных в перечень ВАК России – для публикаций основных научных результатов диссертационных исследований по специальности клиническая лабораторная диагностика – 16, издано учебно-методическое пособие, рекомендованное ФГБУ «ЦГМА» Управления делами Президента Российской Федерации в качестве учебного пособия для системы последипломного образования врачей специалистов: «Современные маркеры сепсиса и системного воспаления для диагностики, мониторинга и прогноза состояния пациентов» (Москва, 2019). Разработана и утверждена профессиональная программа повышения квалификации для врачей-специалистов: «Микробиологические методы лабораторной диагностики и эпидемиологического мониторинга в отделениях ОРИТ». По результатам исследования издано методическое пособие «Лабораторная диагностика сепсиса и системного воспаления в многопрофильном стационаре» (Москва, 2022).

Объем и структура диссертации

Текст диссертации изложен на русском языке в объеме 289 страниц машинописного текста и состоит из введения, глав, включающих обзор литературы, описание материалов и методов исследования, результаты собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы. Работа иллюстрирована 51 таблицами, 34 рисунками и 4 приложениями. Список использованной литературы включает 412 источников, из которых 43 отечественных и 369 зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Проведен комплексный мониторинг 2274 пациентов (мужчины 1222 (54%), женщины 1052 (46%)), в исследование были включены 7428 образцов биоматериала пациентов, поступивших в реанимационные отделения многопрофильного стационара с подозрением на сепсис и тяжелые инфекции в период с января 2013 по декабрь 2018 г., средний возраст пациентов составил $66,0 \pm 14,3$ лет. Распределение обследуемых пациентов по разделам работы, представлено в таблице 1.

Таблица 1. Распределение больных по разделам настоящей работы

Разделы работы	Кол-во больных	Женщины	Мужчины
Оценка микробного пейзажа ОРИТ и отделений многопрофильного стационара для выявления приоритетных патогенов сепсиса/ и/или тяжелых инфекционных заболеваний.	1116	527 (47%)	589 (53%)
Исследование метода выполнения посева крови на стерильность (гемокультивирование) применяемого в ОРИТ и других отделениях стационара.	657	320 (49%)	337 (51%)
Использование различных методов лабораторной диагностики для выявления возбудителей септических инфекций. Оптимизация диагностики нозокомиальной пневмонии в условиях стационара.	106	45 (42%)	61 (58%)
Значение биомаркеров в диагностике, мониторинге и прогнозе сепсиса и системного воспаления в ОРИТ.	127	54 (43%)	73 (57%)
Прокальцитонин для оценки прогноза риска развития инфекционных осложнений у пациентов с острым коронарным синдромом	154	59 (38%)	95 (62%)
Оптимизация антимикробной терапии с помощью теста на ПКТ	114	47 (41%)	67 (59%)

Обследование пациентов при поступлении в ОРИТ проводилось по принятым в медицинской организации программам, информация об анамнестических данных, осмотре и инструментальных исследованиях была получена из медицинской информационной системы (МИС), а также были выполнены соответствующие лабораторные исследования.

Оценка микробного пейзажа для выявления приоритетных патогенов. Данные для исследования были получены на основании результатов бактериальных посевов образцов биологических сред полученных от пациентов с подозрением на сепсис ССВР и/или тяжелые инфекционные заболевания поступивших в ОРИТ за период 2013-2018 гг. Материалом для изучения послужили образцы биологического материала: моча, кровь, отделяемое дыхательных путей, мокрота, бронхоальвеолярный лаваж, желчь, кал, экссудаты и транссудаты, синовиальная жидкость, материал слизистых оболочек верхних дыхательных

путей, мазки из урогенитального тракта, спинномозговая жидкость. Определяли частоту высеваемости и встречаемости значимых микроорганизмов. Исследование проводили классическими микробиологическими методами лабораторной диагностики. Данные по количеству выделенных штаммов микроорганизмов распределены по годам (табл.2).

Таблица 2. Количество выделенных штаммов микроорганизмов 2015-2018 гг

Годы	2015	2016	2017	2018
Количество выделенных штаммов	Всего по стационару			
	2258	2465	3156	5136
	ОРИТ стационара			
	630	621	640	1234

Исходные данные пациентов ОРИТ, обследуемых при изучении и анализе микробного пейзажа представлены в таблице 3.

Таблица 3. Исходные данные пациентов, включенных в анализ микробного пейзажа

Характеристика	Мужчины	Женщины	Всего
Количество пациентов / показатель в%	589 (53%)	527 (47%)	1116
Возраст, лет	61,9±15,8	68,0±14,3	60,5±15,7
Сопутствующие заболевания, n (%)			
Патология легких	112 (19%)	71 (14%)	183 (16%)
Инфекции другой локализации (ЖКТ, почек, мягких тканей)	71 (12%)	114 (22%)	185 (17%)
Злокачественные новообразования	162 (28%)	128 (24%)	290 (26%)
Хирургическая патология	92 (16%)	86 (16%)	178 (16%)
Заболевания сердечно-сосудистой системы	91 (15%)	85 (16%)	176 (16%)
Острое нарушение мозгового кровообращения	61 (10%)	43 (8%)	104 (9%)

Был проведен анализ микробного пейзажа; изучена чувствительность выявленных возбудителей инфекционного процесса к антибактериальным препаратам; определены наиболее часто выделенные патогены инфекции, проведен сравнительный анализ с данными представленными Национальной программой мониторинга антибиотикорезистентности НИИ антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО СГМУ Минздрава России и Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии, о частоте встречаемости возбудителей в медицинских организациях Российской Федерации.

Исследование метода выполнения посева крови на стерильность. Для оценки эффективности существующей практики выполнения посева крови на гемокультуру при диагностике инфекций кровотока было исследовано 1644 образцов крови, полученные от пациентов, находящихся на лечении в реанимационных отделениях. Исходные данные пациентов ОРИТ, включенных в исследование оценки эффективности существующей

практики выполнения гемокультивирования при диагностике инфекций кровотока представлены в таблице 4.

Таблица 4. Исходные данные пациентов ОРИТ, включенных в исследование

Характеристика	Мужчины	Женщины	Всего
Количество пациентов / показатель в%	320 (49%)	337 (51%)	657
Возраст, лет	62,9±15,0	69,0±14,0	66,0±15,1
Сопутствующие заболевания, n (%)			
Патология легких	53 (16%)	58 (17%)	111 (17%)
Инфекции другой локализации (ЖКТ, почек, мягких тканей)	51 (16%)	53 (16%)	104 (16%)
Злокачественные новообразования	77 (24%)	96 (29%)	173 (26%)
Хирургическая патология	57 (18%)	47 (14%)	104 (16%)
Заболевания сердечно-сосудистой системы	48 (15%)	55 (16%)	103 (16%)
Острое нарушение мозгового кровообращения	34 (11%)	28 (8%)	62 (9%)

У всех пациентов проводили отбор проб крови для гемокультивирования в течение 24-часового периода после поступления в ОРИТ в коммерческие флаконы для аэробов, анаэробов и грибов. Среднее количество флаконов от одного пациента составило 2,2. Два образца по 10 мл получали одновременно, или в течение 30 мин после первого путем венепункции правой/левой локтевых вен. Для оценки диагностических характеристик разработанной панели для выявления значимых патогенов методом ПЦР-РВ проводили исследование крови во флаконах с установленным бактериальным ростом (инкубация менее 24 часов) и во флаконах, где не было выявлено бактериального роста в сопоставимые интервалы времени.

Использование различных методов лабораторной диагностики для выявления возбудителей. Для сравнительной оценки результатов микробиологических и молекулярно-генетических методов выявления патогенов был применен метод ПЦР-РВ при диагностике и лечении нозокомиальной пневмонии в условиях стационара. Исследование было разделено на две фазы. В первой фазе было проведено сравнение результатов определения возбудителей пневмонии двумя различными лабораторными методами: культуральным методом и с помощью ПЦР-диагностики. Во второй фазе оценивались результаты лечения пневмонии при эмпирической антибактериальной терапии и целенаправленной, основанной на методе ПЦР-диагностики. Всего было обследовано находящихся на лечении в стационаре с различными видами пневмонии пациентов (n = 106), среди обследованных лиц женщины 54 (51%), средний возраст 57,1±6,01 года, мужчины – 52 (49%), средний возраст 60,5±6,11 года. Материалом для исследования была свободно отходящая мокрота, трахеальный аспират и образцы бронхоальвеолярного лаважа.

При изучении эффективности иммунохимических методов клинической лабораторной диагностики, для раннего выявления сепсиса, ССВР и тяжелого инфекционного процесса изучались следующие биомаркеры: прокальцитонин, С-реактивный белок, пресепсин, проаденомедулин. Для оценки диагностических характеристик биомаркеров для ранней и дифференциальной диагностики септических состояний было сформировано 4 группы пациентов: без подтвержденного диагноза сепсис, с диагнозом сепсис (SOFA ≤ 2), с

тяжелым сепсисом (SOFA > 2), которые анализировались попарно: без установленного диагноза сепсис / суммарно с установленным диагнозом сепсис и тяжелым сепсисом и с диагнозом сепсис / тяжелый сепсис. Данные пациентов в исследуемых группах сравнения представлены в таблице 5.

Таблица 5. Исходные данные пациентов, включенных в исследование диагностических характеристик лабораторных биомаркеров

Характеристика	Без установленного сепсиса (n = 63)	С установленным сепсисом (n = 64)	С установленным сепсисом (n = 27)	С тяжелым сепсисом (SOFA > 2) (n = 37)
Демография				
Возраст (лет)	67,9±17,8	68,2±15,0	68±15,0	67,4±16,8
Пол, n (%)				
Мужской	37 (58,7%)	36 (56,3%)	21 (77,7%)	20 (54,1%)
Женский	26 (41,3%)	28 (43,7%)	6 (22,3%)	17 (45,9%)
Сопутствующие заболевания, n (%)				
Дыхательная система	25 (39,7%)	26 (40,6%)	16 (59,3%)	20 (54,1%)
Мочевыделительная система	3 (4,8%)	4 (6,3%)	0 (0,0%)	2 (5,4%)
Органы брюшной полости	7 (11,1%)	6 (9,4%)	2 (7,4%)	2 (5,4%)
Центральная нервная система	9 (14,3%)	7 (10,9%)	4 (14,8%)	4 (10,8%)
Другие системы	6 (9,5%)	7 (10,9%)	2 (7,4%)	2 (5,4%)
Инфекции кровотока	13 (20,6%)	14 (21,9%)	3 (11,1%)	7 (18,9%)
Жизненные показатели				
Температура, °C	37,7±1,2	37,8±1,1	38,0±1,3	37,5±1,0

Оценивались возможности использования биомаркеров сепсиса для прогноза нежелательных исходов у пациентов ОРИТ. В соответствии с исходом лечения и данными о госпитальной летальности (до 28 дней) сформированы две группы: в первую группу вошли пациенты с благоприятным исходом, во вторую – пациенты с неблагоприятным исходом. Данные пациентов в исследуемых группах сравнения представлены в таблице 6.

Таблица 6. Исходные данные пациентов, включенных в исследование прогностических характеристик биомаркеров

Характеристика	С неблагоприятным исходом (n = 59)	С благоприятным исходом (n = 68)
Демография		
Возраст (лет)	68,0±16,6	71,0±16,9
Пол, n (%)		
Мужской	35 (62%)	38 (59%)
Женский	24 (38%)	30 (41%)

Продолжение таблицы 6

Характеристика	С неблагоприятным исходом (n = 59)	С благоприятным исходом (n = 68)
Сопутствующие заболевания, n (%)		
Инфекции другой локализации (ЖКТ, почек, мягких тканей)	12 (20%)	11 (16%)
Злокачественные новообразования	8 (14%)	9 (13%)
Хирургическая патология	8 (14%)	12 (18%)
Заболевания сердечно-сосудистой системы	11 (11%)	14 (21%)
Острое нарушение мозгового кровообращения	5 (8%)	6 (9%)
Оценка SOFA при поступлении (баллы)	6,2±3,1	4,3±1,4

Методы исследования.

Микробиологические методы исследования. Выделение микроорганизмов проводилось в соответствии со стандартными методиками. Для выделения чистой культуры микроорганизмов, их идентификации и определения чувствительности к антибактериальным препаратам выполнялся посев биологического материала на питательные среды. Одновременно производили посев на дифференциально-диагностические и селективные среды. Питательные среды были выбраны на основе количественной обсемененности изучаемого биоматериала. Для внутреннего контроля качества питательных сред были использованы контрольные штаммы микроорганизмов, которые применяются для оценки микробиологических исследований и характеристик питательных сред при стандартизации исследований. Чистые культуры микроорганизмов были изучены с помощью различных диагностических тестов в зависимости от вида бактерий и в соответствии с целями и задачами данного исследования. Проведено определение идентификации микроорганизмов, определение у выявленных микроорганизмов чувствительности к антимикробным препаратам (определение в МПК - минимальных подавляющих концентрациях), проводилось с помощью автоматических микробиологических анализаторов WalkAway 96 plus (Beckman Coulter, США), Vitek-2compact (BioMerieux, Франция). Для определения активности антибиотиков использовался диско - диффузионный метод. Гемокультивирование проводилось с помощью автоматического анализатора BD BACTEC 9050 (Becton Dickinson and Company, США) до момента регистрации микробного роста. Образцы биоматериала (кровь) объемом 8-10 мл, забирали путем венопункции из периферических вен, в стандартные аэробные/анаэробные флаконы с питательной средой. Критериями включения пациентов в исследование определялось подозрением на развитие септического состояния, наличие двух и более стандартных клинико-лабораторных признаков системного воспаления (Bone R. C. et al, 1992)

Молекулярно-генетические методы лабораторных исследований. Для проведения ПЦР в режиме реального времени для сопоставления результатов с данными классического метода культивирования, использовали амплификатор Rotor-Gene Q (QIAGEN Hilden, Германия) и термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот с оптическим модулем iQ5 Optical Module (Bio-Rad Laboratories Inc., США). Для определения возбудителей пневмонии использовали автоматическую систему проведения полимеразной цепной реакции закрытого цикла (UNYVERO System, фирмы «Curetis GmbH», Германия). При проведении мультиплексной полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени в амплификаторе Rotor-

Gene Q для каждой группы генов был использован специализированный набор реагентов для их выявления. Для этого были использованы наборы реагентов «СЕПТОСКРИН» НПФ «Литех» (Россия) и реагенты «АмплиСенс» производства ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора (Россия). Для качественного обнаружения ДНК микроорганизмов *Escherichia coli*, *Enterobacter spp*, *Klebsiella spp*, *Proteus spp*, *Serratia spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis/faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp* в биологическом материале применяли ранее указанные реагенты, наборы реагентов «СЕПТОСКРИН». ДНК метициллин-чувствительного и метициллин-резистентного *Staphylococcus aureus*, метициллин-резистентных коагулазонегативных *Staphylococcus spp*. в подготовленном биологическом материале выявляли, используя набор реагентов «АмплиСенс MRSA-скрин-титр-FL».

Иммунохимические методы. В рамках исследования для количественного измерения лабораторных маркеров в сыворотке/плазме крови, были использованы современные, автоматические, высокочувствительные иммунохимические анализаторы. Определение биомаркеров: С-реактивный белок (CRP) проводилось на иммунохимическом анализаторе Immulite 2000XPi (Siemens Healthcare Diagnostics, США) и нефелометре BN ProSpec (Siemens Healthcare Diagnostics, США). Измерение концентрации пресепсина (PSEP) на иммунохемилюминесцентном анализаторе PATHFAST (LSI Medience Corporation, Япония). Концентрацию прокальцитонина (PCT), и проадреномедулина (MR-proADM), измеряли на анализаторе BRAHMS Kryptor Compact Plus (Thermo Fisher Scientific, США). Для всех измерений использовали тест-системы производителей. Пробы крови, получали методом венепункции или из венозного катетера, затем подвергали центрифугированию 2000 g в течение 15 мин. Из полученной плазмы/сыворотки крови проводили исследования с использованием представленных ранее методов.

Методы определения лабораторных показателей для проведенных исследований. Общий /клинический анализ крови выполняли на гематологическом автоматическом анализаторе CellDyn Ruby (Abbott, США) с использованием реагентов производителя. Определяемые в проведенном исследовании параметры и референтные интервалы приведены в соответствии с методическими рекомендациями «Гематологические анализаторы. Интерпретация анализа крови» (утв. Минздравсоцразвития России 21.03.2007 № 2050-РХ). Все биохимические исследования выполнялись на автоматических анализаторах AU 680 (Beckman Coulter, Германия) и Thermo Konelab Prime 60 (Thermo Fisher Scientific, Финляндия).

Концентрации биомаркеров в сыворотке/плазме крови исследовали при поступлении в ОРИТ и затем измеряли еще несколько раз от начала лечения: в конце первых 24 часов (на 1-е сутки), через 48 часов (на 2-е сутки) и через 120 часов (на 5-е сутки).

Клиренс биомаркеров (Biomarker-c) рассчитывали по следующей формуле:

$$\frac{\text{Biomarker}_{\text{в начале}} - \text{Biomarker}_{\text{через 24/48/120 ч.}}}{\text{Biomarker}_{\text{в начале}}} \times 100$$

Референтные интервалы были установлены в соответствии с информацией, полученной от производителя и верификации приемлемости его интервалов для популяции пациентов, обследуемых в ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой». Верификация проводилась по методу CLSI EP28-A3C с 20 образцами (CLSI EP28-A3C «Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory»). По данным внутрилабораторного и внешнего контроля качества работы, при проведении исследований для данной диссертационной работы, выхода используемых в исследовании методов из-под контроля не отмечалось. Все оборудование, используемое в данном исследовании, а также реагенты и расходные материалы разрешены к

обращению/использованию на территории Российской Федерации в соответствии с номенклатурной классификацией медицинских изделий, утверждаемой Министерством здравоохранения Российской Федерации как изделия медицинского назначения (имеют действующие регистрационные удостоверения Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения).

Методы статистической обработки результатов исследований. Статистическую обработку результатов производили с использованием методов: оценка дескриптивных статистик, проверка нормальности распределения вероятностей, проверка равенства двух генеральных дисперсий, проверка гипотез о равенстве средних t-критерием Стьюдента, оценка коэффициентов корреляции Спирмэна и Пирсона, регрессионный анализ. В случае, если сравниваемые переменные не могли быть приведены к нормальному распределению и имели статистически значимое различие групповых дисперсий, проверка гипотез о различии между выраженностью признака в сравниваемых переменных проведена с помощью критерия Манн-Уитни (Mann-Whitney U-test). Описательная статистика непрерывных количественных данных при ненормальном распределении представлена в виде медианы (Md) и значений 25% нижнего и 75% верхнего квартилей [Q25- Q75]. Оценка операционных параметров тестов: диагностическая чувствительность, диагностическая специфичность, предсказательная ценность отрицательного и положительного результатов, диагностическая точность - по характеристическим кривым (ROC) с использованием метода Де-Лонга (DeLong's method, 1988, для вычисления среднеквадратичного отклонения ROC-кривой (Area Under the Curve, AUC) и индекса Юдена (Youden index J). Для расчетов использовали компьютерную программу MedCalc и MS Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Важным этапом проведенного исследования, изучение микробного пейзажа ОРИТ и отделений многопрофильного стационара за период 2015-2018 гг. Для выявления приоритетных патогенов сепсиса/тяжелого сепсиса и/или тяжелых инфекционных заболеваний, определения частоты их высеваемости и превалентности. Спектр возбудителей, которые исследовались в лаборатории, представлен достаточно широко и включает объемный перечень грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов.

Микробный пейзаж в медицинской организации, это результат процессов взаимодействия микроорганизмов и макроорганизма, которые существуют в многопрофильном стационаре, учитывая влияния разнообразных факторов окружающей среды. Проведенный в рамках исследования анализ предоставил возможность определить наиболее актуальные направления микробиологического мониторинга, позволяющего отслеживать изменения в структуре возбудителей ИСМП, а также тенденции в развитии устойчивости к АБП, выявление госпитальных штаммов, которые представляют серьезную угрозу для пациентов и развитию внутрибольничных инфекций.

Согласно полученным данным, по количеству выделенных штаммов в ОРИТ снижение штаммов грамотрицательных бактерий: *Escherichia coli* с 9,2% до 7,6%; *Acinetobacter spp.* с 11,1% до 7,6%; *Proteus spp.* с 5,2% до 2,8%; *Proteus mirabilis* с 3,0% до 2,4% и грамположительных бактерий: *Enterococcus spp.* с 7,98% до 6,1%; *Enterococcus faecium* с 2,4% до 1,8%; *Staphylococcus spp.* с 14,3% до 12,3%; *Streptococcus spp.* с 1,9% до 1,1%; *Streptococcus pneumoniae* с 1,0% до 0,6%. (рис.1А). Согласно данным, полученным при анализе микробного пейзажа стационара, выделенных штаммов, снижение грамотрицательных бактерий: *Klebsiella spp.* 17,0% - 13,3%, *Proteus spp.* 3,6% - 3,0%; *Proteus mirabilis* 2,2% - 2,1%, *Enterobacter spp.* 2,2% - 2,0% и грамположительных бактерий: *Enterococcus faecalis* 3,6% - 2,5%, *Staphylococcus aureus* 9,3% - 8,1% (рис.1Б).

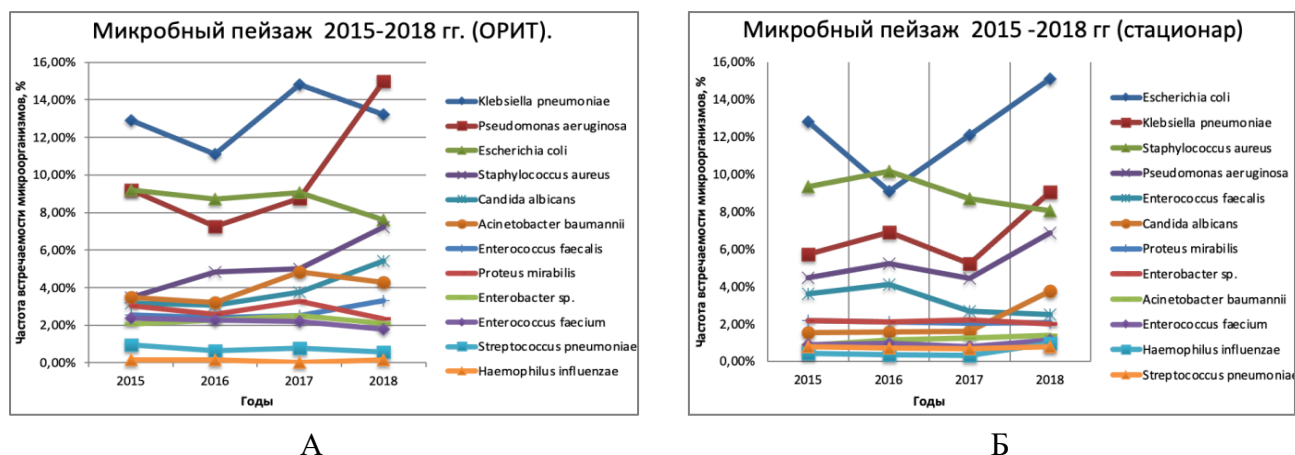


Рисунок 1. Частота встречаемости выделенных возбудителей инфекции ОРИТ и стационара

Проводилась оценка данных микробиологических посевов по частоте встречаемости микроорганизмов, принадлежащих к группе ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.*) по ОРИТ и другим отделениям многопрофильного стационара. Были изучены 16140 выделенных штаммов, из них 3125 от пациентов ОРИТ и 13015 от пациентов из отделений хирургического и терапевтического профилей. Результаты выявленных патогенов, принадлежащих к данной группе по ОРИТ и другим отделениям стационара представлены в таблице 7.

Таблица 7. Динамика встречаемости микроорганизмов группы ESKAPE

Микроорганизмы	ОРИТ (%)				Стационар (%)			
	2015	2016	2017	2018	2015	2016	2017	2018
<i>E.faecium</i>	2,4	2,3	2,2	1,8	0,9	1,0	0,8	1,1
<i>S. aureus</i>	3,5	4,8	5,0	7,2	9,3	10,1	8,7	8,1
<i>K.pneumoniae</i>	12,9	11,1	14,8	13,2	5,7	6,9	5,2	9,1
<i>A.baumannii</i>	3,5	3,2	4,8	4,3	0,8	1,1	1,2	1,4
<i>P.aeruginosa</i>	9,2	7,2	8,8	15,0	4,5	5,2	4,4	6,9
<i>Enterobacter spp</i>	2,1	2,3	2,5	2,1	2,2	2,1	2,2	2,0

По результатам мониторинга возбудителей нозокомиальных инфекций, относящихся к группе ESKAPE: в ОРИТ доминирующими отмечены: *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* и *Staphylococcus aureus*, снижение *E. faecium* и *Enterobacter spp.* Несущественное увеличение *S. Aureus*, *K.pneumoniae*, *A.baumannii* и *P.aeruginosa*, при этом все значения, не превышают средних по ОРИТ в медицинских организациях регионов: *E.faecium* 1,8 и 2,3%, т.е. ниже почти в два раза, *Enterobacter spp.* 2,1 и 2,7%, *S. Aureus* 7,2 и 10,2%, *K.pneumoniae* почти в два раза ниже 13,2 и 21,9%, *A.baumannii* ниже почти в три раза 4,3 и 15,7% и *P.aeruginosa* 15,0 и 17,3% (рис.2А). По стационару ведущие позиции принадлежат *Klebsiella pneumoniae* (9,1%) и *Pseudomonas aeruginosa* (6,9%), *Staphylococcus aureus* (8,1) (рис.2Б).

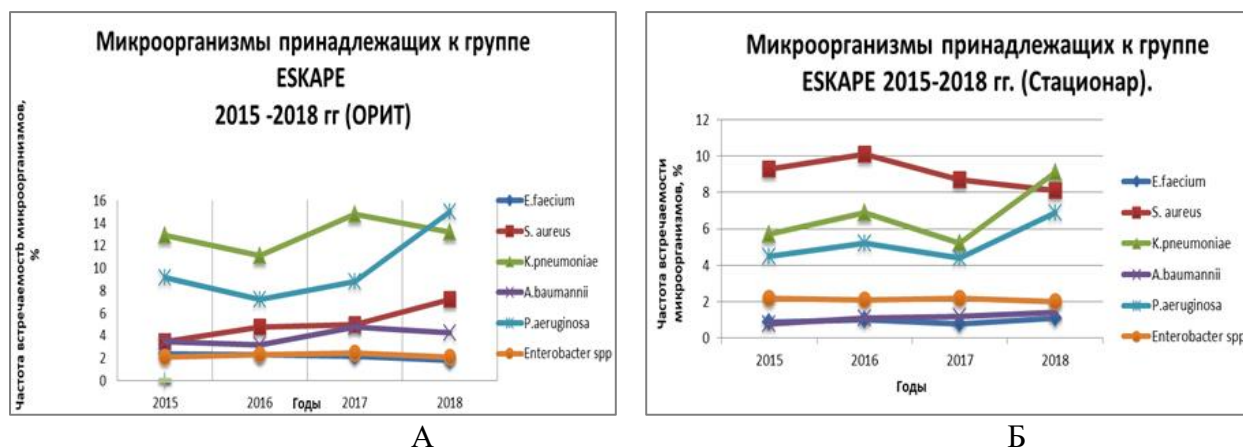


Рисунок 2. Динамика встречаемости выделенных микроорганизмов, принадлежащих к группе ESKAPE

Отмечено очевидное снижение *S. aureus* 9,3; 10,1; 8,7; 8,1 и *Enterobacter spp* 2,2; 2,1; 2,2; 2,0 – соответственно. Все полученные значения значительно ниже, чем средние в медицинских организациях по материалам национальной программы: *S. aureus* отмечено 8,1, а по региональным медицинским организациям 11,8, *E. faecium* 1,1 и 1,7 – соответственно и *Enterobacter spp* 2,0 и 2,6, *K. pneumoniae* ниже почти в два раза 9,1 и 16,7, *A. baumannii* ниже почти в десять раз 1,4 и 10,3 и *P. aeruginosa* ниже почти в два раза 6,9 и 12,6 - соответственно. Также необходимо отметить, что выделенная грамположительная микрофлора, обладала характерной чувствительностью к линезолиду и ванкомицину: *E. faecium* 97,0% и 96,0% *S. aureus* 98,9% и 99,1% - соответственно. При этом *E. faecium* отличались высокой резистентностью к ампициллину 92,0%, ципрофлоксацину 95,6% и гентамицину 62,0%, у *S. Aureus*. При выявлении в отделениях стационара грамотрицательной флоры была характерна чувствительность к колистину, цефтазидиму и амикацину. *K. pneumoniae* 89,5%, 95,6% и 72,5% соответственно. При этом у *K. pneumoniae* отмечена высокая резистентностью к амоксиклаву 91,1%, ампициллин 96,9% и ципрофлоксацину 83,1%, почти 100% чувствительность отмечена у *A. baumannii* к колистину 97,8%. При этом у *A. baumannii* - выявлена значимая резистентность к амикацину 91,1%, ципрофлоксацину, 98,2%, гентамицину 75,1 и имипенему 74,2%. У *P. aeruginosa* - отмечалась высокая чувствительность к колистину 93,3% и отмечена резистентность к ципрофлоксацину 65,1%, амикацину 48% и имипенему 67,0%. У *Enterobacter spp* отмечалась чувствительность к колистину 79,1%, к амикацину 76,1% и имипенему 83,1%, при этом выраженная резистентность к ампициллину 92,1%, цефтазидим 69,1% и гентамицин 47,1%. Результаты мониторинга резистентности микроорганизмов к АБТ дают возможность повысить эффективность выбора препаратов для терапии, предоставляя данные о свойствах тех микроорганизмов, которые циркулируют в ОРИТ и других отделениях стационара медицинской организации. Проведенный анализ позволил определить наиболее значимые направления микробиологического обеспечения инфекционного контроля и микробиологического мониторинга для лаборатории микробиологии.

Анализ результатов посева крови на стерильность (гемокультивирование)

Нами оценивался внутренний микробиологический протокол, где взятие биоматериала производили в 1-6 флаконов. Биоматериал забирали у пациентов с клиническими признаками ССВР и инфекционного процесса с подозрением на предполагаемую инфекцию кровотока с соблюдением всех требований преаналитического этапа. Образцы крови без промедления инкубировали в микробиологическом анализаторе инсталлированном в лаборатории экспресс диагностики, с доступом к исследованиям круглосуточно (24/7). После регистрации микробного роста на среде флаконов проводилось

окрашивание по методу Грамма, использовался микроскопический метод исследования для предварительной видовой идентификации микроорганизмов. Далее флаконы с положительной гемокультурой направлялись в плановую лабораторию клинической микробиологии лабораторной службы, для последующего субкультивирования на соответствующие твердые среды и выделение чистой культуры микроорганизма. Видовую идентификацию выявленных микроорганизмов и определение чувствительности к АМП выполняли на анализаторе, определяя минимальное значение ингибирующей концентрации (МИК) и диско - диффузионным методом с использованием стандартных дисков. Был проведен анализ зависимости количества положительных гемокультур от объема крови взятой для культивирования. Все полученные образцы были стратифицированы по количеству и виду флаконов на 5 групп:

- Группа 1 - 1 аэробный флакон (общий объем - 10 мл);
- Группа 2 - 2 флакона: 1 аэробный и 1 анаэробный (общий объем - 20 мл);
- Группа 3 - 3 флакона: 1 или 2 аэробных + 2 или 1 анаэробных (объем - 30 мл);
- Группа 4 - 4 флакона: 2 аэробных + 2 анаэробных (общий объем - 40 мл);
- Группа 5 - 5 флаконов и более: ≥ 2 аэробный + ≥ 2 анаэробный + ≥ 1 для грибов (общий объем - ≥ 50 мл);

Полученные результаты высеваемости микроорганизмов от объема культивируемой крови представлены в таблице 8.

Таблица 8. Высеваемость микроорганизмов от объема культивируемой крови

Группа	Кол-во флаконов	Кол-во образцов	Кол-во положительных результатов гемокультивирования	% высеваемости	Достоверность различий по отношению к предыдущей группе (p*)
1 флакон	249	249	21	8%	
2 флакона	428	214	62	29%	$\leq 0,0001$
3 флакона	285	95	30	32%	0,6443
4 флакона	448	112	40	36%	0,2501
5 флаконов и более	234	39	11	28%	0,2171
ИТОГО	1644	709	164	23%	

*Достоверность различий в группах определялась с использованием критерия χ^2 для качественных признаков.

Было установлено достоверное различие в количестве выявленных гемокультур в группе 1 (1 аэробный флакон) и в группе 2 (по 1 аэробному и анаэробному флакону). При увеличении объема крови, взятой для гемокультивирования, процент высеваемости был выше в группах 3 и 4 (32 и 36% соответственно), по сравнению с группой 2 (29%). Но эти различия были не достоверны. Можно предположить, что минимально достаточным следует признать одновременное взятие крови в 1 аэробный и 1 анаэробный флакон.

К недостаткам микробиологической диагностики сепсиса и тяжелого инфекционного процесса методом гемокультуры относят длительность культивирования (в среднем 24-48 часов), есть сложности с выявлением некультивируемых форм микроорганизмов, влияние оказывает проведение предварительной эмпирической АБТ у пациентов.

Повышение результативности микробиологического исследования инфекции кровотока.

Для ускоренной диагностики этиологии ССВР и тяжелого инфекционного процесса, нами был использован молекулярно-биологический метод исследования, ПЦР в режиме реального времени. Данный метод дает результаты быстрее, чем классические системы посева крови (время выполнения методики 4-6 часов). Образцы из флаконов с положительными культурами крови использовались для выделения бактериальной ДНК и выявления маркеров резистентности. Ускоренная идентификация микроорганизмов в клиническом материале методом ПЦР-РВ будет эффективной при наличии предварительных данных о возможных возбудителях в клиническом материале. На основании выполненного ранее анализа микробного пейзажа ОРИТ и других отделений стационара, в соответствии с выявленным спектром бактериальных и грибковых патогенов были выбраны наборы реагентов для видовой и родовой идентификации методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Была разработана диагностическая панель для выявления значимых патогенов, грам-положительные бактерии семейства (таблица 9). Надо отметить, что данную панель для выявления возбудителей инфекций кровотока, можно модифицировать при обнаружении новых патогенов, установленных при анализе микробного пейзажа ОРИТ и стационара. Внедрение молекулярно-биологического метода, позволяет идентифицировать большинство клинически значимых патогенов в положительных гемокультурах, а также проводить выявление специфических генов резистентности ассоциированных с инфекциями кровотока, существенно сокращая время получения результатов. Надо отметить, что метод ПЦР-РВ обладает высокой чувствительностью и специфичностью, дает возможность обнаружить в образцах биоматериала крайне малые концентрации возбудителей на родовом, видовом/субвидовом уровне.

Таблица 9. Комбинированная панель для определения ДНК возбудителей септических инфекций и генов резистентности к антибиотикам

Определение ДНК возбудителей	Антибиотики	Выявление генов резистентности	
		Гены	Кодируемый белок
Грам-положительные микроорганизмы			
<i>Streptococcus spp.</i>			
<i>Staphylococcus spp.</i> , в том числе <i>methicillin-resistant Staphylococcus</i> , <i>methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> , <i>methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci</i>	Метициллин, оксациллин	mecA	Пенициллинсвязывающий белок PBP2A
<i>E. faecium</i>	Ванкомицин, тейкопланин	VanA, VanB	Модифицированный дипептид D-Ala– D-Lac
<i>E. faecalis</i>			
Грам-отрицательные микроорганизмы			
<i>E. coli</i>	Карбапенемы	KPC	Карбапенемазы
<i>Proteus spp</i>		OXA-48	
<i>Klebsiella spp</i>			
<i>Serratia spp</i>		VIM	Металло-β-лактамазы
<i>Enterobacter spp.</i>		NDM	
<i>P. aeruginosa</i>		IMP	
Грибы рода <i>Candida</i>			
<i>C. albicans</i>			
<i>C. krusei</i>			
<i>C. parapsilosis</i>			
<i>C. tropicalis</i>			
<i>C. glabrata</i>			

Диагностическая панель для выявления значимых патогенов методом ПЦР-РВ с учетом данных микробного пейзажа ОРИТ была валидирована в сопоставлении с классическими микробиологическими методами. Для оценки диагностической чувствительности проводили ПЦР-РВ крови во флаконах с установленным бактериальным ростом (инкубация менее 24 часов). Для биоматериала в тех же флаконах выполнялось гемокультивирование. Для оценки диагностической специфичности исследовали методом ПЦР-РВ флаконы, где не было выявлено бактериального роста в сопоставимые интервалы времени. Результаты данных при совместном применении гемокультивирования и ПЦР-РВ представлены в таблице 10.

Таблица 10. Данные, полученные методом гемокультивирования и ПЦР-РВ

Результаты посева на гемокультуру	Количество флаконов	Результат ПЦР	
		Позитивный	Негативный
Позитивный	100	93 (93%)	7 (7%)
Негативный	100	12 (12%)	88 (88%)

На основании полученных результатов для метода ПЦР-РВ были рассчитаны операционные параметры выявления бактериемии Se, Sp, -VP и +VP.

- Диагностическая чувствительность (Se) – 93%;
- Диагностическая специфичность (Sp) – 88%;
- Предсказательная ценность положительного результата (+VP) – 89%;
- Предсказательная ценность отрицательного результата (-VP) – 93%.

Среди выявленных методом ПЦР-РВ возбудителей инфекции кровотока гены резистентности к антимикробным препаратам были обнаружены у 85 из 115 (73,9%) микроорганизмов. Различные маркеры резистентности к карбапенемам (VIM, IMP, NDM КРС, OXA-48) были выявлены у *Klebsiella spp.* в 91,0% случаев, у *P. aeruginosa* – в 67,0%, у *Staphylococcus spp.* (*S. Aureus*, *Staphylococcus aureus* (MRSA)) в 12,0% случаев, при этом при классическом бактериологическом исследовании результаты были сопоставимы. Выявлены резистентные штаммы *S. Aureus* к оксациллину 15,0%, *P. Aeruginosa* к имипенему 58,0%. *K. pneumoniae* к эртапенему 38,8%. На основе полученных данных, был разработан микробиологический алгоритм для диагностики инфекций кровотока (рис.3).

Алгоритм лабораторной диагностики инфекций кровотока

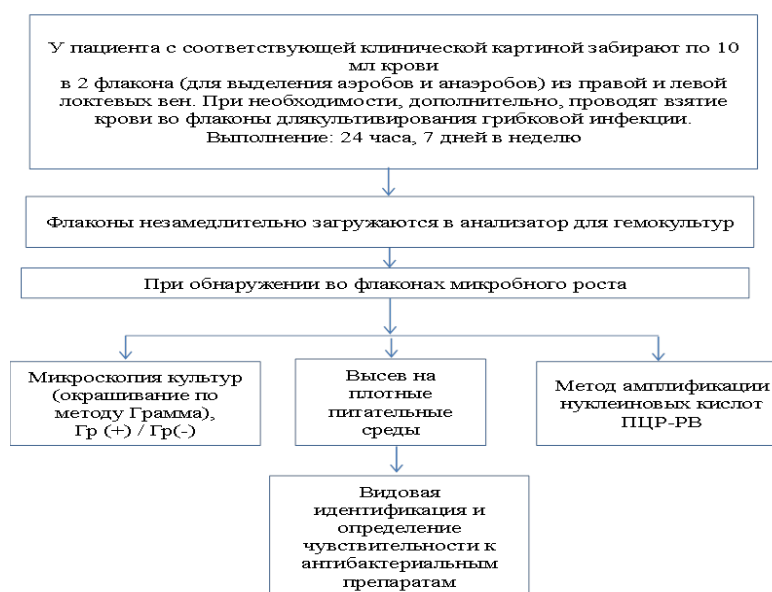


Рисунок 3. Микробиологический алгоритм для диагностики инфекций кровотока.

Молекулярно-генетический метод может служить дополнением к традиционным лабораторным методам диагностики инфекций кровотока (гемокультивирование), при этом сократить время диагностики.

Значение биомаркеров при сепсисе и ССВР для ранней диагностики, прогнозирования течения патологического процесса, неблагоприятного исхода и своевременной коррекции лечения

При поступлении всем включенным в выборку пациентам помимо стандартного обследования измерялся уровень PCT, CRP, PSEP, MR-proADM, проводили расчет клиренса лабораторных маркеров. Пациенты, у которых были отмечены клинические и лабораторные признаки ССВР и отмечена клинически доказанная инфекция, были отнесены в группу с установленным сепсисом (n = 64). Пациенты без признаков инфекционного процесса отнесены в группу без установленного сепсиса (n = 63). Для изучения возможности использования уровней лабораторных маркеров при развитии инфекционных осложнений, определения тяжести и дифференцировки сепсиса и локальной инфекции для поступивших в ОРИТ, проводили измерения указанных маркеров при поступлении в ОРИТ (0-24 часа), через 48 часов и 120 часов.

При сопоставлении медианных значений концентраций, исследуемых биомаркеров в стратифицированных группах пациентов, достоверные различия были выявлены для PCT, MR-proADM, PSEP, CRP, креатинина, лактата, лейкоцитов, нейтрофилов, SOFA (таблица 11).

Таблица 11. Медианные значения, межквартильные диапазоны в стратифицированных группах и «р» по критерию Манна-Уитни (n.s. – различия не достоверны)

Биомаркер	С установленным сепсисом (n = 64)	С неустановленным сепсисом (n = 63)	«р» по критерию Манна-Уитни
При поступлении 0-24 часа в ОРИТ			
PCT нг/мл	5,84 [2,41-34,68]	2,23 [0,60-6,67]	<u>0,0006 (< 0,05)</u>
MR-proADM, нмоль/л	2,22 [1,54-7,97]	1,49 [0,91-2,82]	<u>0,0005 (< 0,05)</u>
PSEP пг/мл	703,00 [254,25-1522,25]	310,50 [141,00-622,50]	<u>0,0067 (< 0,05)</u>
CRP нг/мл	104,00 [44,65-203,25]	75,00 [21,10-146,00]	0,0714 (n.s.)
Креатинин, мкмоль/л	116,50 [78,00-234,00]	97,00 [64,00-155,00]	<u>0,0471 (< 0,05)</u>
Лактат ммоль/л	2,00 [1,60-2,50]	1,70 [1,38- 2,73]	0,2977 (n.s.)
Лейкоциты*10 ⁹ /л	13,28 [7,68-20,70]	10,61 [7,31-13,03]	<u>0,0402 (< 0,05)</u>
Neu *10 ⁹ /л	10,14 [6,02-17,27]	8,59 [5,37-11,02]	0,0750 (n.s.)
SOFA	5,00 [4,00-6,00]	4,00 [4,00-6,00]	0,2352 (n.s.)
Через 48 часов в ОРИТ			
PCT нг/мл	5,30 [1,58-37,18]	2,40 [0,44-5,79]	<u>0,0020 (< 0,05)</u>
PSEP пг/мл	759,5 [216,00-1356,00]	1045,00[229,25-2051,50]	0,6310 (n.s.)

Продолжение таблицы 11

Биомаркер	С установленным сепсисом (n = 64)	С неустановленным сепсисом (n = 63)	«р» по критерию Манна-Уитни
CRP нг/мл	98,00 [35,65-161,50]	59,00 [30,25-131,75]	0,735 (n.s.)
Креатинин мкмоль/л	103,00 [67,50-208,00]	80,50 [64,00-218,00]	0,9359 (n.s.)
Лактат ммоль/л	1,90 [1,80-2,33]	1,60 [1,20-2,45]	0,0909 (n.s.)
Лейкоциты *10 ⁹ /л	11,30 [7,70-16,18]	9,91 [7,37-13,14]	0,2032 (n.s.)
Neu *10 ⁹ /л	7,72 [5,69-13,53]	8,26 [6,49-11,61]	0,6551 (n.s.)
SOFA	5,00 [4,00-7,00]	4,00 [3,00-6,75]	<u>0,0491 (< 0,05)</u>
Через 120 часов в ОРИТ			
PCT нг/мл	6,69 [1,01-37,59]	3,48 [1,09-9,66]	0,1640 (n.s.)
MR-proADM, нмоль/л	2,78 [1,66-7,42]	1,77 [0,72-3,35]	<u>0,0091 (< 0,05)</u>
PSEP пг/мл	728,00 [258,00-1161,00]	2088,00 [401,00-2714,00]	0,0895 (n.s.)
CRP нг/мл	101,50 [28,10-140,00]	78,00 [35,17-104,50]	0,574 (n.s.)
Креатинин, мкмоль/л	143,00 [69,00-256,00]	87,00 [69,25-295,25]	0,9391 (n.s.)
Лактат ммоль/л	1,90 [1,50-2,60]	1,40 [1,20-2,40]	0,1135 (n.s.)
Лейкоциты *10 ⁹ /л	11,50 [8,12-15,33]	9,02 [6,77-13,01]	0,7576 (n.s.)
Neu *10 ⁹ /л	10,13 [5,61-14,49]	7,88 [4,98-17,24]	<u>0,0463 (< 0,05)</u>
SOFA	5,00 [3,00-7,00]	3,00 [2,00-6,75]	0,1640 (n.s.)

Обращает внимание, что в данной выборке пациентов на 1 сутки пребывания в ОРИТ отмечены достоверные различия в группах для PCT, MR-proADM, PSEP, креатинина и лейкоциты в отличие от ситуации при поступлении, через 48 часов и 5 суток.

Были изучены возможности использования теста на PCT как маркера развития инфекционных осложнений у пациентов, поступивших в ОРИТ с подозрением на сепсис и ССВР. Данные по медианным значениям, межквартильным диапазонам (25-й и 75-й процентилю) в динамике, при поступлении 0-24 часа, через 48 и 120 часов в стратифицированных группах представлены в таблице 12.

Таблица 12. Медианные значения, межквартильные диапазоны (25-й и 75-й процентиля) и «р» по критерию Манна-Уитни (n.s. – различия не достоверны (non significant)).

Биомаркер	С клиникой инфекционного процесса	Без инфекционных осложнений	Манн-Уитни тест
При поступлении 0-24 часа в ОРИТ			
РСТ нг/мл	5,84 [2,41-34,68]	2,23 [0,60-6,67]	<u>0,0006 (< 0,05)</u>
Через 48 часов в ОРИТ			
РСТ нг/мл	5,30 [1,58-37,18]	2,40 [0,44-5,79]	<u>0,0020 (< 0,05)</u>
Через 120 часов в ОРИТ			
РСТ нг/мл	6,69 [1,01-37,59]	3,48 [1,09-9,66]	0,1640 (n.s.)

При определении данного биомаркера у пациентов ОРИТ в динамике была определена достоверность различий в концентрации РСТ при поступлении 0-24 часа и через 48 часов в ОРИТ, по критерию Mann-Whitney ($p < 0,05$). Через 120 часов пребывания пациентов в ОРИТ, по критериям Манн-Уитни группы достоверно не различаются 120 часов ($p > 0,05$).

На рис.4 представлены концентрация РСТ в группах пациентов с подтвержденной клиникой инфекционного процесса и без инфекционных осложнений.

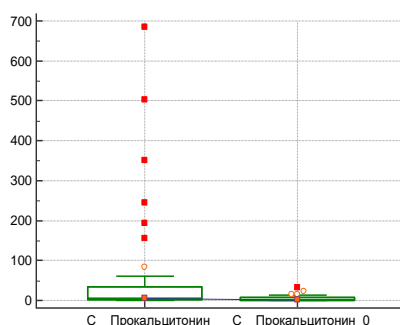


Рисунок 4. Концентрация РСТ в группах пациентов с подтвержденной клиникой инфекционного процесса и без инфекционных осложнений.

Полученные данные свидетельствуют, что различия значений медиан концентраций РСТ в группах пациентов с подтвержденной клиникой инфекционного процесса и без инфекционных осложнений - статистически достоверны ($p < 0,05$). Значения AUC ROC с определением площади под характеристической кривой cut off, расчет показателей чувствительности и специфичности теста на РСТ, как биомаркера для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений, определены положительная (ППЗ) и отрицательная (ОПЗ) прогностическая значимость теста при выбранном cut off при определении в динамике 0-24, 48 и 120 часов (табл.13).

Таблица 13. Характеристики теста на прокальцитонин как маркера риска развития инфекционных осложнений у пациентов, поступивших в ОРИТ с подозрением на сепсис и ССВР

РСТ нг/мл	0-24 часа	48 часов	120 часов
Cut off	>14,16	>9,238	>4,331
Чувствительность	42,1	44,2	54,4
Специфичность	100,0	88,2	67,7
Положительная прогностическая значимость	100,0	79,3	71,4
Отрицательная прогностическая значимость	60,7	60,8	50,0
Площадь под кривой	0,78	0,68	0,594
Уровень значимости P	< 0,0001	0,0008	0,1498

На рис. 5 представлены данные чувствительности и специфичности теста на РСТ для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений: при поступлении 0-24 часа в ОРИТ (рис.5А), через 48 часов поступления в ОРИТ (рис.5Б), через 120 часов (рис.5В)

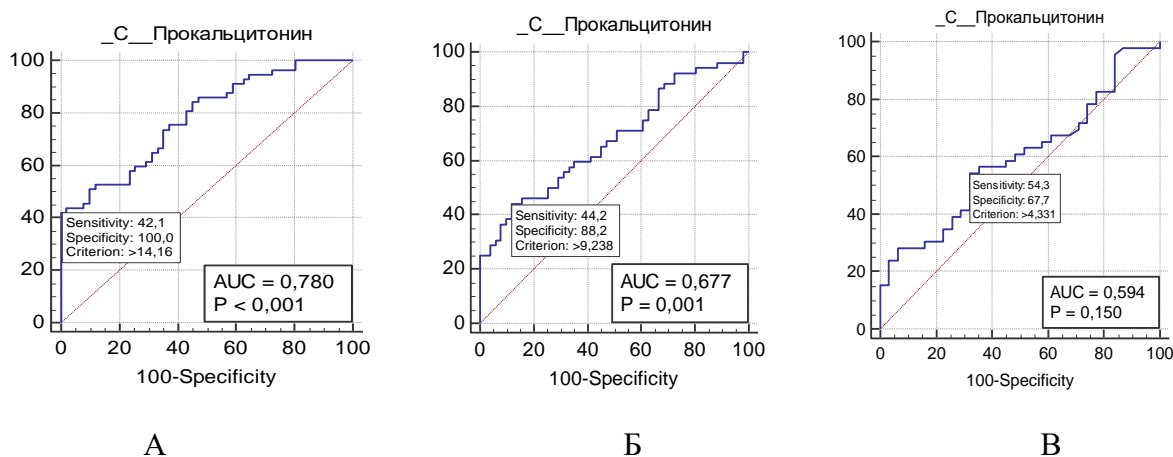


Рисунок 5. Чувствительность и специфичность теста на РСТ для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений.

В работе были изучены возможности использования теста на PSEP как маркера развития инфекционных осложнений у пациентов, поступивших в ОРИТ с подозрением на сепсис и ССВР. Медианные значения, межквартильные диапазоны (25-й и 75-й процентиля) в динамике 0-24 часа, 48 и 120 часов в стратифицированных группах пациентов (табл. 14).

Таблица 14. Медианные значения, межквартильные диапазоны PSEP в стратифицированных группах и «р» по критерию Манна-Уитни (n.s. – различия не достоверны (non significant)).

Биомаркер	Группа пациентов с подтвержденной клиникой инфекционного процесса	Группа пациентов без инфекционных осложнений	Манн-Уитни тест
При поступлении 0-24 часа в ОРИТ			
PSEP пг/мл	703,00 [254,25-1522,25]	310,50 [141,00-622,50]	<u>0,0067 (< 0,05)</u>
Через 48 часов в ОРИТ			
PSEP пг/мл	759,50 [216,00-1356,00]	1045,00[229,25-2051,50]	0,6310 (n.s.)
Через 120 часов в ОРИТ			
PSEP пг/мл	728,00 [258,00-1161,00]	2088,00 [401,00-2714,00]	0,0895 (n.s.)

При исследовании маркера PSEP в динамике, при поступлении 0-24 часа, через 48 и 120 часов достоверность различий в концентрации PSEP не отмечалась, по критериям Манн-Уитни, группы достоверно не различались при 48 и 120 часов ($p > 0.05$). Кроме этого, обращает на себя внимание, что через 48 и 120 часов медианное значение концентрации биомаркера в группе пациентов без инфекционных осложнений выше, чем в группе пациентов с подтвержденной клиникой инфекционного процесса. Концентрации маркера PSEP в группах пациентов с подтвержденной клиникой инфекционного процесса и без инфекционных осложнений (рис.6).

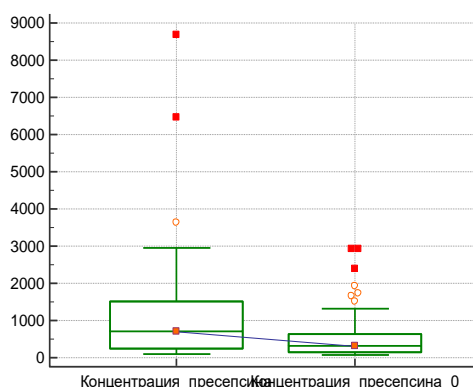


Рисунок 6. Концентрация пресепсина в группах пациентов с подтвержденной клиникой инфекционного процесса и без инфекционных осложнений.

Полученные данные свидетельствуют, что различия значений медиан концентраций пресепсина в группах пациентов - статистически достоверны ($p < 0,05$). Были определены значения AUC ROC с определением площади под характеристической кривой cut off, чувствительность и специфичность теста PSEP, как биомаркера для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений, а так же ППЗ и ОПЗ теста при выбранном cut off. Характеристики PSEP как маркера риска развития инфекционных осложнений у пациентов, госпитализированных в отделение интенсивной терапии с подозрением на сепсис, ССВР и тяжелые инфекции представлены в таблице 15.

Таблица 15. Характеристики PSEP как маркера риска развития инфекционных осложнений у пациентов, госпитализированных в ОРИТ с подозрением на сепсис и ССВР

PSEP пг/мл	0-24 часа	48 часов	120 часов
Cut off	>519	≤1356	≤1423
Чувствительность	57,5	77,78	85,7
Специфичность	74,5	46,2	70,0
Положительная прогностическая значимость	62,2	66,7	80,0
Отрицательная прогностическая значимость	70,7	60,0	77,8
Площадь под кривой	0,662	0,551	0,707
Уровень значимости P	0,0042	0,6509	0,0978

На рис. 7 представлены данные чувствительности и специфичности теста на PSEP для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений: при поступлении 0-24 часа в ОРИТ (рис.7А), через 48 часов поступления в ОРИТ (рис.7Б), через 120 часов (рис.7В).

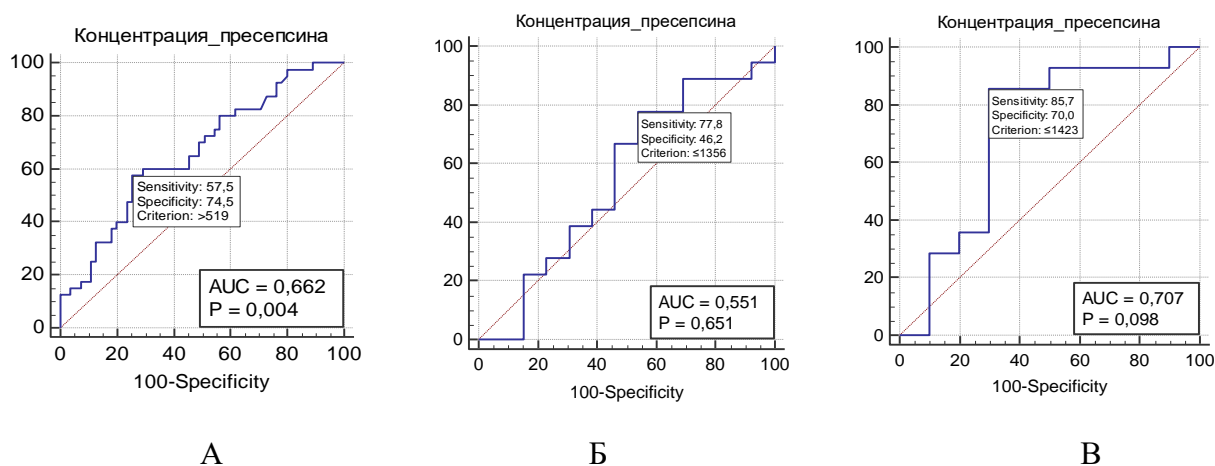


Рисунок 7. Чувствительность и специфичность PSEP для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений

Полиорганная недостаточность является одной из основных проблем пациентов с сепсисом и ССВР. Согласно данным проведенных ранее исследований (Rosenqvist M. et al., 2019) предполагается, что концентрация проадреномедулина отражает риск развития ПОН, а наблюдение за концентрацией MR-ргоADM крови в динамике, значительно увеличивает точность в оценке риска инфекционных процессов у пациентов ОРИТ. Концентрация

биомаркера измеряли в динамике: при поступлении 0-24 часа, через 48 и 120 часов. Данные медианных значений MR-proADM в динамике представлены в таблице 16.

Таблица 16. Медианные значения, межквартильные диапазоны MR-proADM в стратифицированных группах и «р» по критерию Манна-Уитни (n.s. – различия не достоверны (non significant)).

Биомаркер	Группа пациентов с подтвержденной клиникой инфекционного процесса	Группа пациентов без инфекционных осложнений	Манн-Уитни тест
При поступлении 0-24 часа в ОРИТ			
MR-proADM нмоль/л	2,22 [1,54-7,97]	1,49 [0,91-2,82]	<u>0,0005 (< 0,05)</u>
Через 48 часов в ОРИТ			
MR-proADM нмоль/л	2,35 [1,68-8,52]	1,86 [0,89-3,10]	<u>0,0090 (< 0,05)</u>
Через 120 часов в ОРИТ			
MR-proADM нмоль/л	2,78 [1,66-7,42]	1,77 [0,72-3,35]	<u>0,0091 (< 0,05)</u>

При исследовании маркера в динамике отмечалась достоверность различий в концентрации MR-proADM, по критериям Манн-Уитни, группы пациентов с подтвержденной клиникой инфекционного процесса и группа пациентов без инфекционных осложнений - достоверно различаются по 0-24, 48 и 120 часов (< 0,05). Концентрация MR-proADM в группах пациентов с подтвержденной клиникой инфекционного процесса и без инфекционных осложнений (рис.8).

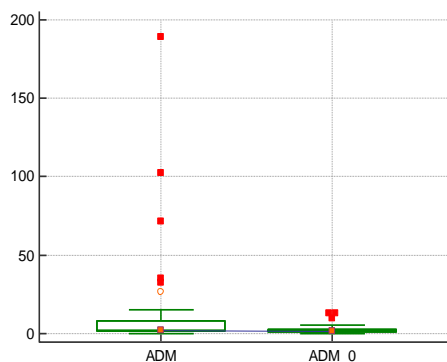


Рисунок 8. Концентрация MR-proADM в группах пациентов с подтвержденной клиникой инфекционного процесса и без инфекционных осложнений.

Определены значения AUC ROC анализа с определением площади под характеристической кривой, чувствительность и специфичность теста на MR-proADM, как биомаркера для выявления пациентов имеющих риск развития инфекционных осложнений, так же были установлены ППЗ и ОПЗ теста при выбранном cut off. Характеристики MR-proADM, как маркера риска развития инфекционных осложнений у пациентов, поступивших в ОРИТ с подозрением на сепсис и ССВР представлены в таблице 17.

Таблица 17. Характеристики MR-proADM как маркера риска развития инфекционных осложнений у пациентов, поступивших в ОРИТ с подозрением на сепсис и ССВР

MR-proADM	0-24 часа	48 часов	120 часов
Cut off нмоль/л	> 1,408	> 1,29	> 1,524
Чувствительность	86,0	88,5	89,1
Специфичность	50,9	41,2	45,2
Положительная прогностическая значимость	66,3	60,5	70,7
Отрицательная прогностическая значимость	76,3	77,8	73,7
Площадь под кривой (AUC ROC)	0,662	0,649	0,676
Уровень значимости P	0,0001	0,0058	0,0061

На рис. 9 представлены данные чувствительности и специфичности теста на MR-proADM, для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений: при поступлении 0-24 часа в ОРИТ (рис.9А), через 48 часов поступления в ОРИТ (рис.9Б), через 120 часов (рис.9В).

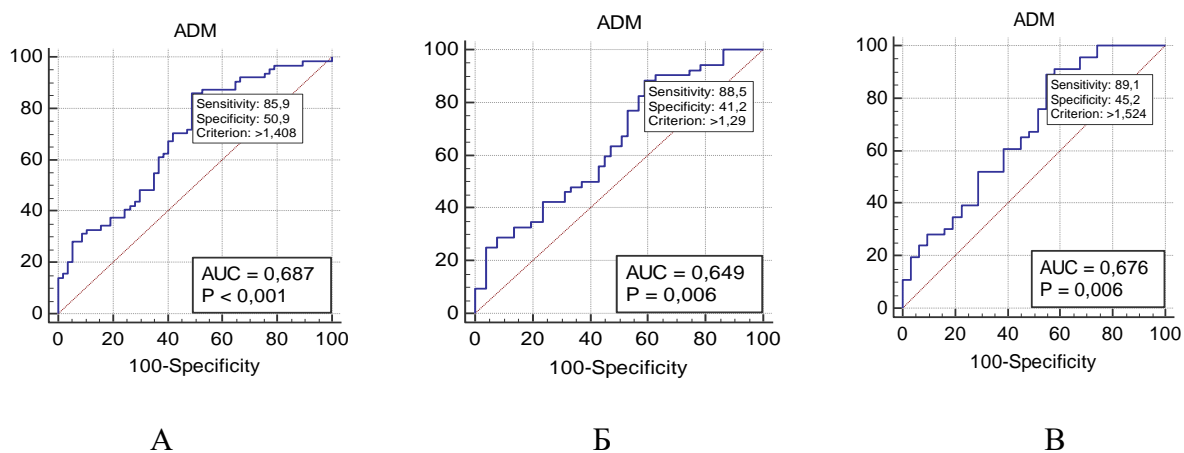


Рисунок 9. Чувствительность и специфичность MR-proADM для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений.

Лабораторные маркеры ССВР и ПОН для оценки прогноза неблагоприятного исхода. При сопоставлении медианных значений концентраций, исследуемых биомаркеров в стратифицированных группах пациентов достоверные различия были выявлены для PCT, MR-proADM, креатинина, лактата и CRP. (в зависимости от количества дней пребывания в ОРИТ). Их медианные значения, межквартильные диапазоны (25-й и 75-й процентиля) при поступлении, через 24 часа и 120 часов и критерий Манна-Уитни (Mann-Whitney тест) представлены в таблице 18.

Таблица 18. Медианные значения, межквартильные диапазоны в стратифицированных группах и «р» по критерию Манна-Уитни (n.s. – различия не достоверны (non significant))

Биомаркер	Пациенты с благоприятным исходом	Пациенты с неблагоприятным исходом (28 дней)	р по критерию Манна-Уитни
При поступлении в ОРИТ			
РСТ нг/мл	3,58 [0,61-10,68]	4,08 [0,91-21,33]	0,288 (n.s.)
MR-proADM нмоль/л	1,33 [0,69-2,50]	2,28 [1,19-5,50]	<u>0,014 (< 0,05)</u>
Креатинин, мкмоль/л	92 [63-155]	133 [86-226]	<u>0,0059 (< 0,05)</u>
Лактат ммоль/л	1,70 [1,4-2,2]	3,10 [1,5-4,5]	<u>0,009 (< 0,05)</u>
CRP нг/мл	130 [89-215]	112 [79-213]	0,574 (n.s.)
Через 24 часа (1 сутки)			
РСТ нг/мл	2,48 [0,70-10,37]	4,45 [0,94-26,20]	0,424 (n.s.)
MR-proADM нмоль/л	1,24 [0,89-2,84]	1,89 [0,88-3,11]	0,705 (n.s.)
Креатинин мкмоль/л	81 [65-180]	130 [72-289]	0,467 (n.s.)
Лактат ммоль/л	2,10 [1,7-2,6]	2,10 [1,2-2,8]	0,804 (n.s.)
CRP нг/мл	114 [48-186]	164 [64-212]	0,735 (n.s.)
Через 120 часов (5 сутки)			
РСТ нг/мл	2,29 [0,43-6,70]	11,50 [2,20-39,24]	<u>0,021 (< 0,05)</u>
MR-proADM нмоль/л	1,40 [1,07-2,81]	4,37 [2,99-10,44]	<u>0,009 (< 0,05)</u>
Креатинин, мкмоль/л	71 [59-180]	143 [86-321]	<u>0,035 (< 0,05)</u>
Лактат ммоль/л	1,06 [1,4-2,4]	1,90 [1,1-3,48]	0,862 (n.s.)
CRP нг/мл	47,70 [18,9-119,8]	203 [134,5-211,3]	<u>0,027 (< 0,05)</u>

Обращает на себя внимание, что в данной выборке пациентов на 1 сутки пребывания в ОРИТ не было достоверных различий в группах для РСТ, MR-proADM, креатинина и лактата в отличие от ситуации с теми же показателями лабораторных маркеров при поступлении и на пятые сутки. Например, для CRP отмечены различия в концентрации на 5 сутки пребывания в ОРИТ, что вероятно не исключает связь с особенностями индукции синтеза данного биомаркера в ответ на повреждение и/или инфекцию – повышение отмечается через 72 часа.

По данным литературы, клиренс лабораторных маркеров сепсиса и ССВР может являться более чувствительным показателем для прогноза исхода заболевания (Valenzuela-Sánchez et al., 2016). Были проведены расчеты клиренсов для лабораторных маркеров РСТ и MR-proADM в динамике через 24 и 120 часов и оценена достоверность различий в группах (таблица 19).

Таблица 19. Клиренс РСТ и клиренс MR-proADM (медианные значения, межквартильные диапазоны (25-й и 75-й процентиля)) через 24 и 120 часов в стратифицированных группах и «р» по критерию Манн-Уитни

Клиренс (%)	С благоприятным исходом	С неблагоприятным исходом (28 дней)	р по критерию Манн-Уитни
Через 24 часа (1 сутки)			
РСТ	(+15) [(-18)-(+49)]	(-10) [(-78)-(+20)]	<u>0,029 (< 0,05)</u>
MR-proADM	(+14) [(-7)-(+36)]	(-17) [(-94)-(+7)]	<u>0,032 (< 0,05)</u>
Через 120 часов (5 сутки)			
РСТ	(+74) [(+7) - (+89)]	(-54) [(-172) - (+57)]	<u>0,010 (< 0,05)</u>
MR-proADM	(+10) [(-40) - (+55)]	(-252) [(-537) - (-4)]	<u>0,026 (< 0,05)</u>

По нашим данным полученные значения клиренса прокальцитонина и клиренса проадреномедулина был достоверно выше в группе пациентов с благоприятным исходом. Наблюдалось снижение концентрации проадреномедулина у пациентов с благоприятным исходом и пациентов с неблагоприятным исходом с сепсисом и ССВР через 24 и 120 часов от поступления в отделение интенсивной терапии. Графики различий по значению клиренса MR-proADM в стратифицированных группах представлено на рисунке 10.

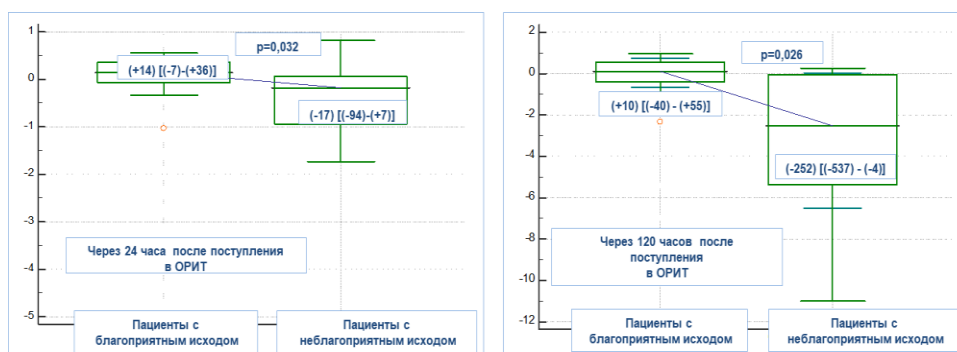


Рисунок 10. Клиренс MR-proADM (медианные значения, межквартильные диапазоны (25-й и 75-й процентиля), минимальное и максимальное значение по выборке) у пациентов с благоприятным исходом и неблагоприятным исходом септических пациентов через 24 часа и на 5 день от поступления в реанимационные отделения по данной выборке.

Использование комбинации биомаркеров для ранней диагностики сепсиса и тяжелых инфекций у пациентов ОРИТ. На первом этапе исследования изучались диагностические характеристики отдельных биомаркеров для диагностики сепсиса у пациентов ОРИТ с клиникой инфекционного процесса (в группах без установленного сепсиса (группа 1), с установленным сепсисом (группа 2) с установленным сепсисом (SOFA \leq 2) (группа 3), с тяжелым сепсисом (SOFA $>$ 2) (группа 4) при поступлении 0-24 часа, через 48 часов и на 5 сутки пребывания в ОРИТ. Их медианные значения, межквартильные диапазоны (25-й и 75-й процентиля) и «р» по критерию Манна-Уитни (Mann-Whitney тест) в исследуемых группах сравнения представлены в таблицах 20 и 21 - соответственно.

Таблица 20. Медианные значения, межквартильные диапазоны в группах без установленного сепсиса (группа 1) и с установленным сепсисом (группа 2)

Биомаркер	Группа 1 (n = 63)	Группа 2 (n = 64)	p по крит.Манна Уитни
При поступлении 0-24 часа в ОРИТ			
Количество лейкоцитов, *10 ⁹ /л	10,61 [7,31-13,03]	13,28 [7,68-20,70]	0,0402 (< 0,05)
РСТ, нг/мл	2,23 [0,60-6,67]	5,84 [2,41-34,68]	0,0006 (< 0,05)
MR-proADM, нмоль/л	1,49 [0,91-2,82]	2,22 [1,54-7,97]	0,0005 (< 0,05)
PSEP, пг/мл	310,50 [141,00-622,50]	703,00 [254,25-1522,25]	0,0067 (< 0,05)
CRP, нг/мл	75,00 [21,10-146,00]	104,00 [44,65-203,25]	0,0714 (n.s.)
Через 48 часов в ОРИТ			
Количество лейкоцитов, *10 ⁹ /л	9,91 [7,37-13,14]	11,30 [7,70-16,18]	0,2032 (n.s.)

Продолжение таблицы 20

Биомаркер	Группа 1 (n = 63)	Группа 2 (n = 64)	p по крит.Манна Уитни
PCT, нг/мл	2,40 [0,44-5,79]	5,30 [1,58-37,18]	<u>0,0020 (< 0,05)</u>
MR-proADM,, нмоль/л	1,86 [0,89-3,10]	2,35 [1,68-8,52]	<u>0,0090 (< 0,05)</u>
PSEP, пг/мл	1045,00[229,25-2051,50]	759,5 [216,00-1356,00]	0,6310 (n.s.)
CRP, нг/мл	59,00 [30,25-131,75]	98,00 [35,65-161,50]	0,735 (n.s.)
Через 120 часов в ОРИТ			
Количество лейкоцитов, *10 ⁹ /л	9,02 [6,77-13,01]	11,50 [8,12-15,33]	0,7576 (n.s.)
PCT, нг/мл	3,48 [1,09-9,66]	6,69 [1,01-37,59]	0,1640 (n.s.)
MR-proADM,, нмоль/л	1,77 [0,72-3,35]	2,78 [1,66-7,42]	<u>0,0091 (< 0,05)</u>
PSEP, пг/мл	2088,00 [401,00-2714,00]	728,00 [258,00-1161,00]	0,0895 (n.s.)
CRP, нг/мл	78,00 [35,17-104,50]	101,50 [28,10-140,00]	0,574 (n.s.)

При сопоставлении медианных значений концентраций, исследуемых биомаркеров в стратифицированных группах пациентов достоверные различия, были выявлены только для PCT, MR-proADM, PSEP, L (в зависимости от дня нахождения в ОРИТ).

Таблица 21. Медианные значения, межквартильные в группах с установленным сепсисом (SOFA ≤ 2) (группа 3) и с тяжелым сепсисом (SOFA > 2) (группа 4)

Биомаркер	Группа 3 (n = 27)	Группа 4 (n = 37)	p по крит. Манна-Уитни
При поступлении 0-24 часа в ОРИТ			
Количество лейкоцитов, *10 ⁹ /л	10,61 [7,31-13,03]	13,28 [7,68-20,70]	<u>0,0402 (< 0,05)</u>
PCT, нг/мл	1,30[0,31 -5,92]	20,16[4,32- 48,50]	<u>< 0,0001 (< 0,05)</u>
MR-proADM, нмоль/л	1,56[1,52- 2,11]	4,97[2,17 - 12,32]	<u>< 0,0001 (< 0,05)</u>
PSEP, пг/мл	851,00[1458,0 - 1756,0]	361,50[189,5- 1197,0]	0,0720 (n.s.)
CRP, нг/мл	98,6[48,60-169,50]	63,00[28,28-183,58]	0,2856 (n.s.)
Через 48 часов в ОРИТ			
Количество лейкоцитов, *10 ⁹ /л	9,91 [7,37-13,14]	11,30 [7,70-16,18]	0,2032 (n.s.)
PCT, нг/мл	1,24[0,64 - 3,51]	15,27[4,99 - 46,11]	<u>< 0,0001 (< 0,05)</u>
MR-proADM, нмоль/л	1,72[1,55 - 2,11]	3,45[2,17 - 10,72]	<u>0,0012 (< 0,05)</u>
PSEP, пг/мл	491,0[181,50- 860,0]	1356,0[613,8 -2508,8]	0,0626 (n.s.)
CRP, нг/мл	91,00[44,20-139,00]	72,00[31,00 -141,00]	0,5902 (n.s.)

Продолжение таблицы 21

Биомаркер	Группа 3 (n = 27)	Группа 4 (n = 37)	p по крит. Манна-Уитни
Через 120 часов в ОРИТ			
Количество лейкоцитов, *10 ⁹ /л	9,02 [6,77-13,01]	11,50 [8,12-15,33]	0,7576 (n.s.)
PCT, нг/мл	1,01[0,38 - 6,12]	11,01[4,22 - 48,19]	<u>0,0002 (< 0,05)</u>
MR-proADM, нмоль/л	1,66[1,54- 2,73]	3,78[2,17- 12,37]	<u>0,0003 (< 0,05)</u>
PSEP, пг/мл	728,00[258,00-1061,50]	943,00[526,0 -1852,0]	0,1247 (n.s.)
CRP, нг/мл	101,00[30,50-138,75]	102,00[32,33-139,79]	0,8935 (n.s.)

При сопоставлении медианных значений концентраций, исследуемых биомаркеров в стратифицированных группах пациентов достоверные различия, были выявлены для PCT, MR-proADM, PSEP, и количества лейкоцитов.

На основании рабочих характеристик ROC были определены предельные значения cut off: PCT, MR-proADM, PSEP, CRP и лейкоцитов для диагностики сепсиса в группах 1 и 2 (таблица 22) и для дифференциальной диагностики сепсиса и тяжелого сепсиса в группах 3 и 4 (таблица 23).

Таблица 22. Клиническая эффективность биомаркеров в диагностике сепсиса в группах 1 и 2

Биомаркер	Cut off	Se (%)	Sp (%)	LR+	LR-	AUROC	Уровень значимости(p)
При поступлении 0-24 часа в ОРИТ							
PCT	>14,16	42,11	100	21,47	0,59	0.780	<u>< 0.0001</u>
MR-proADM	>1,408	85,94	50,88	1,75	0,28	0.687	<u>0.0001</u>
PSEP	>519	57,5	74,55	2,26	0,57	0.662	<u>0.0042</u>
CRP	>102	50,00	70,18	1,68	0,71	0.593	0.072 (n.s.)
Лейкоциты	>12,9	51,56	75	2,06	0,65	0.607	<u>0.0402</u>
Через 48 часов в ОРИТ							
PCT	>9,238	44,23	88,24	3,76	0,63	0.677	<u>0.0008</u>
MR-proADM	>1,29	88,46	41,18	1,5	0,28	0.649	<u>0.0058</u>
PSEP	≤1356	77,78	46,15	1,44	0,48	0.551	0.651 (n.s.)
CRP	>81	61,54	60,78	1,57	0,63	0.600	0.077 (n.s.)
Лейкоциты	>11,2	54,9	68,18	1,73	0,66	0.576	0.206 (n.s.)
Через 120 часов в ОРИТ							
PCT	>4,331	54,35	67,74	1,68	0,67	0.594	0.150 (n.s.)
MR-proADM	>1,524	89,13	45,16	1,63	0,24	0.676	<u>0.0064</u>
PSEP	≤1423	85,71	70	2,86	0,20	0.707	0.098 (n.s.)
CRP	>99	52,17	70,97	1,80	0,67	0.560	0.372 (n.s.)
Лейкоциты	>9,4	65,22	58,62	1,58	0,59	0.582	0.237 (n.s.)

Достоверные различия медианной концентрации маркеров для диагностики сепсиса в группах 1 и 2 были обнаружены при поступлении для PCT, MR-proADM, PSEP и лейкоцитов, через 48

часов пребывания в ОРИТ – для PCT и MR-proADM, на 5 сутки нахождения в реанимации – только MR-proADM. Хорошая значимость AUROC (в диапазоне 0,7-0,8) получены только для концентрации прокальцитонина при поступлении при использовании cut off >14,16 ng/ml; средние значения AUROC (в диапазоне 0,6-0,7) – для концентрации MR-proADM, PSEP и лейкоцитов при поступлении (cut off >1,408 ng/ml, >519 pg/ml и >12,9*10⁹ соответственно); для концентрации PCT и MR-proADM через 48 часов (cut off >9,238 ng/ml и >1,29 ng/ml соответственно); только для концентрации MR-proADM на 5 сутки при использовании cut off >1,524 ng/ml.

Таблица 23. Клиническая эффективность биомаркеров в дифференциальной диагностике сепсиса и тяжелого сепсиса в группах 3 и 4.

Биомаркер	Cut off	Se (%)	Sp (%)	LR+	LR-	AUROC	Уровень значимости(p)
При поступлении 0-24 часа в ОРИТ							
PCT	>3,42	89,19	66,67	2,68	0,16	0,814	<u>< 0.001</u>
MR-proADM	>1,86	49,0	74,07	3,34	0,18	0,800	<u>< 0.0001</u>
PSEP	>610	75,0	65,00	2,14	0,38	0,666	0.060
CRP	>20	21,62	92,59	2,92	0,85	0,502	0.984 (n.s.)
Лейкоциты	>8,61	35,14	92,59	4,74	0,70	0,531	0.673 (n.s.)
Через 48 часов в ОРИТ							
PCT	>4,48	79,41	83,33	4,76	0,25	0,859	<u>< 0.001</u>
MR-proADM	>2,2	70,59	88,89	6,35	0,33	0,776	<u>< 0.001</u>
PSEP	>749	61,54	57,14	1,44	0,67	0,758	<u>0.019</u>
CRP	>82	64,71	50,00	1,29	0,71	0,539	0.643 (n.s.)
Лейкоциты	≤11,06	55,88	72,22	2,01	0,61	0,598	0.211 (n.s.)
Через 120 часов в ОРИТ							
PCT	>2,0	88,89	63,16	2,41	0,18	0,821	<u>< 0.001</u>
MR-proADM	>1,9	85,19	63,16	2,31	0,23	0,821	<u>< 0.001</u>
PSEP	>525	92,59	70,59	3,15	0,10	0,765	<u>0.001</u>
CRP	>39,7	74,07	36,84	1,17	0,70	0,512	0.896 (n.s.)
Лейкоциты	>10,0	59,26	47,06	1,12	0,87	0,523	0.798 (n.s.)

При дифференциальной диагностике сепсиса и тяжелого сепсиса в группах 3 и 4 достоверные различия медианной концентрации маркеров были обнаружены: при поступлении для PCT, MR-proADM и лейкоцитов, через 48 часов и на 5 сутки пребывания в ОРИТ – для PCT и MR-proADM. Хорошая значимость AUROC (в диапазоне 0,7-0,8) получены для концентрации PCT и MR-proADM при поступлении при использовании cut off >3,42 ng/ml и >1.86 ng/ml; для концентрации PCT, MR-proADM и PSEP через 48 часов (cut off >4.48 ng/ml, >2.2 ng/ml и >749 pg/ml соответственно); для концентрации PCT, MR-proADM и PSEP на 5 сутки (cut off >2.0 ng/ml, >1.9 ng/ml и >525 pg/ml соответственно).

Анализ полученных диагностических характеристик продемонстрировал, что ни один из используемых биомаркеров не имеет преимуществ в диагностической чувствительности и специфичности для клинического использования при диагностике и дифференциальной диагностике сепсиса и тяжелого сепсиса. Поскольку каждый биомаркер имеет ограниченную чувствительность и специфичность, представлялось интересным определить оптимальные комбинации лабораторных маркеров и использовать комбинированные панели

Для оценки клинической эффективности комбинации биомаркеров на основании предварительно полученных данных об их диагностической чувствительности и специфичности были выбраны лабораторные тесты: прокальцитонин, среднерегиональный проадреномедуллин, пресепсин и количество лейкоцитов как позволяющие диагностировать септическое состояние хотя бы в одной из контрольных точек. На основании пороговых значений, определенных по характеристическим ROC кривым и анализа данных литературы (PCT и CRP), определили диапазоны концентраций с присвоением по одному – два - три - балла за биомаркер со значением выше оптимальной точки отсечения в зависимости от исследуемого показателя. Данные простой бальной оценки с использованием пороговых значений концентрации (cut-off), полученных нами при изучении отдельных маркеров представлены в таблице 24.

Таблица 24. Параметры бальной оценки биомаркеров крови у пациентов ОРИТ в критическом состоянии с подозрением на сепсис

Показатели	Критерий	Оценка, баллы
PCT, нг/мл	< 0.5	0
	0.5-1.0	1
	1.0-14.0	2
	>14.0	3
MR-proADM, нмоль/л	< 1.4	0
	>1.4	1
PSEP, пг/мл	< 519.0	0
	>519.0	1
CRP, нг/мл	< 50.0	0
	>50.0	1
L*10 ⁹ /л	< 12.9	0
	>12.9	1

Далее нами изучались четыре комбинации лабораторных маркеров (таблица 25) для диагностики сепсиса у пациентов ОРИТ с признаками септических состояний в группах 1 и 2 и для дифференциальной диагностики сепсиса и тяжелого сепсиса в группах 3 и 4 в каждой из трех контрольных точек.

Таблица 25. Параметры бальной оценки биомаркеров крови у пациентов ОРИТ с подозрением на сепсис

Комбинации лабораторных маркеров	Используемые биомаркеры	Максимальное количество баллов
Модель - PAPsL	PCT, MR-proADM, PSEP, лейкоциты	6
Модель PCL	PCT, CRP, лейкоциты	5
Модель ACL	MR-proADM, CRP, лейкоциты	3
Модель PsCL	PSEP, CRP, лейкоциты	3

Индекс бальной оценки равен сумме всех показателей биомаркеров, включенных в исследуемые модели:

- Бальная оценка PAPsL = [исходный балл PCT + исходный балл proADM + исходный балл PSEP + исходный балл Лейкоциты].

- Бальная оценка PCL = [исходный балл PCT + исходный балл CRP + исходный балл Лейкоциты].
- Бальная оценка ACL = [исходный балл proADM + исходный балл CRP + исходный балл Лейкоциты].
- Бальная оценка PsCL = [исходный балл PSEP + исходный балл CRP + исходный балл Лейкоциты].

На основании рабочих характеристик ROC были определены предельные значения (cut off) суммарной бальной оценки изучаемых моделей лабораторных маркеров для диагностики сепсиса в группах 1 и 2 (данные представлены в таблице 26) и для дифференциальной диагностики сепсиса и тяжелого сепсиса в группах 3 и 4 (данные в таблице 27).

Таблица 26. Клиническая эффективность различных моделей в диагностике сепсиса в группах 1 и 2 (n.s. – различия не достоверны (non significant))

Модель	Cut off	Se (%)	Sp (%)	LR+	LR-	AUROC	Уровень значимости(p)
При поступлении 0-24 часа в ОРИТ							
Модель - PAPsL	>4	46,88	92,98	6,68	0,57	0,780	<u>< 0.0001</u>
Модель PCL	>3	45,31	85,96	3,23	0,64	0,719	<u>< 0.001</u>
Модель ACL	>1	79,69	56,14	1,82	0,36	0,750	<u>< 0.001</u>
Модель PsCL	>1	75	59,65	1,86	0,42	0,738	<u>< 0.001</u>
Через 48 часов в ОРИТ							
Модель - PAPsL	>3	71,15	70,59	2,42	0,41	0,732	<u>< 0.0001</u>
Модель PCL	>2	82,69	49,02	1,62	0,35	0,713	<u>< 0.0001</u>
Модель ACL	>1	78,85	54,9	1,75	0,39	0,698	<u>< 0.0001</u>
Модель PsCL	>1	65,38	62,75	1,76	0,55	0,676	<u>0.0005</u>
Через 120 часов в ОРИТ							
Модель - PAPsL	>3	67,39	67,74	2,09	0,48	0,682	<u>0.046</u>
Модель PCL	>3	32,61	77,42	1,44	0,87	0,555	0.351 (n.s.)
Модель ACL	>1	73,91	45,16	1,35	0,58	0,620	0.053 (n.s.)
Модель PsCL	>1	58,7	67,74	1,82	0,61	0,661	<u>0.0097</u>

При сопоставлении медианных значений суммарного количества баллов в изучаемых моделях для группы 1 и 2 достоверные различия по критерию Манна-Уитни были выявлены для всех комбинаций маркеров в трех контрольных точках, кроме моделей PCL и ACL на 5 сутки после поступления в ОРИТ.

Таблица 27. Клиническая эффективность различных моделей в дифференциальной диагностике сепсиса и тяжелого сепсиса в группах 3 и 4 (n.s. – различия не достоверны (non significant))

Модель	Cut off	Se (%)	Sp (%)	LR+	LR-	AUROC	Уровень значимости(p)
При поступлении 0-24 часа в ОРИТ							
Для применения	>4	64,86	77,78	2,92	0,45	0,780	<u>< 0.0001</u>
Модель PCL	>3	56,76	70,37	1,92	0,61	0,683	<u>0.0055</u>
Модель ACL	≤1	27,03	88,89	2,43	0,82	0,553	0.625 (n.s.)
Модель PsCL	>2	37,84	70,37	1,28	0,88	0.557	0.411 (n.s.)
Через 48 часов в ОРИТ							
Модель - PAPsL	>3	85,29	55,56	1,92	0,26	0,770	<u>< 0.0001</u>
Модель PCL	>2	91,18	33,33	1,37	0,26	0,678	<u>0.0204</u>
Модель ACL	≤1	23,53	83,33	1,41	0,92	0,511	0.879 (n.s.)
Модель PsCL	>1	73,53	50	1,47	0,53	0.641	0.055 (n.s.)
Через 120 часов в ОРИТ							
Модель - PAPsL	>3	96,3	63,16	2,61	0,059	0,830	<u>< 0.0001</u>
Модель PCL	>1	100	42,11	1,73	0	0,773	<u>0.0001</u>
Модель ACL	>2	29,63	84,21	1,88	0,84	0,561	0.442 (n.s.)
Модель PsCL	>1	70,37	57,89	1,67	0,51	0.690	<u>0.0124</u>

При оценке достоверности различий методом Манн-Уитни в группах 3 и 4 критерий $p > 0.05$ был показан для модели ACL во всех трех контрольных точках и для модели PsCL при поступлении и через 48 часов - различия не достоверны.

Для диагностики сепсиса у пациентов, госпитализированных в ОРИТ с клиникой инфекционного процесса, все изучаемые модели комбинации биомаркеров показали высокую диагностическую эффективность, при оценке состояния больных при поступлении и через 48 часов пребывания в ОРИТ (площадь под кривой AUROC более 0,7). Тогда как для дифференциальной диагностики сепсиса и тяжелого сепсиса при стратификации пациентов могут быть полезны для применения модели PAPsL и PCL. Таким образом, включение CRP в алгоритмы диагностики сепсиса у реанимационных больных целесообразно только совместно с определением теста на прокальцитонин. Отдельно следует отметить, что комплексное определение PCT, MR-proADM, PSEP и количества лейкоцитов с использованием бальной оценки согласно пороговым значениям (шкала PAPsL) обладает более высокими значениями чувствительности и специфичности для диагностики и дифференциальной диагностики сепсиса и тяжелого сепсиса, чем определение отдельных маркеров. При значении более 4 баллов по этой шкале вероятность наличия септического состояния у пациентов при поступлении в ОРИТ в 7 раз выше, чем у прочих пациентов. При этом следует отметить, что использование этой модели наиболее дорогостоящее среди всех предложенных вариантов комбинаций биомаркеров.

На рисунках 11 и 12 представлены характеристические ROC кривые комбинации лабораторных маркеров модели PAPsL у пациентов, поступивших в ОРИТ с клиникой инфекционного процесса в трех контрольных точках: 0-24 часа (11А;12А), 48 часов(11Б; 12Б) и 120 часов (11В; 12В) от поступления в ОРИТ.

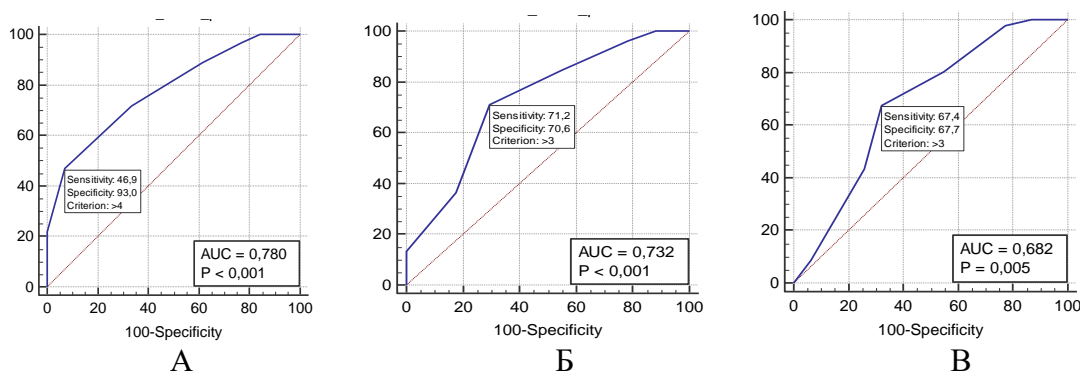


Рисунок 11. Характеристические ROC кривые модели PAPsL для диагностики сепсиса у пациентов ОРИТ с клиникой инфекционного процесса

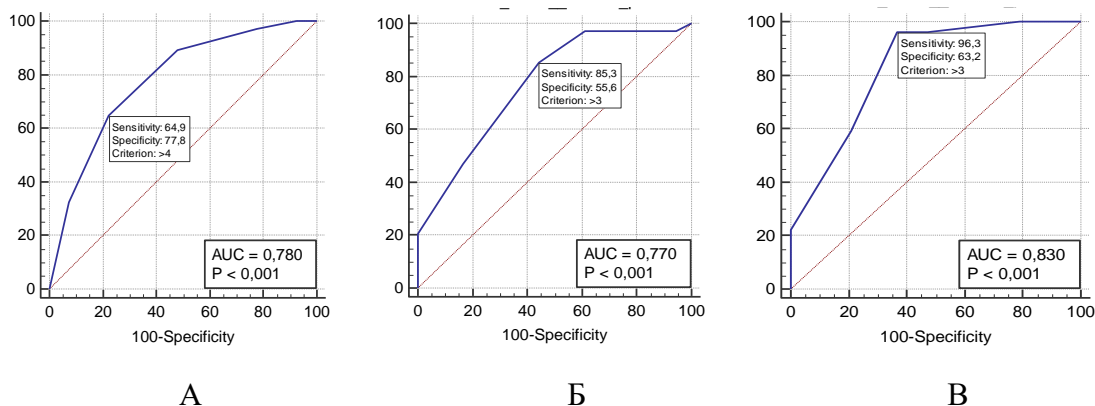


Рисунок 12. Характеристические ROC кривые модели PAPsL для дифференциально диагностики сепсиса ($SOFA \leq 2$) и тяжелого сепсиса ($SOFA > 2$) у пациентов ОРИТ

Следует отметить, что для использования пороговых значений бальной оценки концентрации лабораторных маркеров в клинической практике необходимы дополнительные клинические исследования и создание единого консенсуса по алгоритмам принятия клинических решений с учетом применения наиболее эффективной комбинации биологических маркеров.

Разработка алгоритма комплексной клиничко-лабораторной диагностики сепсиса и тяжелых инфекций для пациентов, поступающих в ОРИТ. Лабораторная диагностика является значимым компонентом в постановке диагноза сепсиса, ССВР и тяжелых инфекций. Различные лабораторные тесты применяются для скрининга, мониторинга течения заболевания, контроля за проводимой терапией. При этом, несмотря на многочисленные исследования, нет окончательного консенсуса при интерпретации их результатов. Сохраняется потребность в ранних лабораторных маркерах, которые помогут выявлять развитие дисфункции органов, ухудшение реакции организма, это позволит применять наиболее подходящие терапевтические методы в максимально ранние сроки.

По результатам исследования и оценки диагностической и прогностической эффективности лабораторных методов используемых при оценке неотложных критических состояний ассоциированных с риском развития сепсиса и ССВР, нами был разработан комплексный клиничко-лабораторный диагностический алгоритм для ранней диагностики сепсиса и ССВР, для мониторинга течения и максимально быстрой коррекции интенсивной терапии пациентов ОРИТ. Необходимо отметить, что в настоящее время нет чётких рекомендаций по комплексному применению изученных нами лабораторных методов, для мониторинга течения сепсиса, ССВР и коррекции интенсивной терапии пациентов ОРИТ. Предлагаемый алгоритм представлен на рисунке 13. Отметим, что разработка данного клиничко-лабораторного алгоритма была бы невозможна без углубленного изучения диагностических и прогностических характеристик биологических маркеров, полученных в ходе исследования объективных данных о применении методов молекулярной биологии для поиска инфекционного агента. Алгоритм клиничко-лабораторной диагностики ССВО для пациентов ОРИТ по своей структуре, состоит из трех последовательных этапов скрининга: микробиологических, молекулярно-генетических и иммунохимических исследований.

На первом этапе скрининга - микробиологические исследования: проводится взятие крови для гемокультивирования, одновременно не менее 2 флаконов (аэробный и анаэробный, общий объем крови не менее - 20 мл), по нашим данным, не выявлено роста количества гемокультур при увеличении объема крови ($p < 0,0001$), при получении положительных результатов, переход ко второму этапу скрининга.

На втором этапе скрининга – молекулярно-генетические исследования, для сокращения времени идентификации бактериальных и грибковых патогенов инфекций кровотока (до 4–6 ч.) нами применен метод ПЦР-РВ, с применением разработанной панели для выявления бактериальных патогенов и маркеров резистентности молекулярно-генетическими методами представленной в таблице 9. На основании полученных результатов, операционные параметры выявления бактериемии: Диагностическая чувствительность составила - 93%; Диагностическая специфичность составила -88%; Предсказательная ценность положительного результата - 89%; Предсказательная ценность отрицательного результата - 93%.

На третьем этапе скрининга - иммунохимические исследования, проводится анализ следующих лабораторных маркеров: MR-proADM, PSEP, CRP, PCT, количества лейкоцитов и анализируются полученные результаты комбинации лабораторных маркеров. Следует отметить, что комплексное определение PCT, MR-proADM, PSEP и количества лейкоцитов с использованием балльной оценки согласно пороговым значениям (модель PAPsL) обладает более высокими значениями чувствительности и специфичности диагностики и дифференциальной диагностики сепсиса и тяжелого сепсиса, чем определение отдельных лабораторных маркеров. При значении более 4 баллов по этой шкале вероятность наличия септического состояния у пациентов при поступлении в ОРИТ в 7 раз выше, чем у прочих пациентов. При невозможности определения всех биомаркеров из этой панели можно использовать сокращенные модели, что, однако, снижает показатели чувствительности и специфичности.

Для пациентов, поступающих в ОРИТ с подозрением на инфекцию, важна ранняя диагностика заболевания, должна быть в кратчайшие сроки выявлена или отвергнута опасность бактериальной инфекции, установлено наличие органной дисфункции, вовремя и грамотно назначена этиотропная, эмпирическая, патогенетическая терапия.

Клинико-лабораторный алгоритм для ранней диагностики, мониторинга течения сепсиса, ССВР и коррекции интенсивной терапии

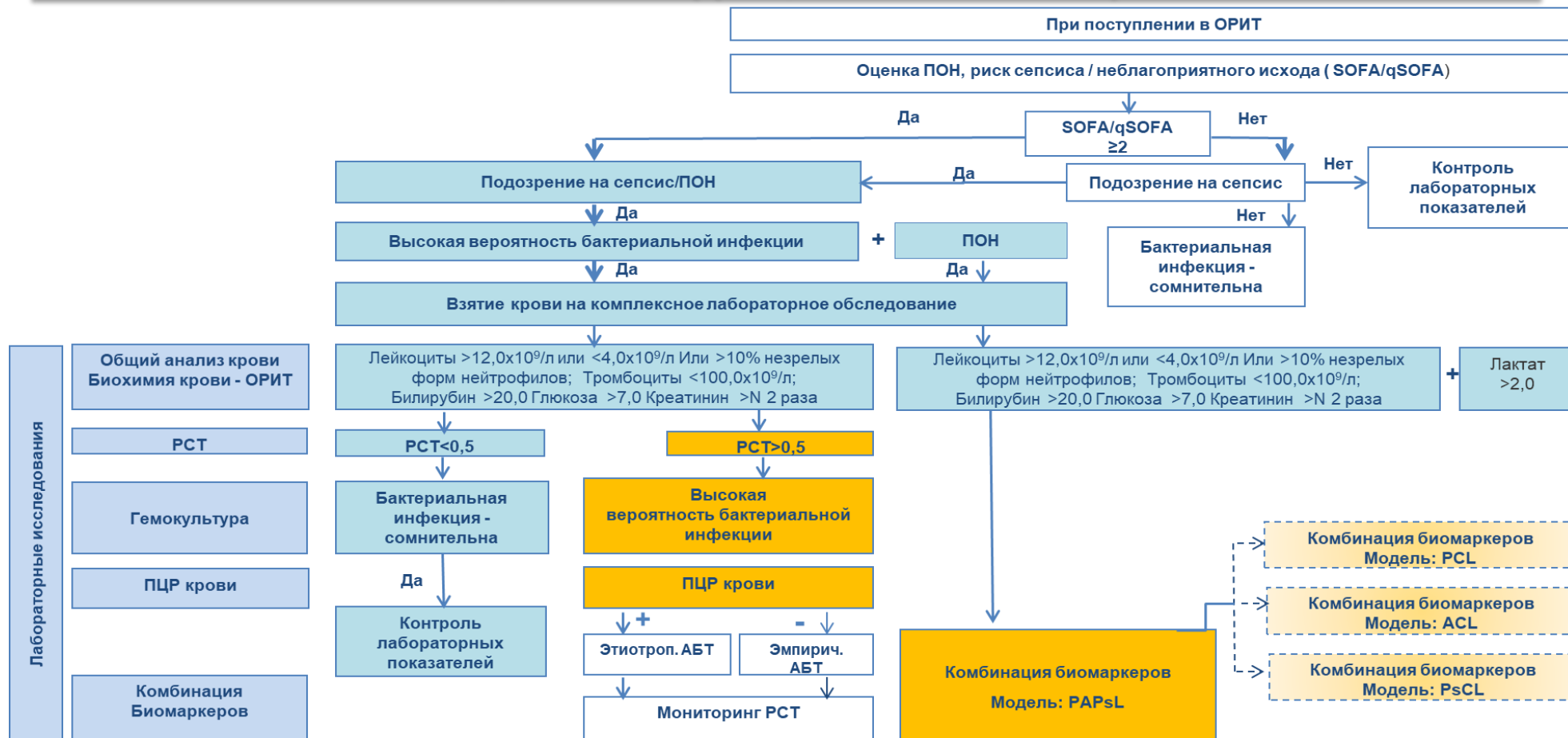


Рисунок 13. Клинико-лабораторный алгоритм для ранней диагностики, мониторинга течения сепсиса, ССВР и коррекции интенсивной терапии

ВЫВОДЫ

1. Комплексное использование микробиологических и молекулярно-генетических исследований методом ПЦР в режиме реального времени повышает эффективность поиска инфекционного агента при дифференциальной диагностике сепсиса и ССВР. Использование диагностической панели ПЦР-РВ позволяет сократить время идентификации бактериальных и грибковых патогенов инфекций кровотока до 4–6 ч при сохранении высокой чувствительности (93%) и специфичности (88%) исследования.
2. Для результативной микробиологической диагностики сепсиса, ССВР и инфекционного процесса целесообразно использовать 2 флакона для культивирования гемокультуры, одновременно для аэробов и анаэробов, а общий объем культивируемой крови должен составлять не менее 20 мл для обеспечения необходимой чувствительности.
3. На основании комплексного клинико-лабораторного анализа определен перечень наиболее информативных маркеров для диагностики сепсиса и ССВР и риска неблагоприятного исхода: прокальцитонин, MR-проадреномедуллин, пресепсин и С-реактивный белок.
4. Расчет клиренсов прокальцитонина и MR-проадреномедулина может быть использован как независимый предиктор неблагоприятного исхода сепсиса, что принципиально важно для стратификации пациентов в клинических исследованиях.
5. Разработанный комплексный алгоритм клинико-лабораторной диагностики сепсиса, основанный на исследовании комбинации биомаркеров (прокальцитонина, проадреномедулина, пресепсина и абсолютного числа лейкоцитов) у пациентов реанимационных отделений, позволяет проводить своевременную коррекцию интенсивной терапии и достигать улучшения результатов лечения.
6. Внедрение в клиническую практику алгоритма комплексной клинико-лабораторной диагностики сепсиса и системного воспаления для пациентов, поступающих в ОРИТ, обеспечивает возможность наиболее ранней диагностики и повышает эффективность лечения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для выявления пациентов, которые находятся в группе риска по развитию бактериальной инфекции, органной дисфункции, септических состояний в клинической практике рекомендуется:

- взятие крови и других, биологических жидкостей на комплексное лабораторное обследование для выполнения микробиологических, молекулярно-генетических и иммунохимических исследований при дифференциальной диагностике сепсиса и тяжелого сепсиса у пациентов, поступающих в ОРИТ;

- выполнять микробиологические исследования и молекулярно-генетические исследования с учетом микробного пейзажа стационара.

- сформировать панель для выявления бактериальных патогенов и маркеров резистентности молекулярно-генетическими методами на основании микробного пейзажа;

- определять концентрацию PCT (количественный), MR-proADM, CRP рекомендуется в 1-й/2-й/5-й день после поступления пациента в ОРИТ;

- проводить расчет клиренса проадреномедулина (MR-proADM) и прокальцитонина (PCT) у пациентов, поступающих в ОРИТ с признаками ССВР и сепсиса.

2. Использование ПЦР-диагностики в режиме реального времени позволит проводить этиотропную терапию с момента поступления больного в стационар.

3. В клинической практике целесообразно определение 4 биомаркеров – PCT, MR-proADM, PSEP и CRP в качестве маркеров бактериальной инфекции, органной

недостаточности, для оценки тяжести течения, эффективности проводимой терапии.

4. Проведение микробиологической диагностики инфекций кровотока, с одновременным культивированием аэробов и анаэробов;

5. При исходных уровнях $MR\text{-}proADM > 1$ и «отрицательного» значения его клиренса на 1-е/5-е сутки развития септического процесса целесообразен контроль пациента в ОРИТ в связи с высоким риском развития ПОН и неблагоприятного исхода

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Полученные результаты свидетельствуют в пользу необходимости и перспективности дальнейшего изучения совместного применения микробиологических, молекулярно-генетических и иммунохимических методов исследования у пациентов ОРИТ при подозрении на бактериальную инфекцию, сепсис и ССВР. Применение новых подходов к лабораторной диагностике бактериальной инфекции, сепсиса и ССВР направлены на быстрое выявление значимых возбудителей с целью актуализации эмпирических схем терапии и прогнозирование эффективности АБП при лечении, что будет способствовать улучшению клинических исходов и замедлению антибиотикорезистентности. Наиболее значимым в дальнейшей разработке темы является сохранение принципа комплексной оценки применения микробиологических, молекулярно-генетических и иммунохимических методов лабораторной диагностики с использованием всего спектра современных лабораторных тестов и с учетом появления новых аналитических и лабораторных технологий.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.

Статьи в научных изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, а также международных базах данных, для опубликования основных научных результатов диссертации по специальности 3.3.8.

Клиническая лабораторная диагностика (медицинские науки)

1. Шмырев В.И. Герпетический менингоэнцефалит у взрослой пациентки / Шмырев В.И., Девяткин А.В., Каленова И.Е., Зубанов А.Г., Вершинина М.Г., Гаврилов Д.Ю., Денисов Д.Б., Литвинов Н.И., Шарина И.А. // Кремлевская медицина. Клинический вестник. - 2010. - № 4, - с. 79-82.
2. Вершинина М.Г. Лабораторная диагностика сепсиса в условиях многопрофильного стационара / Вершинина М.Г., Кухтина Н.Б. // Хирургия. Журнал имени Н.И. Пирогова. - 2014. - № 6, - с. 74-76.
3. Пасечник И.Н. Тяжелая внебольничная пневмония: новые возможности диагностики и лечения / Пасечник И.Н., Вершинина М.Г., Сальников П.С., Калугина Е.Ю., Казаков Д.Н., Блохина Н.В., Шаров С.С., Цыганов В.Ю. // Терапевт. - 2015. - № 4, - с. 9-16.
4. Пасечник И.Н. Абдоминальный сепсис и окислительный стресс / Пасечник И.Н., Скобелев Е.И., Крылов В.В., Сальников П.С., Вершинина М.Г., Блохина Н.В., Мещеряков А.А. // Хирургия. Журнал имени Н.И. Пирогова. - 2015. - № 12, - с. 18-23.
5. Пасечник И.Н. Сепсис и сахарный диабет: состояние проблемы / И.Н. Пасечник, Рябов А.Л., Вершинина М.Г. // Хирургия. Журнал имени Н.И. Пирогова. - 2016. - № 1, - с. 80-84.
6. Пасечник И.Н. Сепсис: дефиниции новые - проблемы старые / Пасечник И.Н., Решетников Е.А., Вершинина М.Г., Сальников П.С., Мещеряков А.А., Калугина Е.Ю., Пак И.В. // Кремлевская медицина. Клинический вестник. - 2017. - № 4-2. - с. 170-177.

7. Вершинина М.Г. Обеспечение безопасности донорской крови и ее компонентов на примере взаимодействия лабораторной и трансфузиологической служб в многопрофильном стационаре / Вершинина М.Г., Волкова В.Н., Калугина Е.Ю., Кухтина Н.Б. // Кремлевская медицина. Клинический вестник. - 2017. - № 4-2, - с. 136-141.
8. Вершинина М.Г. Оценка риска развития инфекционных осложнений у пациентов с острым коронарным синдромом / Вершинина М.Г., Стериополо Н.А., Ибрагимова В.Ю. // Лабораторная служба. – 2019, - №4 - с.42-45.
9. Вершинина М.Г. Прогностическое значение лабораторных маркеров сепсиса у пациентов в критическом состоянии / Вершинина М.Г., Стериополо Н.А., Ибрагимова В.Ю. // Лабораторная служба. – 2019. - №4, - с.29-35.
10. Кутепов Д.Е. Современные возможности лечения сепсиса на основе сорбционных методик / Кутепов Д.Е., Пасечник И.Н., Вершинина М.Г. // Лабораторная служба. – 2019. - №4, - с.22-28.
11. Вершинина М.Г. Сепсис – проблема мирового масштаба / Вершинина М.Г. // Лабораторная служба. – 2019, - №4 - с.5-6.
12. Садеева З.З. Молекулярно-генетическая характеристика механизмов антибиотикорезистентности штаммов *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*, выделенных из крови и ликвора у детей / Садеева З.З., Алябьева Н.М., Карасева О.В., Лазарева А.В., Мелков М.С., Новикова И.Е., Садеева З.З., Шакирзянова Р.А., Вершинина М.Г., Фисенко А.П. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. - 2021. - Т. 23. № 4, - с. 388-399.
13. Новикова И.Е. Использование полимеразной цепной реакции для детекции генов резистентности у грамотрицательных бактерий в рутинной практике педиатрического стационара / Новикова И.Е., Садеева З.З., Шакирзянова Р.А., Алябьева Н.М., Лазарева А.В., Карасева О.В., Вершинина М.Г., Фисенко А.П. // Клиническая лабораторная диагностика. - 2022. - Т.67. - №3, - с.180-185.
14. Вершинина М.Г. Использование комбинации биомаркеров для ранней диагностики сепсиса у пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии / Иванов А.М., Стериополо Н.А., Малышев М.Е. // Кремлевская медицина. Клинический вестник. - 2022. - №2, - с. 37-47.
15. Вершинина, М.Г. Использование комбинации биомаркеров для ранней диагностики сепсиса у пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии / Н.А. Стериополо, А.М.Иванов, М.Е.Малышев // Кремлевская медицина. Клинический вестник. – 2022 - №2, - с.37-47.
16. Вершинина, М.Г. Стратегия контроля антимикробной терапии с использованием прокальцитонинового теста в клинической практике / Вершинина, М.Г., Стериополо Н.А., Иванов А.М., Малышев М.Е // Кремлевская медицина. Клинический вестник. – 2022 - №3, - с.41-45.

Статьи в научных изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, а также международных базах данных, для опубликования основных научных результатов диссертации по другим специальностям

17. Боковой А.Г. Оптимизация комплексной терапии инфекционного мононуклеоза у детей / Боковой А.Г., Вершинина М.Г., Медкова А.Ю., Ковалев И.В. // Детские инфекции. - 2019. Т. 18. - № 2 (67), - с. 36-41.

18. Шедько Е.Д. Количественная мультиплексная ПЦР в реальном времени как метод детекции значимой бактериурии в моче у детей / Шедько Е.Д., Лазарева А.В., Зоркин С.Н., Новикова И.Е., Вершинина М.Г., Тимошина О.Ю., Головешкина Е.Н., Фисенко А.П., Акимкин В.Г. // Российский педиатрический журнал. - 2020. Т. 23. - № 5, - с. 284-290.
19. Александрович Ю.С. Особенности клинических проявлений и лечения заболевания, вызванного новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) у детей». Версия 2. / Александрович Ю.С. Алексеева Е.И., Бакрадзе М.Д., Баранов А.А., Батышева Т.Т., Вершинина, М.Г., Вишнева Е.А., Глазырина А.А. и др.// Педиатрическая фармакология. - 2020. Т. 17, - № 3, - с. 187-212.
20. Шедько Е.Д. Динамика частоты встречаемости уропатогенов и антимикробных детерминант резистентности при детской значимой бактериурии в 2017 и 2019 годах: Многоцентровое исследование / Шедько Е.Д., Лазарева А.В., Зоркин С.Н., Новикова И.Е., Вершинина М.Г., Тимошина О.Ю., Головешкина Е.Н., Фисенко А.П., Акимкин В.Г. // Детские инфекции. - 2021. Т. 20, - № 3 (76), - с. 11-17.

Методические рекомендации, учебно-методические пособия

21. Вершинина М.Г. Современные маркеры сепсиса и системного воспаления для диагностики, мониторинга и прогноза состояния пациентов / Иванов А.М., Фисенко А.П., Стериополо Н.А., Пасечник И.Н., Кутепов Д.Е. // Учебно-методическое пособие ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия». - М.: ФГБУ ДПО «ЦГМА», - 2019, - с 98.
22. Александрович Ю.С. и др. Временные методические рекомендации Минздрава Российской Федерации, версия 2, «Особенности клинических проявлений и лечения заболевания, вызванного новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) у детей» (утв. Минздравом России) / Александрович Ю.С. Алексеева Е.И., Бакрадзе М.Д., Баранов А.А., Батышева Т.Т., Вершинина М.Г., Вишнева Е.А., Глазырина А.А. и др // Министерство здравоохранения Российской Федерации, версия 2 (03.07.2020), - с 74.
23. Александрович Ю.С. и др. Клинические рекомендации «Особенности клинических проявлений и лечения заболевания, вызванного новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) у детей». Версия 2 / Александрович Ю.С. Алексеева Е.И., Бакрадзе М.Д., Баранов А.А., Батышева Т.Т., Вершинина М.Г., Вишнева Е.А., Глазырина А.А. и др // Педиатрическая фармакология. – 2020, - с. 17.
24. Вершинина М.Г. «Лабораторная диагностика сепсиса и системного воспаления в многопрофильном стационаре» / Вершинина М.Г.// Учебно-методическое пособие ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия». - М.: ФГБУ ДПО «ЦГМА», - 2022, - с 45.

Статьи, тезисы докладов и статей в научных журналах и сборниках материалов конференций

25. Вершинина М.Г. Анализ встречаемости *Candida spp.* в отделяемом нижних дыхательных путей больных реанимационного отделения многопрофильного стационара. / Калугина Е.Ю., Володин О.Б.// Проблемы медицинской микологии. 2014. Т. 16. № 2, с. 51
26. Вершинина М.Г. Опыт апробации в условиях многопрофильного стационара системы UNYVERO (Германия) для диагностики пневмоний, основанной на определении ДНК возбудителей и маркеров их резистентности к антибактериальным препаратам молекулярно-биологическим методом. / Вершинина М.Г., Калугина Е.Ю., Володин О.Б., Жарикова Н.Е. // Материалы VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2014» - сборник трудов / под ред. В. И. Покровского. - Москва: Изд-во МБА, - 2014.

27. Вершинина М.Г. Липополисахарид-связывающий белок как современный маркер сепсиса / Вершинина М.Г., Кухтина Н.Б., Калугина Е.Ю., Стериополо Н.А. // Медицинский алфавит. - 2014. - Т. 4. № 22, - с. 40-41.
28. Вершинина М.Г. Выявление генетических маркеров резистентности пневмококка, как обоснование антибиотикотерапии внебольничной пневмонии. / Вершинина М.Г., Калугина Е.Ю., Володин О.Б., Щербань В.Б. // Инфекционные болезни, - 2015, Т 13, приложение 1 - Материалы VII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием, - с. 69-70.
29. Вершинина М.Г. Оптимизация лабораторного алгоритма применения коммерческих систем для гемокультивирования. / Вершинина М.Г., Калугина Е.Ю., Пак И.В., Майковская Л.П. // Инфекционные болезни, - 2015, Т 13, приложение 1 - Материалы VII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием, - с. 70.
30. Вершинина, М.Г. Оптимизация алгоритма исследования ликвора для выявления возбудителей инфекций ЦНС / М.Г. Вершинина, Е.Ю. Калугина, И.В. Пак // Материалы Межведомственной научно-практической конференции «Инфекционные болезни – актуальные проблемы, методы борьбы и профилактика»: сб. материалов науч. конф., Москва, 28-29 апреля 2015 г. / под.ред. А.В. Девяткина и С.Б. Шевченко. – Москва, 2015, - с.11.
31. Вершинина М.Г. Оптимизация алгоритма лабораторной диагностики инфекций кровотока. / Вершинина М.Г., Калугина Е.Ю., Майковская Л.П., Пак И.В. // Проблемы медицинской микологии. - 2016. Т. 18. - № 2, - с. 50.
32. Vershinina, M. Optimization of sepsis laboratory diagnostic algorithm / E. Kalugina, N. Kukhtina, M. Konfektova, I. Pak, D. Skubchenko, N. Steriopolo, O. Sukhanova // Clinical Chemistry and Laboratory Medicine – 2017 - 55, Special Suppl. pp S1 – S1121, - s. 1188. <https://doi.org/10.1515/cclm-2017-5026>.
33. Vershinina, M. Optimization of algorithm for the laboratory diagnostics of bloodstream infection / E. Kalugina, I. Pak, E. Shumilina // Clinical Chemistry and Laboratory Medicine – 2017. - 55, Special Suppl, pp S1 – S1121, - s. 933. <https://doi.org/10.1515/cclm-2017-5026>.
34. Вершинина М.Г. Организация лабораторной диагностики инфекций кровотока в условиях круглосуточной работы многопрофильной клиники. / Вершинина М.Г., Калугина Е.Ю., Пак И.В., Кухтина Н.Б., Гаязова А., Суханова О.В., Стериополо Н.А.// Лабораторная служба № 3 (приложение), - 2017.
35. Вершинина М.Г. Опыт организации и проведения клинических испытаний анализатора бактериологического BD Bactec FX40. / Вершинина М.Г., Калугина Е.Ю., Пак И.В., Кухтина Н.Б., Гаязова А., Суханова О.В., Стериополо Н.А. // Лабораторная служба - № 3 (приложение), - 2017.
36. Вершинина М.Г. Совершенствование лабораторной диагностики инфекций кровотока для обеспечения эпидемиологической безопасности ЛПУ / Вершинина М.Г., Калугина Е.Ю., Кухтина Н.Б., Почкина Н.И., Пак И.В., Гаязова А.Р. // Вестник Росздравнадзора. - 2017. - № 4, - с. 50-56.
37. Вершинина М.Г. Корреляция лабораторных маркеров полиорганной дисфункции и системного воспаления у пациентов в критическом состоянии. / Вершинина М.Г., Стериополо Н.А, Суханова О.В., Конфектова М.М., Максименко А.В. // Лабораторная служба - 2018. Том 7. - №S3, - с. - 15.

38. Вершинина М.Г. Прокальцитонин для оценки риска развития инфекционных осложнений у пациентов с острым коронарным синдромом. / Вершинина М.Г., Ломакин Н.В., Стериополо Н.А., Суханова О.В., Конфектова М.М., Долгова Е.И. // «Инфекционная иммунология в многопрофильном учреждении: традиции и новации», 17 – 18 октября - 2018.
39. Вершинина М.Г. Прогностическое значение лабораторных маркеров сепсиса и полиорганной недостаточности у пациентов отделения интенсивной терапии / Вершинина М.Г., Стериополо Н.А., Суханова О.В., Конфектова М.М., Максименко А.В. // «Инфекционная иммунология в многопрофильном учреждении: традиции и новации», 17 – 18 октября - 2018.
40. Vershinina, M. Evaluating the value of dynamic measurements of laboratory markers of sepsis and multiple organ dysfunctions of the ICU patients / N. Steriopolo, O. Sukhanova , V. Ibragimova // Clinica Chimica Acta. – 2019. – 493. S643–S672. - p.623-624 <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.03.1410>
41. Vershinina, M. Procalcitonin to assess the risk of systemic inflammatory response syndrome in patients with acute coronary syndrome / N. Steriopolo, O. Sukhanova , V. Ibragimova // Clinica Chimica Acta. – 2019. – 493. S643–S672, - p.617-618. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.03.1398>
42. Вершинина М.Г. Прогностическое значение лабораторных маркеров сепсиса у пациентов в критическом состоянии. / Вершинина М.Г., Стериополо Н.А., Ибрагимова В.Ю. // Материалы научно-практических конференций в рамках V Российского конгресса лабораторной медицины, М.: У Никитских ворот, - 2019, - с.44.
43. Вершинина М.Г. Алгоритм диагностики системного воспаления у пациентов реанимационных отделений многопрофильного стационара. / Вершинина М.Г., Иванов А.М., Ибрагимова В.Ю., Стериополо Н.А. // Лабораторная служба. - 2020. – Т. 9, № 1, – с. 58.
44. Садеева З.З. Клинико-микробиологическая характеристика бактериемии у детей вызванной *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*. / Садеева З.З., Новикова И.Е., Комягина Т.М., Алябьева Н.М., Шакирзянова Р.А., Лазарева А.В., Вершинина М.Г.// Российский педиатрический журнал. - 2021. Т. 24. № S, - с. 54.
45. Садеева З.З. Характеристика карбапенемаз грамотрицательных микроорганизмов выделенных из крови и ликвора у детей в ОРИТ. / Садеева З.З., Новикова И.Е., Тряпочкина А.С., Шакирзянова Р.А., Алябьева Н.М., Лазарева А.В., Вершинина М.Г. // Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП-2021). Сборник тезисов IX Конгресса с международным участием. М, - 2021, - с. 96.
46. Никитин Ю.В. Комплексная лабораторная оценка иммунологических показателей и их прогностическая значимость у больных COVID-19 различной степени тяжести. / Никитин Ю.В., Александрова Е.В., Мешкова М.Е., Вершинина М.Г., Иванов А.М. // В книге: Материалы XXVII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Клиническая лаборатория: вклад в борьбу с пандемией. Сборник тезисов. Москва, 2022, - с. 93.

Список сокращений

АБТ – антибактериальная терапия

АБП – антибактериальный препарат

БАЛ – бронхоальвеолярный лаваж

БЛРС – бета-лактамазы расширенного спектра действия

ЛИС – лабораторная информационная система

МИС – медицинская информационная система

ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии

ППЗ – положительная прогностическая значимость

ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция в реальном времени

ССВР – синдром системной воспалительной реакции

ПОН – полиорганная недостаточность

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

ЦНС – центральная нервная система

AUROC – площадь под кривой оперативных характеристик

CRP – С-реактивный белок

CI – confidence intervals – доверительный интервал

La – лактат

LPS – липополисахарид

MR-proADM – проадреномедуллин

OR – odds ratio – отношение шансов

PCT – прокальцитонин

PSEP – пресепсин

Se – чувствительность

Sp – специфичность

SOFA – шкала обследования при органной недостаточности, связанной с сепсисом – Sepsis-Related Organ Failure Assessment