

«УТВЕРЖДАЮ»

и.о. ректора

федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Уральский
государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения
Российской Федерации

академик РАН, профессор,
доктор медицинских наук

О.П. Ковтун

2023 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации

Вершиной Марины Германовны

«Диагностика сепсиса на основе микробиологических, молекулярно-генетических и
иммунохимических исследований»,

на соискание ученой степени доктора медицинских наук

по специальности

3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

Актуальность темы выполненного исследования и ее связь с

соответствующими отраслями науки и практической деятельностью

Актуальность работы М.Г. Вершиной в первую очередь обусловлена затруднениями в ранней лабораторной диагностике, мониторинге и прогнозе септических состояний у пациентов реанимационных отделений.

Не вызывает сомнений, что сепсис, как разновидность критического состояния организма, в настоящее время представляет одну из самых сложных междисциплинарных проблем современной медицины и является наиболее частой причиной смерти госпитализированных пациентов. Клиницисты отмечают в последнее время увеличение частоты развития сепсиса и рост его неблагоприятных исходов. Этот

факт связывают с возрастанием антибиотикорезистентных штаммов патогенов. Следует отметить, что основным моментом в изучении сепсиса является определение особенности реактивности организма, его иммунной системы, знания иммунопатофизиологии сепсиса. Клинико-лабораторная характеристика этих факторов крайне важна для оценки объективного состояния пациентов. В связи с гетерогенностью природы септического процесса и недостаточной специфичностью клинических проявлений, для ранней диагностики сепсиса универсального лабораторного метода не существует. Невозможность выявления данного заболевания на ранних стадиях, задерживает эффективное лечение, что и приводит к высокой летальности пациентов. Ранняя лабораторная диагностика и оценка тяжести состояния, своевременно назначенная терапия являются важными шагами для оказания эффективной помощи пациентам.

Комплексный подход к использованию микробиологических, молекулярно-биологических и иммунохимических методов может обеспечить точность ранней лабораторной диагностики, мониторинга и прогноза септических состояний.

Диссертационное исследование М.Г. Вершининой, посвященное разработке комплексного клинико-лабораторного диагностического алгоритма для ранней диагностики сепсиса для мониторинга течения и максимально быстрой коррекции интенсивной терапии пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии является актуальным и своевременным.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, изложенных в диссертации

Диссертация М.Г. Вершининой является значимой научно-практической работой, в которой на основании микробиологических, молекулярно-генетических и иммунохимических исследований обоснован комплексный подход к ранней диагностике сепсиса, мониторингу течения и максимально быстрой коррекции интенсивной терапии пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии.

Автором на большом клиническом материале убедительно продемонстрирована значимость отдельных лабораторных маркеров и определен перечень наиболее

информативных, позволяющих прогнозировать развитие, течение и исход септических состояний у пациентов реанимационных отделений многопрофильного стационара.

Проведен сравнительный анализ результатов микробиологических и молекулярно-генетических исследований у пациентов реанимационных отделений, изучены возможности метода полимеразной цепной реакции для выявления инфекционного агента. Доказана возможность и определено клиническое значение применения методов молекулярной биологии для поиска инфекционного агента при септических состояниях.

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

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

М.Г. Вершининой впервые предложен обоснованный клинико-лабораторный диагностический алгоритм ранней диагностики сепсиса, мониторинга течения и оценки эффективности лечения для возможной коррекции интенсивной терапии пациентов.

Достоверность результатов проведенных исследований, выводов и рекомендаций

Полученные результаты, выводы и рекомендации диссертационного исследования М.Г. Вершининой отвечают критериям достоверности. Достоверность обеспечивается достаточным объёмом исследования, глубоким анализом литературных данных, современными методами статистической обработки результатов исследования, логически выстроенными доказательствами.

Диссертационная работа проведена с соблюдением этических норм научных исследований и одобрена этическим комитетом.

Всего в работе представлены данные 2274 больных, поступивших в реанимационные отделения многопрофильного стационара с подозрением на сепсис и тяжелые инфекции, проведено исследование 7428 образцов биоматериала. Достоверность результатов, представленных в диссертационной работе,

подтверждается применением современных, сертифицированных методов лабораторной диагностики и тест-систем для микробиологических, молекулярно-генетических и иммунохимических исследований.

Обработка полученных данных проводилась с использованием современных методов статистического анализа. Проверка нормальности распределения количественных признаков была выполнена с помощью критерия согласия, критерия Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса, критерия Шапиро-Уилка. Проведено сравнение средних значений в группах с использованием непараметрического теста U-критерия Манна-Уитни для независимых выборок. Анализ корреляционных связей в случае принадлежности распределения признака в группах по параметрическому семейству был проведен по критерию согласия Пирсона. В случае отличного от нормального распределения анализируемых признаков использовали методику расчета ранговых корреляций Спирмена. Для анализа чувствительности и специфичности, выбора модели с оптимальной прогностической силой и подбора оптимального порога отсечения применяли характеристические кривые ROC с использованием метода Де-Лонга для вычисления среднеквадратичного отклонения ROC-кривой и индекса Юдена. Критерием выбора наиболее адекватного значения исследуемых биомаркеров для эффективного различения стратифицированных групп пациентов, было требование максимальной суммарной чувствительности и специфичности модели.

Значимость для науки и практической деятельности полученных соискателем результатов

В исследовании убедительно продемонстрирована ключевая роль комплексного клинико-лабораторного анализа применения микробиологических, молекулярно-генетических и иммунохимических методов лабораторного исследования, используемых при оценке неотложных критических состояний, ассоциированных с риском развития сепсиса. Такой подход позволяет не только глубже понять сущность и механизмы развития тяжелого патологического процесса, что открывает возможности дальнейших научных исследований, но и способствует уже в настоящее время улучшению результатов лечения больных.

Предложен комплексный клинико-лабораторный диагностический алгоритм ранней диагностики сепсиса, мониторинга развития и обнаружения признаков необходимости коррекции интенсивной терапии. Автором показано, что совместное использование молекулярно-генетического метода со стандартными микробиологическими исследованиями увеличивает выявление клинически значимых патогенов. Введение в клиническую практику определение клиренсов биомаркеров прокальцитонина и проадреномедулина с их оценкой в динамике, повышает диагностическую ценность данных маркеров, позволяя определить развитие неблагоприятного исхода у пациентов. Установлены оптимальные комбинации лабораторных маркеров: прокальцитонина, MR-проадреномедулина, пресепсина и абсолютного числа лейкоцитов, которые позволяют корректно оценить состояние пациента. На основе многолетнего опыта работы автора изданы два учебных пособия «Современные маркеры сепсиса и системного воспаления для диагностики, мониторинга и прогноза состояния пациентов» и «Лабораторная диагностика сепсиса и системного воспаления в многопрофильном стационаре». Эти издания одобрены ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами президента Российской Федерации, для внедрения в педагогический процесс.

Широкое внедрение предложенного комплексного клинико-лабораторного диагностического алгоритма, а также разработанной диагностической панели для ускоренной идентификации возбудителей инфекций кровотока и нозокомиальной пневмонии методом полимеразной цепной реакции с использованием анализа микробного пейзажа, будет способствовать корректной диагностике септических состояний, что приведет к улучшению терапии.

Структура и содержание диссертации

Диссертация М.Г. Вершининой написана по общепринятому плану, изложена на 289 страницах машинописного текста и включает следующие главы - введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, собственные результаты, обсуждение полученных результатов, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений и список цитируемой литературы, включающий 43 работы отечественных авторов и 369 зарубежных источника.

Диссертация содержит 34 рисунка, 51 таблицу и 4 приложения. Текст работы структурирован, логично изложен, дополнен графическими изображениями, помогающими наглядно видеть полученные данные. Диссертационная работа читается легко, текст не перегружен узкопрофессиональными терминами, предложенные объяснения измененных параметров лабораторных тестов логичны, понятны и убедительны.

Во **введении** изложена актуальность темы исследования, охарактеризована новизна и практическая значимость проведенного исследования, описана методология, четко сформулированы цель и задачи исследования.

Глава **«Обзор литературы»** посвящена анализу и возможностям клинической лабораторной диагностики септических состояний на современном этапе. Автором подробно изложены дефиниции сепсиса, эпидемиология и факторы риска развития, аспекты изучения различных лабораторных маркеров для диагностики и мониторинга септических состояний, охарактеризованы достоинства и недостатки их определения. Значительное внимание уделяется этиологической структуре инфекций, а также факторам риска развития бактериального сепсиса. Подчеркнуты преимущества методов лабораторной диагностики определения биомаркеров и указаны имеющиеся проблемы их использования, связанные главным образом с неполным оснащением клиник современным оборудованием и технологиями.

В главе **«Материалы и методы»** содержится описание основных групп пациентов, вошедших в клиническую часть исследования, их характеристики, включая нозологии. Очень подробно представлено описание значительного спектра методов лабораторного анализа, использованных в исследовании, указано оборудование и объем выполненных исследований. Детально представлены виды исследуемого биологического материала, взятого с использованием специальных систем, а также методы пробоподготовки. Помимо этого, для микробиологического метода изложены основные питательные среды, использованные в исследовании и контрольные штаммы микроорганизмов для внутрилабораторного контроля качества. Для молекулярно-генетических и иммунохимических методов лабораторных исследований даны подробные описания методик и протоколов анализа. Подробно описаны статистические

методы, которые использовались для обработки полученных результатов, включая критерии оценки диагностической ценности лабораторного теста.

Глава **«Результаты собственных исследований»** состоит из последовательно выстроенных логических частей, в которых подробно изложено, как была осуществлена разработка комплексного клинико-лабораторного диагностического алгоритма для ранней диагностики сепсиса и синдрома системной воспалительной реакции, а также для мониторинга течения и коррекции интенсивной терапии.

Значительное место в работе занимает анализ микробного пейзажа многопрофильного стационара, с изучением микроорганизмов, принадлежащих к группе ESKAPE, и методики посева крови на стерильность, для выявления инфекционных агентов с использованием микробиологических вместе с молекулярно-генетическими методами лабораторного исследования. Описывается разработка и верификация комбинированной диагностической панели для определения возбудителей септических инфекций и генов резистентности к антибактериальным препаратам с учетом данных микробного пейзажа. Большое внимание уделено исследованию иммунохимическими методами биомаркеров для ранней диагностики, прогнозирования течения патологического процесса, неблагоприятного исхода и своевременной коррекции лечения, рассчитаны диагностическая и прогностическая значимость лабораторных маркеров, определены оптимальные пороговые значения изученных биомаркеров. К преимуществам данной работы следует отнести не только оптимизацию клинико-лабораторной диагностики септических состояний, но также предложенные диссертантом принципы комбинаций лабораторных маркеров, подобранных на основании пороговых значений определенных с применением AUC ROC анализа и детальным изучением их характеристик. Автором впервые предложено использовать в комплексной диагностике септических состояний пациентов ряд дополнительных лабораторных параметров. Так убедительно показано, что клиренсы лабораторных маркеров прокальцитонина и проадренomedулина достоверно выше в группе пациентов с благоприятным исходом, что может являться более чувствительным показателем для прогноза исхода сепсиса и синдрома системной воспалительной реакции. Оценка дополнительных параметров важна и укладывается в концепцию персонализированной медицины.

В главе «Обсуждение полученных результатов исследования», автор сопоставляет полученные им результаты с данными литературы, отмечая клинико-диагностическую значимость разработанного комплексного клинико-лабораторного диагностического алгоритма для ранней диагностики сепсиса и синдрома системной воспалительной реакции, мониторинга течения и необходимости коррекции интенсивной терапии пациентов, находящихся в группе риска по развитию септических осложнений.

В работе М.Г. Вершиной четко определена цель, в соответствии с которой поставлены задачи исследования. В результате решения задач на основе полученных результатов автором сформулированы шесть выводов и пять практических рекомендаций специалистам клинической лабораторной диагностики, анестезиологам реаниматологам и врачам других специальностей.

Автореферат диссертации полностью отражает результаты выполненной работы, раскрывает основные положения проведенного исследования. Диссертация и автореферат по структуре и оформлению соответствует требованиям ВАК.

Реализация и апробация результатов работы

Научные и практические результаты диссертации М.Г. Вершиной внедрены в научно-исследовательскую, практическую работу и образовательный процесс ряда учреждений страны. Данные диссертационного исследования используются как в практической деятельности в ведущих медицинских центрах, так и для занятий по клинической лабораторной диагностике и микробиологии со студентами, ординаторами, аспирантами и врачами-специалистами.

По теме диссертации опубликованы в 46 печатных работах, из них 16 статей в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ для публикации материалов диссертационных работ, а также индексируемых в базах Web of Science и Scopus, изданы учебное и учебно-методическое пособие, рекомендованные ФГБУ «ЦГМА» Управления делами Президента Российской Федерации в качестве учебных пособий для системы последипломного образования врачей специалистов.

Результаты работы многократно обсуждены с ведущими специалистами в области анестезиологии и реанимации, клинической лабораторной диагностики и педиатрии.

Данные диссертационного исследования неоднократно докладывались на российских и международных конференциях и конгрессах, в том числе на таких профильных мероприятиях с высоким публичным профессиональным рейтингом, как Российский Конгресс лабораторной медицины (Москва, 2017), Межрегиональной научно-практической конференции «Инновации в современной лабораторной медицине» (Новосибирск, 2017), Всероссийском конгрессе с международным участием «Актуальные вопросы медицины критических состояний» (Санкт-Петербург, 2018), Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Санкт-Петербургский септический форум - 2021» (Санкт-Петербург, 2022). Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Клиническая лаборатория: вклад в борьбу с пандемией» (Москва, 2022), Конференция Российского сепсис форума в Москве «Сепсис. Междисциплинарный подход к диагностике и лечению» (Москва, 2022), и др.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационного исследования

Результаты диссертационного исследования М.Г. Вершининой могут быть использованы в диагностическом процессе в клиничко-диагностических лабораториях медицинских организаций. Применение теоретических и практических подходов, изложенных в диссертационной работе, будет полезно для осуществления лабораторной оценки септических состояний у пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии. Разработанный комплексный клиничко-лабораторный диагностический алгоритм для ранней диагностики сепсиса и синдрома системной воспалительной реакции, для мониторинга течения и максимально быстрой коррекции интенсивной терапии, может быть применен для обследования пациентов, поступающих в реанимационные отделения.

Особую практическую значимость имеют разработанные панели для выявления бактериальных патогенов и маркеров резистентности молекулярно-генетическими методами на основании микробного пейзажа. Рекомендовано проводить расчет клиренса проадреномедулина и клиренса прокальцитонина у пациентов, поступающих в реанимационные отделения с признаками септических состояний. В клинической

практике целесообразно комплексное определение четырех биомаркеров – прокальцитонина, проадренормедулина, пресепсина и С-реактивного белка в качестве маркеров бактериальной инфекции, органной недостаточности, для оценки тяжести течения, эффективности проводимой терапии.

Результаты работы рекомендовано использовать при подготовке студентов медицинских ВУЗов, ординаторов, аспирантов, а также при обучении врачей-специалистов в системе непрерывного медицинского образования.

Замечания и вопросы

Принципиальных замечаний к работе нет. Квалификационная работа выполнена с соблюдением специальных требований, характеризуется теоретической достоверностью и практической доказательностью. При рассмотрении диссертации к автору возник ряд уточняющих вопросов дискуссионного характера:

1. Были ли среди пациентов, вошедших в группы проведенного исследования, больные с диагнозом «Септический шок» и сколько их было?
2. Были ли среди исследованных Вами пациентов дети и каков процент больных детей с бактериемией?
3. Можно ли выделить отличия детей с бактериемией от взрослых по этиологической структуре?


Заключение


Диссертация Вершининой Марины Германовны на тему «Диагностика сепсиса на основе микробиологических, молекулярно-генетических и иммунохимических исследований», представленная к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена научно-практическая проблема – оптимизация лабораторных диагностических мероприятий у пациентов с сепсисом и синдромом системной воспалительной реакции на основании комплексного использования микробиологических, молекулярно-генетических и иммунохимических методов клинической лабораторной диагностики и разработанного клинико-

лабораторного диагностического алгоритма ранней диагностики сепсиса и синдрома системной воспалительной реакции, для мониторинга течения и максимально быстрой коррекции интенсивной терапии у пациентов реанимационных отделений в целях своевременной диагностики и прогноза исхода септических состояний.

По своей актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований и практической значимости полученных результатов представленная работа 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 ее автор, Вершинина Марина Германовна, достойна присуждения искомой степени по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика.

Отзыв обсужден и одобрен на совместном заседании кафедры клинической лабораторной диагностики и бактериологии и кафедры анестезиологии, реаниматологии и токсикологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, протокол заседания № 07 от 10.03.2023 г.

Заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики и бактериологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России
доктор медицинских наук, профессор  Цвиренко Сергей Васильевич

Заведующий кафедрой анестезиологии, реаниматологии и токсикологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России
доктор медицинских наук, профессор  Руднов Владимир Александрович

«_10_» _марта_ 2023 г.

Подписи

Цвиренко Сергея Васильевича и Руднова Владимира Александровича

ЗАВЕРЯЮ:

Начальник управления кадровой политики и правового обеспечения ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России  Н.А. Поляк

