

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Шляпникова Сергея Алексеевича на диссертацию Вершининой Марины Германовны «Диагностика сепсиса на основе микробиологических, молекулярно-генетических и иммунохимических исследований» представленной к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

### Актуальность диссертационного исследования

Диссертационная работа М.Г. Вершининой посвящена одному из самых актуальных и сложных вопросов современной медицины – разработке комплексных подходов и совершенствованию методов лабораторной диагностики сепсиса. Сепсис, как было постулировано на сессии Генеральной Ассамблеи ВОЗ 26.05. 2017, представляет главную угрозу в 21 веке. Успех в лечении сепсиса может быть достигнут только при мультидисциплинарном подходе, а именно в результате слаженной работы врачей различных специальностей: анестезиологов-реаниматологов, хирургов, врачей клинической лабораторной диагностики и др.

Данное исследование направлено на разработку стратегии лабораторного мониторинга на основе подробного изучения результатов микробиологических, молекулярно-генетических и иммунохимических исследований. Такой подход обеспечивает создание комплексного клинико-лабораторного диагностического алгоритма для ранней диагностики, мониторинга септического процесса и коррекции интенсивной терапии у пациентов ОРИТ, что способствует снижению числа неблагоприятных исходов в условиях генерализации инфекции. Основными методами этиологической диагностики сепсиса в настоящее время являются микробиологические исследования, которые включают в себя идентификацию возбудителя и определение чувствительности к антимикробным препаратам. Однако ответ о наличии или отсутствии возбудителя инфекции требует определенного времени (от 24 до 72 часов). Достижения последних десятилетий в молекулярной биологии позволяют идентифицировать ДНК

или РНК патогена методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, в любом исследуемом биологическом материале, полученном от пациентов, уже в течении первых суток. Применение определенных лабораторных биомаркеров и системный подход к лабораторной диагностике септических осложнений могут помочь врачам ОРИТ дифференцировать инфекцию от асептического воспаления, назначить адекватную антибактериальную терапию на основании полученных данных. Однако, оценка течения заболевания, основанная на использовании только одного какого-либо лабораторного метода, снижает достоверность ранней диагностики, эффективность мониторинга и увеличивает вероятность неблагоприятных исходов в условиях генерализации инфекции. В связи с этим принципиальное значение приобретает проблема корректного использования комбинации микробиологических, молекулярно-биологических и иммунохимических методов, применяемых в лаборатории и, как следствие этого, актуальность диссертационного исследования М.Г.Вершининой не вызывает сомнений.

#### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций**

Диссертационная работа Вершининой М.Г. выполнена на высоком научно-методическом уровне и представляет собой завершённое исследование с выраженной практической направленностью. Задачи представленной работы сформулированы корректно и четко, обоснованы и полностью согласуются с целью диссертации. Научные положения и выводы, представленные в работе, обоснованы результатами исследований, четко сформулированы и отражают суть диссертации. Значительная по объёму выборка, включает разные группы пациентов и условно-здоровых лиц, использование современных методов лабораторной диагностики, и соответствующая поставленным задачам статистическая обработка

полученных данных свидетельствуют о достоверности и обоснованности полученных результатов. Основными методами исследования в настоящей работе были микробиологические, молекулярно-генетические и иммунохимические с использованием диагностических наборов реагентов и расходных материалов от ведущих производителей. Микробиологический метод дополнен методом полимеразно-цепной реакции в реальном времени и иммунохимическими методами, что свидетельствует о современном методическом подходе.

Статистическая обработка полученных результатов исследований осуществлялась с использованием статистических программ MedCalc, версия 18.9.1 (MedCalc Software) и MS Excel (Microsoft Corporation), что соответствует современным подходам к статистическому анализу с определением описательных статистик и, соответствующих поставленным задачам, параметрических и непараметрических методов анализа выборок.

В целом, дизайн диссертационного исследования вытекает из его цели, заключающейся в анализе различных микробиологических, молекулярно-генетических и иммунохимических лабораторных маркеров и разработке алгоритма для верификации и прогнозирования течения септических состояний у больных ОРИТ в многопрофильном стационаре. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, являются обоснованными и логически вытекают из полученных с помощью современных методологических и методических подходов результатов диссертационного исследования.

### **Достоверность полученных результатов и научная новизна исследования**

Научная новизна диссертационной работы Вершининой М.Г. и достоверность полученных результатов подтверждается разработанным автором алгоритмом клинико-лабораторной диагностики сепсиса и ССВР

пациентов ОРИТ, применяемым для своевременной диагностики, мониторинга, коррекции интенсивной терапии и улучшения результатов лечения.

На большом клиническом материале продемонстрирована высокая эффективность комплексного лабораторно-диагностического обследования пациентов многопрофильного стационара с сепсисом и ССВР. Проведен детальный анализ результатов микробиологических и молекулярно-генетических исследований, изучен потенциал экспериментального метода молекулярной биологии - полимеразной цепной реакции в реальном времени для выявления инфекционного агента при сепсисе и ССВР. Доказана возможность и определено клиническое значение применения методов молекулярной биологии для поиска инфекционного агента при различных септических осложнениях. Проведен комплексный клинико-лабораторный анализ значимости отдельных лабораторных маркеров и определен перечень наиболее информативных, позволяющих прогнозировать развитие, течение и исход сепсиса и ССВР у пациентов ОРИТ. Изучена и определена прогностическая ценность определения пресепсина у пациентов ОРИТ, с целью диагностики, мониторинга и прогноза неблагоприятного исхода. Определены показатели расчета клиренсов прокальцитонина и проадреномедулина, как независимые предикторы неблагоприятного исхода сепсиса и ССВР. Изучена и обоснована целесообразность включения определения концентрации проадреномедулина крови в перечень лабораторных исследований для пациентов ОРИТ. Автором верифицированы значимые комбинации лабораторных маркеров. На основании исследования комбинации различных биомаркеров у пациентов реанимационных отделений, разработан диагностический алгоритм клинико-лабораторной диагностики сепсиса и ССВР, доступный для большинства научных и клинико-диагностических лабораторий.

Результаты проведенных исследований, выводы и практические рекомендации обсуждены на многочисленных общероссийских и

международных конференциях, съездах, конгрессах. По теме диссертации опубликовано 46 печатных работ, в том числе 16 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, а также цитируемых в международных базах данных, изданы два учебно-методических пособия, разработана и утверждена профессиональная программа повышения квалификации для врачей-специалистов.

### **Теоретическая и практическая значимость исследования**

Результаты диссертационного исследования Вершининой М.Г. имеют несомненное теоретическое значение, поскольку в рамках исследований диссертационной работы получены данные, которые позволяют расширить представления о механизмах развития сепсиса и ССВР. Показано, что белки семейства САРА ассоциированы с осложнениями и неблагоприятным исходом пациентов ОРИТ. Установлено, что одновременный расчет клиренсов PCT и MR-proADM с оценкой в динамике, увеличивает их диагностическую ценность и позволяет оценить риск неблагоприятного исхода. Клиренсы MR-proADM и PCT могут рассматриваться как ранние прогностические маркеры неблагоприятного исхода для септических больных находящихся в ОРИТ. Полученные результаты позволяют рекомендовать внедрение одновременного расчета клиренсов PCT и MR-proADM с оценкой в динамике для использования в клинической практике. Представленные данные по пороговым значениям биомаркеров, могут быть использованы в стратификации госпитализированных пациентов с инфекцией в ОРИТ. Проведение микробиологических лабораторных исследований в комплексе с молекулярно-генетическими для выявления инфекционного агента при сепсисе и ССВР способствует своевременной диагностике, возможности раннего начала этиотропной терапии и улучшению результатов лечения.

Опыт практической реализации разработанного и внедренного в клиническую практику центра анестезиологии-реаниматологии ФГБУ «ЦКБ с

поликлиникой», ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» научно обоснованного алгоритма клинико-лабораторной диагностики сепсиса, ССВР и тяжелых инфекций для своевременной коррекции интенсивной терапии у пациентов ОРИТ должен быть в последующем проанализирован и распространен в практику здравоохранения многопрофильных стационаров.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертационное исследование «Диагностика сепсиса на основе микробиологических, молекулярно-генетических и иммунохимических исследований» построено по классическому принципу и изложено на 289 страницах компьютерного набора текста. Диссертация 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.

В разделе «Введение» автором диссертационного исследования описана научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, сформулировала цель и задачи настоящего исследования, основные положения, выносимые на защиту. Вершинина М.Г. доказательно обосновала актуальность выбранной темы диссертации, четко сформулировала задачи, соответствующие поставленной цели исследования.

В обзоре литературы автором были систематизированы современные знания и методические подходы к клинической лабораторной диагностике при септических состояниях и сепсис-ассоциированной органной недостаточности. Подробно описаны: этиологическая структура генерализованных инфекций при сепсисе, факторы риска развития сепсиса,

молекулярные биомаркеры при сепсисе, а также новое направление – «омиксные» технологии. Проведенный автором анализ научной литературы убедительно подтверждает актуальность темы исследования. Большинство из процитированных в главе литературных источников являются оригинальными статьями и обзорами, опубликованными в течение последних 2-5 лет, что свидетельствует о глубокой осведомленности автора диссертационного исследования об актуальном состоянии научной проблемы.

Глава 2 «Материалы и методы» содержит план исследования, подробное и полное описание групп пациентов, представлена таблица распределения больных по разделам настоящей работы, характеристика исследуемого клинического материала, сведения о структуре и объеме выполненных лабораторных исследований и использованных методах проведения лабораторных исследований. Подробно представлен методический подход к статистической обработке данных методами параметрической и непараметрической статистики, проведения корреляционного анализа.

В Главе 3 автором описаны результаты собственных исследований. Глава начинается с изучения этиологических инфекционных агентов с использованием микробиологических и молекулярно-генетических лабораторных методов. Подробно описан микробный пейзаж ОРИТ и других отделений многопрофильного стационара в котором проводилось исследование. Проведена оценка микробного пейзажа для выявления приоритетных патогенов сепсиса и тяжелых инфекционных заболеваний. Далее проанализированы результаты посева крови на стерильность для выявления бактериемии и фунгемии, применяемого в ОРИТ и других отделениях стационара. Изучены вопросы необходимости повышения результативности микробиологического исследования инфекции кровотока, разработана диагностическая панель для выявления значимых патогенов. Для метода ПЦР произведены расчеты операционных параметров выявления бактериемии, изучена оптимизация диагностики нозокомиальной пневмонии в условиях стационара культуральным и ПЦР методами. В главе подробно

описывается значение лабораторных маркеров в диагностике, мониторинге и прогнозе сепсиса и системного воспаления пациентов ОРИТ. Изучены возможности использования показателей биомаркеров при развитии инфекционных осложнениях, определения тяжести и дифференцировки системного сепсиса и локальной инфекции поступивших в ОРИТ.

Далее автор переходит к исследованию клинического материала от пациентов и последовательно описывает диагностическую ценность теста на РСТ при развитии инфекционных осложнений с определениями оптимальных пороговых значений РСТ как маркера для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений. Проведен анализ показателей эффективности использования результатов теста на РСТ, изучена его возможность применения для оптимизации антибиотикотерапии у пациентов ОРИТ. Изучены диагностические характеристики маркера пресепсина у пациентов, с признаками сепсиса и тяжелых инфекций, определены значения чувствительности и специфичности. Подробно изучены диагностические характеристики проадреномедулина, определены значения AUC ROC анализа. Автором подробно описано прогностическое значение лабораторных маркеров сепсиса и ПОН у пациентов ОРИТ, изучены корреляции между биомаркерами.

Значительная часть главы посвящена использованию лабораторных маркеров ССВР и ПОН для оценки прогноза неблагоприятного исхода. При описании использования комбинации биомаркеров для ранней диагностики сепсиса и тяжелых инфекций у пациентов ОРИТ, определена клиническая эффективность маркеров, на основании пороговых значений, определенных по характеристическим ROC, предложена бальная оценка биомаркеров и разработаны четыре комбинации лабораторных маркеров, с подробным изучением всех представленных моделей.

Глава с описанием собственных исследований автора завершается подробным описанием разработанного алгоритма комплексной клинико-



лабораторной диагностики сепсиса и тяжелых инфекций для пациентов, поступающих в ОРИТ.

В Главе 4 автором представлены обсуждения полученных результатов, а также рекомендована схема микробиологического мониторинга инфекций для использования в клиничко-диагностической лаборатории.

В заключении диссертационной работы автором приводятся практические рекомендации, которые логично вытекают из полученных результатов и отвечают потребностям улучшения результативности лабораторной диагностики пациентов, которые находятся в группе риска по развитию бактериальной инфекции, органной дисфункции, септических состояний.

Автореферат соответствует содержанию диссертации, изложен последовательно, хорошо иллюстрирован.

### **Замечания**

Принципиальных замечаний к содержанию и оформлению диссертации и автореферата диссертации нет, при прочтении работы возникли уточняющие вопросы.

1. Является ли, с Вашей точки зрения, уровень РСТ в первые 24 часа после поступления в ОРИТ выше 14,16 нг/мл фактором риска инфекции или диагностическим критерием развившейся бактериальной инфекции?
2. Чем, с Вашей точки зрения, можно объяснить более высокие медианные значения пресепсина у пациентов без инфекционных осложнений в период после 48 часов пребывания в ОРИТ?

## Заключение

Диссертация М.Г. Вершининой на тему «Диагностика сепсиса на основе микробиологических, молекулярно-генетических и иммунохимических исследований», выполненная при научном консультировании член-корреспондента РАН, доктора медицинских наук профессора Иванова Андрея Михайловича и представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика, является законченной самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой, в которой успешно решена научная проблема, являющаяся актуальной на современном этапе развития клинической лабораторной диагностики - разработка и внедрение в практику эффективной лабораторной оценки септических состояний на основании применения созданного научно-обоснованного клинико-лабораторного алгоритма. В работе обоснованы принципиально новые подходы к использованию лабораторных методов при ранней диагностике и оценке прогноза исхода сепсиса и ССВР, включающие предложенную балльную оценку биомаркеров и разработаны модели комбинации лабораторных маркеров, что имеет важное научное значение для теории и практики клинической лабораторной диагностики.

Диссертационная работа по своей актуальности, новизне, объему, теоретической и практической значимости, достоверности и обоснованности результатов соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а его автор, Вершинина Марина Германовна, заслуживает присуждения ученой степени

доктора медицинских наук по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика.

Официальный оппонент:

Руководитель отдела хирургических инфекций  
ГБУ СПб НИИ СП им. И. И. Джанелидзе»

Комитета по здравоохранению  
Правительства Санкт-Петербурга,  
доктор медицинских наук, профессор  
« 03 » 03 2023 г.



Шляпников С.А.

Адрес: 192242, г.Санкт-Петербург, Будапештская улица, 3, лит.А;  
телефон: 8-921-962-22-91  
e-mail: info@emergency.spb.ru

Подпись д.м.н., профессора Шляпникова С.А. удостоверяю:

Заместитель директора по научной работе  
ГБУ СПб НИИ СП им. И. И. Джанелидзе»

Комитета по здравоохранению  
Правительства Санкт-Петербурга,  
доктор медицинских наук, профессор



Демко А.Е.