

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ЦЕНТРАЛЬНАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»
(ФГБУ ДПО «ЦГМА») УПРАВЛЕНИЯ ДЕЛАМИ ПРЕЗИДЕНТА РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Вершинина Марина Германовна

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

3.3.8 – Клиническая лабораторная диагностика

Диссертация на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научный консультант:
член-корреспондент РАН
доктор медицинских наук, профессор
А.М. Иванов

Санкт-Петербург – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	6
ВВЕДЕНИЕ.....	9
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. ДИАГНОСТИКА СЕПСИСА. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ.....	26
1.1. Современные определения сепсиса.....	27
1.1.1 Сепсис-1. Системное воспаление и инфекционный агент.....	28
1.1.2 Сепсис-2. Расширение критериев ССВР.....	30
1.1.3 Сепсис-3. Жизнеугрожающая органная дисфункция, вызванная дисрегулированным ответом организма на инфекцию.....	31
1.2. Современная клиническая практика диагностики и лечения сепсиса ...	34
1.3. Эпидемиология и факторы риска развития сепсиса.....	36
1.4. Этиологическая структура генерализованных инфекций при сепсисе ..	37
1.5. Патогенез септических состояний.....	38
1.5.1. Основные патофизиологические концепции сепсиса	39
1.5.2. Иммунопатофизиология сепсиса.....	42
1.5.2.1 Взаимодействие «патоген – хозяин».....	42
1.5.2.2. Инфекции, переходящие в сепсис – иммунологическая дисфункция	43
1.6. Молекулярные биомаркеры при сепсисе.....	45
1.6.1. Концепция «идеального» биомаркера. Некоторые аспекты изучения различных биомаркеров сепсиса	45
1.6.2. Цитокины/хемокины.....	48
1.6.3. Маркеры клеточной поверхности и растворимые рецепторы.....	49
1.6.4. Биомаркеры, связанные с повреждением эндотелия сосудов	50

1.6.5. Липополисахарид-связывающий белок	51
1.6.6. Белковые биомаркеры острой фазы. С-реактивный белок	51
1.6.7. Лактат	52
1.6.8. Пресепсин.....	53
1.6.9. Прокальцитонин	57
1.6.10. Адренomedуллин и MR-проадренomedуллин	61
1.6.11. «Омиксные» технологии	71
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	76
2.1. Дизайн исследования	76
2.2. Общая характеристика пациентов.....	80
2.3. Общая характеристика клинического материала	93
2.4. Методы проведения лабораторных исследований	96
2.5. Методы определения лабораторных показателей для проведенных исследований	107
2.6. Методы статистической обработки результатов исследований.....	111
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	115
3.1. Выявление этиологических инфекционных агентов при помощи микробиологических и молекулярно-генетических лабораторных методов диагностики	115
3.1.1. Оценка микробного пейзажа ОРИТ и отделений многопрофильного стационара для выявления приоритетных патогенов сепсиса/тяжелого сепсиса и/или тяжелых инфекционных заболеваний.	116
3.1.2. Анализ результатов посева крови на стерильность (гемокультивирование) применяемого в ОРИТ и других отделениях стационара	131
3.1.3. Повышение результативности микробиологического исследования инфекции кровотока.....	136

3.1.4. Использование различных методов лабораторной диагностики для выявления возбудителей септических инфекций. Оптимизация диагностики нозокомиальной пневмонии в условиях стационара.....	145
3.2. Значение биомаркеров в диагностике, мониторинге и прогнозе сепсиса и системного воспаления в ОРИТ.	154
3.2.1. Диагностическая ценность теста на PCT при развитии инфекционных осложнений у пациентов ОРИТ.....	158
3.2.1.1. Возможности теста PCT для оптимизации антибиотикотерапии ...	163
3.2.2. Исследование диагностических характеристик пресепсина у пациентов, поступивших в ОРИТ с признаками сепсиса и тяжелых инфекций	168
3.2.3. Исследование диагностических характеристик проадренomedулина у пациентов, поступивших в ОРИТ с признаками сепсиса и тяжелых инфекций	175
3.2.4. Исследование прогностического значения лабораторных маркеров сепсиса и ПОН у пациентов ОРИТ	179
3.2.4.1. Изучение корреляции лабораторных маркеров ССВР и ПОН	179
3.2.4.2. Лабораторные маркеры ССВР и ПОН для оценки прогноза неблагоприятного исхода	183
3.2.4.3. Использование PSEP как лабораторного маркера для прогноза неблагоприятного исхода при сепсисе.....	186
3.2.4.4. Использование теста на PCT для оценки прогноза риска развития инфекционных осложнений у пациентов ОРИТ поступивших с подозрением на ОКС189	
3.2.4.5. Клиренс лабораторных маркеров как чувствительный показатель прогноза заболеваний	193
3.2.5. Использование комбинации биомаркеров для ранней диагностики сепсиса и тяжелых инфекций у пациентов ОРИТ.....	197

3.2.6. Разработка алгоритма комплексной клинико-лабораторной диагностики сепсиса и тяжелых инфекций для пациентов, поступающих в ОРИТ..... 213

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ
216

ВЫВОДЫ..... 226

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ..... 227

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ 228

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ..... 229

ПРИЛОЖЕНИЯ:..... 270

Приложение 1. 270

Приложение 2. 271

Приложение 3. 272

Приложение 4. 273

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АБТ – антибактериальная терапия

АБП – антибактериальный препарат

АД – артериальное давление

АТФ – аденозинтрифосфат

БАЛ – бронхоальвеолярный лаваж

БЛРС – бета-лактамазы расширенного спектра действия

ДВС – диссеминированное внутрисосудистое свертывание

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЛИС – лабораторная информационная система

МИС – медицинская информационная система

ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии

ППЗ – положительная прогностическая значимость

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция в реальном времени

РНК – рибонуклеиновая кислота

РКФМ – растворимые комплексы фибрин-мономеров

ССВР – синдром системной воспалительной реакции

ПОН – полиорганная недостаточность

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

ЦНС – центральная нервная система

АССР – американский колледж пульмонологов

ADM – адреномедуллин

APACHE II – шкала оценки тяжести состояния Acute Physiology And Chronic Health Evaluation

APC – антигенпрезентирующие клетки

AUROC – площадь под кривой оперативных характеристик

ATS – американское торакальное общество

CARS – Compensatory Antinflammatory Reaction Syndrome – компенсаторный противовоспалительный синдром

DAMPs – Damage-Associated Molecular Patterns – молекулярными фрагментами (паттернами), ассоциированный с повреждениями

ED – emergency department (отделение неотложной помощи)

EC – эндотелиальная клетка

ESICM - европейское общество интенсивной терапии

qSOFA – шкала экспресс SOFA

CRP – С-реактивный белок

CI – confidence intervals – доверительный интервал

IL – интерлейкин

ISF – международный форум по сепсису

La – лактат

LPS – липополисахарид

LTA – липотейхоевая кислота

MARS – Mixed Antagonists Response Syndrome – синдром смешанной про и противовоспалительной реакции

MHC II – основной комплекс гистосовместимости класс II

MLCK – киназа легкой цепи миозина

MLCP – миозиновая легкая цепь фосфатазы

MR-proADM – проадреномедуллин

NETs – нейтрофильные внеклеточные ловушки

NF- κ B – ядерный фактор « κ -light-chain-enhancer» активированных В-клеток

NLR – NOD-like рецепторы

OR – odds ratio – отношение шансов

PAMP – аминотерминальный пептид проадренормедулина

PAMPs – патоген-связанные молекулярные паттерны

PCT – прокальцитонин

PGE2 – простагландин E2

PMNs – полиморфно-ядерные клетки

PRRs – рецепторы опознавания паттерна

PSEP – пресепсин

SCCM – общество специалистов критической медицины

Se – чувствительность

Sp – специфичность

SIRS – Systemic Inflammatory Response Syndrome – синдром системного воспалительного ответа / реакции

SIS – европейское общество хирургических инфекций

SNP – однонуклеотидный полиморфизм

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

SSC – Surviving Sepsis Campaign – международное движение за выживаемость при сепсисе

suPAR – рецептор растворимого активатора плазминогена урокиназы

TCR – Т-клеточный рецептор

TREM-1 – Triggering Receptor Expressed on Myeloid cells 1 – триггерный рецептор, экспрессируемый на миелоидных клетках

TNF- α – фактор некроза опухолей – α

ВВЕДЕНИЕ

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 как наиболее частая причина 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 [10]. 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% [404]. Кроме того, накопленные за последние два десятилетия данные показали постепенное увеличение (8-13% в год) заболеваемости сепсисом в странах с высоким уровнем дохода [242]. 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. Впоследствии объединение нескольких биомаркеров в одну оценку поможет врачам специалистам сделать лучшее диагностическое заключение. 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 с сепсисом. 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. Ранняя лабораторная диагностика и оценка тяжести состояния являются важными шагами для комплексного подхода, что снижает заболеваемость и смертность, связанные с сепсисом.

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% [104, 384]. 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.

Основы современного учения о сепсисе представлены в девяностых годах прошлого столетия, когда Bone R. в 1991 году предложено определение сепсиса, как системной воспалительной реакции организма на воздействие инфекционного агента [72]. Положения о сепсисе, за последние тридцать лет, менялись трижды. На согласительной конференции Американского колледжа пульмонологов (ACCP) и Общества специалистов критической медицины (SCCM). Предложенные в 1992 году рекомендации положили начало современной классификации сепсиса. Где определены: «синдром системной воспалительной реакции» (CCRP) (Systemic Inflammatory Response Syndrome – SIRS), «сепсис», «тяжелый сепсис» и «септический шок». Позднее, эти определения получили названия «Сепсис-1», а дефиниции 2001 и 2016 гг. - «Сепсис-2» и «Сепсис-3» соответственно. Была определена важность мультидисциплинарного подхода к данному вопросу, а именно согласованные действия врачей анестезиологов-

реаниматологов, хирургов, врачей клинической лабораторной диагностики, эпидемиологов клинических фармакологов и др. [71]. Хотя положения «Сепсис-1» явились противоречивыми, а критерии ССВР установлены недостаточно четко, положения данной концепции широко используются в практической работе врачами ОРИТ. В 2001 году дефиниция сепсиса («Сепсис-2») на International Sepsis Definitions Conference - совместной конференции экспертов медицинских обществ (SCCM/European Society Intensive Care Medicine (ESICM)/ACCP/ American Thoracic Society (ATS)/ Surgical Infection Society (SIS)) конкретизированно [72]. Внесены дополнения в критерии и определена значимость полиорганной недостаточности (ПОН) с использованием специальной шкалы – Sepsis-Related Organ Failure Assessment (SOFA). Следует отметить, что концепцию «Сепсис-2» было сложно использовать в условиях оказания неотложной помощи из-за необходимости оценки большого количества данных, не всегда доступных в ОРИТ. В 2016 году, благодаря накоплению значительного количества научных данных, экспертами SCCM и ESICM установлены новые дефиниции сепсиса и септического шока «Сепсис-3» [344]. Предложено определение сепсиса как угрожающая жизни дисфункция органов и систем, сопровождаемая дисрегуляторным ответом организма на инфекцию. В дефинициях «Сепсис-3» не только предполагают возможность раннего выявления пациентов с сепсисом, но и назначение лечения в кратчайшие сроки. В определении Сепсис-3 предложено для оценки ПОН шкала gSOFA и установлены ее изменения в 2 и более баллов. С внедрением новых дефиниций сепсиса, повысилось качество диагностики этого заболевания, что способствовало раннему началу лечения. Максимально быстрая постановка диагноза и своевременно назначенная антибиотикотерапии являются основополагающими для благоприятного исхода заболевания пациентов с сепсисом [25]. Для наиболее эффективной помощи пациентам, диагностические и лечебные мероприятия должны быть начаты на ранней стадии, что подчеркивает необходимость того, чтобы все медицинские работники знали о сепсисе, а диагноз мог быть поставлен как можно раньше [404]. Таким образом, ранняя диагностика,

позволяет выявлять пациентов со скрытыми проявлениями сепсиса и ССВР. 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% [107]. К сожалению, в настоящее время, сохраняется не удовлетворяющее потребностям клиники оснащённость лабораторий оборудованием для выполнения на должном уровне микробиологической диагностики, недостаточное количество лабораторий, работающих в круглосуточном режиме, дефицит знаний у медицинских специалистов о лабораторных маркерах, недостатки в интерпретации лабораторных тестов, что приводит к диагностическим ошибкам [24]. В ранней диагностике сепсиса, именно биологические маркеры и системный подход к лабораторной диагностике ССВР, могут помочь врачам ОРИТ проводить различие инфекции от реакции организма пациента на воспаление.

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. Не всегда коллегиально решается вопрос интерпретации полученных результатов лабораторных исследований. Достижения молекулярной биологии последних десятилетий позволило выявлять и идентифицировать ДНК/РНК патогена в любом исследуемом биологическом материале полученного от пациентов. Для идентификации возбудителей инфекции, в практике лабораторий широко используются методы амплификации нуклеиновых кислот полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Метод позволяющий выявить минимальные количества ДНК /РНК бактерий, грибов и вирусов в биологическом материале пациента. Более того, возможно определение резистентности выделенного патогена к действию АБП. При ПЦР-РВ, важно

получение информации о возбудителе инфекции, применяемой АБТ, расширение спектра патогенов в сравнении с классическими микробиологическими методами исследования. Применение метода амплификации нуклеиновых кислот позволяет назначить этиотропную терапию фактически, с момента поступления пациента в ОРИТ. Значимость идентификации патогенов, эффективность применяемой АБТ доказывают результаты научных исследований, проведенных Seymour C.W. et al. в 2017 году [26]. Где описаны важность комплексной терапии (инфузии и АБП), проводимой в первые часы от поступления пациента в ОРИТ. Данные мероприятия ведут к снижению числа неблагоприятных исходов у пациентов с сепсисом [341].

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 маркеры: 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.

Но и сегодня ранняя диагностика сепсиса и ССВР в клинических условиях также остается важной проблемой. Значительным количеством исследований подтверждено, что раннее назначение соответствующей терапии, включая антибактериальные препараты, связано с улучшением исходов заболевания.

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» [16, 17]. Прокальцитонин, безусловно, является наиболее изученным биомаркером и достоверным лабораторным показателем, который часто применяется для определения продолжительности АБТ [400]. 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 клиничко-лабораторного алгоритма

своевременной диагностики сепсиса и ССВР для коррекции интенсивной терапии.

Цель исследования

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.

Задачи исследования

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 клинико-лабораторный диагностический алгоритм для мониторинга течения сепсиса, ССВР и коррекции интенсивной терапии.

Научная новизна исследования

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 проадреномедуллина, которые охарактеризованы как независимые предикторы неблагоприятного исхода сепсиса и ССВР.

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

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

Впервые разработан диагностический алгоритм клинико-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 исследования

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.

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.

Методология и методы исследования

Методология настоящего исследования спланирована согласно поставленной цели. Методологическая основа данной диссертационной работы представляет последовательное применение научных методов исследования, а именно, аналитический метод (теоретический анализ) – изучение отечественной и зарубежной литературы, касающейся вопросов этиологии, эпидемиологии, патогенеза, диагностики сепсиса и ССВР; эмпирические методы – сбор данных, клинических и лабораторных, сравнение, логический анализ. Работа выполнена в дизайне продольного ретроспективного исследования, в котором использованы клинические, лабораторные, аналитические и современные статистические методы обработки полученных результатов. 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).

Степень достоверности и апробация результатов

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.

Апробация результатов исследования

Основные положения диссертационного исследования были доложены на научных и научно-практических конференциях: 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).

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.

Публикация результатов исследования

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 последиplomного 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).

Внедрение результатов исследования 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».

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.

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.

Благодарности

Выражаю искреннюю признательность научному консультанту, заведующему кафедрой клинической биохимии и лабораторной диагностики Военно-медицинской академии им.С.М. Кирова, доктору медицинских наук, профессору, член - корреспонденту РАН Андрею Михайловичу Иванову за помощь на всех этапах выполнения диссертационной работы.

Ряд результатов, положенных в основу настоящей работы, получены в ходе совместных исследований и опубликованы в соавторстве. Всем коллегам, принимавшим участие в проведении совместных исследований, автор выражает глубочайшую признательность.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. ДИАГНОСТИКА СЕПСИСА. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ

Сепсис известен человечеству с древних времен, в переводе с греческого означает «гниение» или «распад». Во врачебную практику термин «сепсис» ввел Аристотель, называя так отравление организма продуктами гниения собственных тканей. Со временем совершенствовались определение сепсиса, его диагностика и методы лечения. Однако, до сих пор эта проблема остаётся одной из самых сложных актуальных задач медицинской науки [15]. Это связано с тем, что в настоящее время, несмотря на значительный прогресс и применение в диагностике сепсиса современных методов диагностики, частота возникновения этого заболевания не имеет тенденции к снижению, а цифры смертности сохраняются на высоком уровне, и даже в самых современных клиниках достигают 40% при сепсисе и 80-90% при септическом шоке [44]. Своевременная диагностика сепсиса, имеет решающее значение для жизни пациента.

Сепсис не является нозологической единицей, это комплекс симптомов, которые создают высокую вариабельность начала и течения патологического процесса. На сегодняшний день, разработаны новые определения сепсиса, выделяющие основным диагностическим признаком - органную дисфункцию. При необъяснимой ПОН наблюдаемой у пациента, врачу следует учитывать возможность развития сепсиса. Насколько быстро и рационально будет назначена терапия, зависит конечный результат [29].

Сегодня основным подходом к изучению сепсиса считается рассмотрение особенностей реактивности организма, особенностей иммунной системы и механизмов циркуляторных нарушений, поиск высокоэффективных средств коррекции выявленных нарушений, изучение антибактериальной терапии. Большинство исследователей изучающих интенсивную терапию, инфекционные болезни, неонатологию, пульмонологию, клиническую лабораторную диагностику едины в том, что сепсиса без патогена не существует, и поэтому при

диагностике сепсиса важно рассматривать эпидемиологию и структуру возбудителей.

В настоящее время накоплен авторитетный массив данных, подтверждающих, что патогенез сепсиса это дисрегуляторный ответ организма человека на инфекцию. Понимание иммунопатофизиологии сепсиса дает информацию о роли клинико-лабораторных параметров в развитии этого тяжелого состояния. С учетом полученных данных важно оценить значимость каждого из определяемых показателей для своевременной диагностики, мониторинга и прогноза течения этого патологического процесса.

1.1. Современные определения сепсиса

В настоящее время медицинская наука шагнула далеко вперед, но, несмотря на все достижения, сохраняется актуальность, учитывая рост заболеваемости и высокую летальность, проблема поиска достоверных критериев, понятий и определений сепсиса [9]. Стоит отметить, что прогресс в изучении природы сепсиса в рамках истории медицины стал вектором развития ключевых понятий ответа организма на повреждения, происходящие в организме. По мере накопления новой информации, к концу XX столетия возникало представление о сути патологического течения процесса при сепсисе от главенствующего места инфекции к значению реакции макроорганизма. Несомненно, изучение сепсиса как системной реакции на инфекцию отражает суть процессов, происходящих в организме пациента.

Современная концепция сепсиса положена в 90-х годах XX столетия, когда Bone R. в 1991 году предложил рассмотреть сепсис как системную воспалительную реакцию организма в ответ на инфекцию [77].

Изучая механизмы защиты организма от инфекции, получения новых данных о взаимодействии патогенного агента и макроорганизма менялись представления о сущности данного процесса: от основной роли инфекции, к осознанию значения ответной реакции макроорганизма. Современный уровень

развития молекулярной биологии и успехи в изучении генома человека позволили выявить важную роль генетических особенностей макроорганизма в развитии сепсиса [11].

В 1992 году на согласительной конференции Американского колледжа пульмонологов (ACCP) и Общества специалистов критической медицины (SCCM) были разработаны рекомендации, составляющие основу современной классификации, диагностики и лечения сепсиса. Были установлены понятия: «синдром системной воспалительной реакции» (CCBP/SIRS), даны определения: «сепсиса», «тяжелого сепсиса», «септического шока». Определения обозначены как «Сепсис-1», а появившиеся позднее в 2001 и 2016 гг. уточнения/дефиниции «Сепсис-2» и «Сепсис-3» соответственно.

Сегодня, мы имеем все основания для определения сепсиса патологическим процессом, в основе которого реакция организма как системного воспаления на инфекцию различной природы (бактериальную, грибковую иногда при участии вирусов и простейших). Причиной системной органной дисфункции является неуправляемый выброс эндогенных медиаторов воспаления и нехватка противовоспалительных механизмов. В связи с этим, рассмотрение сепсиса как системной реакции на инфекцию четко показывает суть изменений, происходящих в организме.

1.1.1 Сепсис-1. Системное воспаление и инфекционный агент

Как отмечалось ранее, сепсис является патологическим процессом, с реакцией организма (генерализованное или системное воспаление) на инфекцию различной природы. На согласительной конференции Американского колледжа пульмонологов и Общества специалистов критической медицины (ACCP/SCCM) в 1992 году, определены критерии, классификация и диагностика сепсиса (Таблица 1) [7]. Правомочность данных представлений подтвердил материал, основанный на экспериментальных и клинических исследованиях, накопленный исследователями за большой период времени.

Надо заметить, что локальное воспаление, сепсис, септический шок, ПОН это есть реакции организма на воспаление в результате воздействия патогена. Тяжелый сепсис и септический шок определяют важность ССВР организма на инфекцию и как следствие развивающегося системного воспаления с формированием ПОН.

Таблица 1.

Критерии диагностики сепсиса и классификация ACCP/SCCM

Патологический процесс	Клинико-лабораторные признаки
Синдром системной воспалительной реакции (SIRS) – системная реакция организма на воздействие различных сильных раздражителей (инфекция, травма, операция и др.)	Характеризуется наличием двух или более из следующих признаков: <ul style="list-style-type: none"> – Температура $\geq 38^{\circ}\text{C}$ или $\leq 36^{\circ}\text{C}$; – ЧСС $\geq 90/0\text{C}$ – ЧД $> 20/\text{мин.}$ или гипервентиляция ($\text{PaCO}_2 \leq 32$ мм.рт.ст.); Лейкоциты крови $> 12 \times 10^9 /\text{л}$ или $< 4 \times 10^9 /\text{л}$, или $> 10\%$ незрелых форм.
Сепсис – синдром системной воспалительной реакции на инвазию микроорганизмов	Наличие очага инфекции и 2-х или более признаков SIRS.
Тяжелый сепсис	Сепсис, в сочетании с дисфункцией органов, гипотензия, нарушения перфузии тканей. Проявления тканевой перфузии, отмечается повышением концентрации лактатаолигурия, острое нарушение сознания
Септический шок	Сепсис с тканевой, органной гипоперфузией, артериальной гипотонией, который можно устранить с применением инфузионной терапии и назначения катехоламинов.

Дополнительные определения	
Синдром полиорганной дисфункции	Дисфункция отмечена по двум и более системам органов.
Рефрактерный септический шок	Стойкая артериальная гипотония, несмотря на применение адекватной инфузии, применение вазопрессорной и инотропной поддержки.

Сепсис, бесспорно, является мультидисциплинарным вопросом. Успех в диагностике и лечении это слаженное сотрудничество врачей различных специальностей: анестезиологов-реаниматологов, хирургов, терапевтов, микробиологов, клинических фармакологов, врачей клинической лабораторной диагностики и др. [5, 41]. Такое понимание, было весьма прогрессивным, так как оно оптимизировало представления о диагностике, патогенезе и лечении сепсиса.

Практический опыт потребовал серьезного научного осмысления, результатом стали многочисленные многоцентровые исследования по проблематике сепсиса. Классификация сепсиса 1992 года была внедрена в европейских странах в начале XXI века, и подробно изложена в рекомендациях Европейского общества интенсивной терапии (ESICM, 2001), Международного форума по сепсису (ISF, 2003). В нашей стране современная концепция сепсиса активно обсуждалась и впервые была валидирована как клинические рекомендации на Калужской согласительной конференции в 2004 году [5, 41].

1.1.2 Сепсис-2. Расширение критериев ССВР

В 2001 году на конференции International Sepsis Definitions Conference, которая объединила экспертов медицинских обществ (SCCM/European Society Intensive Care Medicine (ESICM)/ACCP/American Thoracic Society (ATS)/Surgical Infection Society (SIS)) были утверждены критерии «Сепсис-2», которые дополнили представления о сепсисе [8]. К имеющимся четырем критериям ССВР были добавлены еще три, было акцентировано внимание на оценку полиорганной

недостаточности (ПОН) с помощью специальной шкалы – Sepsis-Related Organ Failure Assessment (SOFA).

Шкала SOFA для оценки сепсис-ассоциированной органной недостаточности, была принята на согласительной конференции Европейского общества интенсивной терапии в 1994 году, опубликована в 1996 году [10].

Расчет индекса сепсис-ассоциированной органной недостаточности по шкале SOFA определяют по сумме показателей клинико-лабораторных критериев. Причем, чем выше определен балл показателя, тем выше недостаточность оцениваемой системы, следовательно, больше выражена степень полиорганной недостаточности. Расчет по шкале SOFA позволяет, не только объективно оценить эффективность проведенных лечебных мероприятий, но и определить тяжесть состояния больного в динамике, а также охарактеризовать пациентов для включения в клинические исследования и проведения мониторинга эпидемиологического анализа [12, 10].

1.1.3 Сепсис-3. Жизнеугрожающая органная дисфункция, вызванная дисрегулируемым ответом организма на инфекцию

Консенсус экспертов Society Critical Care Medicine (SCCM) и European Society Intensive Care Medicine (ESICM) в 2016 г., представил новые дефиниции сепсиса и септического шока, определив сепсис жизнеугрожающей дисфункцией, а основной причиной ответ макроорганизма на инфекцию [14]. Это «Третий международный консенсус по определению сепсиса и септического шока (Сепсис-3)». Настоящий документ основан на большом количестве клинических данных критериев сепсиса, изученных после 1991 года, учитывая результаты работ рабочих групп международных медицинских некоммерческих сообществ, полученных в 2001 году. Консенсусом «Сепсис-3» исключено понятие «тяжелый сепсис», при этом конкретизированы критерии ССВР при сепсисе и внесены дополнения в определение септического шока.

Новые определения, несомненно, прогрессивны и способствуют ранней диагностике сепсиса. Критерии «Сепсис-3» позволяют раньше выявлять пациентов с сепсисом, что способствует началу лечения в кратчайшие сроки. Предмет дискуссии в определении «Сепсис-3» стало отсутствие критериев системной воспалительной реакции, но при сепсисе происходит активация иммунологических систем, нарушения многих параметров имеющих первостепенное значение при развитии ПОН [16, 17, 42].

Проведенные многочисленные исследования и накопленный опыт свидетельствуют о том, что информационная значимость критериев ССВР незначительна. В исследованиях Sprung C. L. et al. и Lai N.A. et al. где указано, что два из четырех критериев ССВР выявляются у 90-93% пациентов, поступающих в ОРИТ, хотя сепсис диагностируется реже [18, 19]. Проведенные исследования Kaukonen K.M. et al., было обследовано 109663 пациентов, сепсис своевременно не диагностирован у 1 из 8 пациентов, т.к. у больных не отмечались 2 из 4 критериев ССВР [20].

Масштабная исследовательская работа проделана экспертными группами в 2013-2015 годах, на ее основании в дефинициях «Сепсис-3» устранены выделение тяжелого сепсиса [21, 37]. В настоящее время, классификация включает: инфекцию, сепсис и септический шок.

При оценке органной дисфункции, возникающей в ответ на инфекцию, по положению «Сепсис-3» предложено использовать шкалу SOFA в динамике [12], значимы изменения в 2 и более баллов. Значения по шкале SOFA OF2 может свидетельствовать о риске у пациентов неблагоприятного исхода [23]. Для идентификации на догоспитальном этапе оказания медицинской помощи больным при подозрении на инфекцию, вероятностью неблагоприятного исхода, пациентам, госпитализируемым в ОРИТ, предложена шкала quick SOFA (qSOFA) [24, 27]. Данная шкала упрощает оценку по шкале SOFA, включая исключительно три клинических критерия. Необходимо отметить, что оценка по шкале qSOFA может легко и быстро воспроизводиться у любого пациента, так как для оценки не

требуется лабораторное обследование [2]. Подсчет баллов по qSOFA на догоспитальном этапе, позволяет заподозрить у пациента инфекцию и провести расширенное обследование пациента с тщательным мониторингом состояния, при необходимости, назначить консультацию врача ОРИТ.

В международном исследовании 2017 года шкала qSOFA валидирована на 879 больных, поступивших в ОРИТ в период с мая по июнь 2016 года [28]. Госпитальная летальность составила 3% у больных с < 2 баллами по qSOFA и 24% с ≥ 2 баллами [9].

В 2017 году Raith E.P. et al., провели масштабное исследование оценки эффективности применения критериев различных шкал при прогнозе смертности пациентов ОРИТ. Валидацию проводили на большом массиве данных, накопленных в результате ведения медицинской статистики в ОРИТ Австралии и Новой Зеландии. Исследовали 184875 историй болезни, где тяжесть состояния пациентов по SOFA, qSOFA и критериям ССВР, в соответствии с классификацией АССР/SCCM (1992) [38]. Главным критерием оценки определена та точность, с которой каждая из шкал помогала определить внутрибольничную летальность. Следующим критерием оценки был выбран показатель, который объединял возможность наступления смерти пациента и его пребывания в ОРИТ ≥ 3 дней. Было сделано заключение о том, что применение шкалы SOFA (изменение два балла и более) помогает определить летальный исход с вероятностью 0,753, смерть и/или более чем трехдневное пребывание в ОРИТ, с вероятностью 0,736. Для анализа по шкале qSOFA аналогичные показатели составили 0,607 и 0,606 соответственно, для критериев ССВР – 0,607 и 0,609. Полученные данные могут служить доказательством важности оценки выраженности ПОН в качестве одного из критериев диагностики сепсиса и дают возможность, использования qSOFA врачами не ОРИТ в отсутствие условий оценки SOFA.

Современное определение септического шока — это не только острое повреждение циркуляции, которое связано с инфекцией, но и нарушение функции

клеток с нарушением метаболизма. По данным ряда авторов, неблагоприятный исход при септическом шоке 23-83%, что объясняется различиями в критериях диагностики (определение уровня лактата крови в качестве cut off), проведенными лечебными мероприятиями [262]. Унификация критериев позволит ускорить постановку диагноза и судить о неблагоприятном исходе при этом состоянии.

1.2. Современная клиническая практика диагностики и лечения сепсиса

В клинической практике понятие сепсиса и его диагностика, пока являются спорным вопросом для врачей различных специальностей, не исключение и врачи ОРИТ. Учитывая недостаток наших знаний о патогенезе сепсиса, важными причинами служат многообразие клинических проявлений генерализованного инфекционного процесса, что заслуженно вызывает сложности в распознавании. Не определены четкие критерии диагноза в клинической медицине, что ведет к определенному субъективизму в его интерпретации.

С 2002 году создано международное движение за продление жизни при сепсисе – «Surviving Sepsis Campaign» (SSC), объединившее в своих рядах пятнадцать известных международных ассоциаций. Работа сообщества отмечается регулярной работой и публикациями рекомендации по лечению, диагностике сепсиса. В последнем десятилетии SSC, трижды в 2008, 2012 и 2016 пересматривались клинические рекомендации по лечению сепсиса [308, 348]. Необходимо отметить, что в основе рекомендаций заложена система «GRADE» - Система классификации и оценки качества рекомендаций. Данный подход к проблеме упрощает принятие врачом специалистом клинического решения и позволяет адаптировать данные рекомендации к определенной медицинской организации с разработкой протоколов диагностики и лечения.

Отметим рекомендации SSC в 2012 и 2016 года, где обращено внимание на то, что лечение сепсиса на начальных стадиях легче, чем впоследствии справляться с ПОН. Это подтверждает необходимость знать действенные критерии для диагностики и верификации сепсиса, оценки не только тяжести

состояния, но и с целью определения исхода и показаний для госпитализации в ОРИТ, выбора объема терапии и алгоритма мониторинга [123, 124].

Так в 2014 году была опубликована работа, где авторы проанализировали результаты двух проведенных ранее крупных клинических исследований по вопросам сепсиса: Kaiser Permanente Northern California (KPNC), с 2010 по 2012 гг. были проанализированы данные 482828 пациентов из 21 стационара, а Healthcare Cost and Utilization Project Nationwide Inpatient Sample (NIS), изучили 6,5 млн. взрослых пациентов, госпитализированных в 2010 году [31]. Больных с сепсисом распределили на группы, где в первой группе были пациенты с наличием выраженных симптомов сепсиса, а ко второй группе отнесли пациентов с признаками инфекции и ПОН (скрытый сепсис). По данным KPNC, у 14206 пациентов с неблагоприятным исходом, летальность составила от 36,9% с наличием выраженных симптомов сепсиса, и до 55,9% с признаками инфекции и ПОН. Следовательно, большинство неблагоприятных исходов отмечалось при скрытом сепсисе. Если симптомы сепсиса не очевидны, то терапия начинается позднее и исходы хуже. Что лишний раз подтверждает важность ранней диагностики сепсиса и выявление пациентов, которые находятся в группе риска по развитию септических состояний.

Во многих исследованиях отмечалось, что действия по раннему назначению АБТ с отбором проб крови для проведения микробиологических исследований, инфузионной терапии, определение в крови концентрации лактата приводят к снижению госпитальной летальности на 3,9% [129]. Важно отметить, что данная тактика ведения пациентов соответствует последним рекомендациям.

В 2015 году были опубликованы результаты многоцентрового исследования, о стратегии ведения пациентов с сепсисом в России [24]. Результаты были предоставлены в 45 крупных городах. Главными проблемами авторы определили неполное оснащение современным оборудованием и технологиями для микробиологической диагностики и отсутствие лабораторий,

функционирующих 24/7 (в круглосуточном режиме). Также полученные данные показали, что существует дефицит знаний о биомаркерах в диагностике сепсиса.

1.3. Эпидемиология и факторы риска развития сепсиса

Четкое определение сепсиса и единообразие критериев диагноза, позволяет изучить его распространенность в отдельных регионах мира [15]. Однако, эти данные серьезно разнятся в различных странах мира: от 300 на 100000 случаев населения в США [5], 95 на 100000 случаев населения - Франции [54], и до 77 случаев на 100000 в Австралии и Новой Зеландии [88].

По некоторым данным ежегодно в мире регистрируются от 20 до 30 млн. больных сепсисом, около 8 млн. погибают ежегодно от этого заболевания. Сепсис является главной причиной смерти в ОРИТ некоронарного профиля [54].

Клиницисты отмечают в последнее время увеличение частоты развития сепсиса и рост его неблагоприятных исходов. Этот факт связывают с возрастанием антибиотикорезистентных штаммов патогенов. Отмечается увеличение объёмов хирургических вмешательств, а также расширение интенсивной и инфузионной терапии, в клиническую практику широко внедряются внутрисосудистые методы исследования, которые резко увеличивают взаимодействие окружающей среды с сосудистым руслом [4].

Статистические данные довольно противоречивы, однако все они характеризуют сепсис как тяжелейшее состояние с частым неблагоприятным исходом [3]. По данным многоцентрового эпидемиологического когортного проспективного исследования, в которое были включены 14364 пациента из 28 отделений ОРИТ из Европы, Израиля и Канады, выявлено, что на пациентов с сепсисом пришлось 17,4% от всех пациентов, которые получили интенсивный этап лечения, причем 63,2% установленных случаев это осложнение госпитальных инфекций. Эпидемиологические исследования, проведенные в 2003 году в Австралии (ANZICS) и Европе (EPISEPSIS), позволили экспертам сделать выводы, что в развитых странах, частота сепсиса, в среднем составляет 50-100

случаев на 100000 населения. К сожалению, в нашей стране подобные исследования пока не проведены, хотя надо отметить, что именно эпидемиологические данные о сепсисе крайне важны для клинической практики, так как именно они могут стать основой для организации, планирования и финансирования здравоохранения [40].

1.4. Этиологическая структура генерализованных инфекций при сепсисе

В современных определениях сепсиса указано на различную этиологию возникновения данного заболевания, а именно участие бактерий, вирусов, грибов. Однако данная информация требует дополнительного изучения. В Клинико-бактериологической теории сепсиса ведущая роль отводится бактериальному фактору и представлена большинством известных в настоящее время патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Частыми возбудителями хирургического сепсиса являются: *Esherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Enterobacterales* – более 30 родов и несколько сотен видов, *Proteus spp*, *Pseudomonas spp* (чаще всего *P. aeruginosa*), *Bacteroides spp*, *Staphylococcus spp* и *Streptococcus spp* [3].

По анализу данных ряда исследований, именно на долю бактерий в этиологии данного процесса приходится от 80% до 97%. Причем до 30% представлены грамотрицательными бактериями, на долю грамположительных возбудителей приходится до 50% [19, 109, 138]. Отмечается, что стафилококки: *S. aureus*, *S. saprophyticus* и *S. epidermidis* являются основными возбудителями сепсиса. Удельный вес стафилококков в этиологии сепсиса, по ряду исследований составляет 39-45%. В проведенных исследованиях стафилококки в 47,6% являются ведущим бактериальным фактором развития сепсиса в монокультуре, и в 10,7% случаев отмечена консолидация с другими условно-патогенными микроорганизмами [88].

Изучая микробную этиологию при хирургическом сепсисе, отмечена значимость анаэробной инфекции. По виду возбудителя анаэробную инфекцию делят на клостридиальную и неклостридиальную. Клинически значимыми

возбудителями для развития клостридиальной анаэробной инфекции, являются патогенные штаммы из рода клостридий (*Clostridium spp*). Чаще других при микробиологическом исследовании выделяют возбудители: *C. perfringens*, *C. novyi*, *C. septicum* и *C. histolyticum*. Данные микроорганизмы образуют большое количество экзотоксина, оказывающего миотропное и нейротропное действие [126].

В последние годы, на фоне широкого применения антибиотиков, возрасла роль грибов как этиологического фактора в развитии септического процесса. Отмечено, что чаще других выявляются грибы рода *Candida* и значительно реже отмечен рост возбудителей аспергиллёза, криптококкоза и пневмоцистоза.

Вопросы вирусной этиологии сепсиса являются предметом дискуссии и требуют дальнейшего изучения. По своему строению, вирусы отличаются от бактерий и грибов не только размерами, количеством генов, нуклеиновыми кислотами, ферментами, но и формой жизни. В структуре вириона отсутствует эндо - и экзотоксины, следовательно, сложно представить воздействие вируса на эндотелий сосудов, и, возможность этих патогенов вызывать септический шок, но тяжело протекающие вирусные инфекции, несомненно, могут вызвать ССВР [15].

1.5. Патогенез септических состояний

Во второй половине XX века, основную теорию развития сепсиса связывают с ролью макроорганизма и его реактивным состоянием. И.В. Давыдовский в книге «Проблемы причинности в медицине» заключает: «Инфекционная болезнь — это отражение двусторонней деятельности; она не имеет ничего общего ни с банальной интоксикацией, ни с нападением агрессора, пускающего в ход отравляющие вещества. Причины инфекции надо искать в физиологии организма, а не в физиологии микроба» [4]. К началу XXI века, имеют место несколько патофизиологических концепций [13, 14, 15], а именно

гипервоспаления, концепция иммунодепрессии, концепция двухфазного ответа, концепция «хаоса».

1.5.1. Основные патофизиологические концепции сепсиса

Концепция гипервоспаления была сформулирована в конце XX века. Эта концепция связывает развитие полиорганной дисфункции с продукцией провоспалительных цитокинов, которые в большом количестве вырабатываются в ответ на инфекцию. Последующие исследования привели к противоречивым результатам: в некоторых случаях имела место корреляция между концентрацией провоспалительных цитокинов и вероятностью летального исхода (менингококцемия), а в некоторых (хирургический сепсис) – этого доказать не удалось. Неудачи антицитокиновой терапии явно тот факт, что патогенез сепсиса это следствие неконтролируемой системной воспалительной реакции (ССВР) организма [10].

Концепция иммунодепрессии является основой для описания механизмов развития сепсиса без признаков гипервоспаления. Основана на знании некоторых механизмов иммунодепрессии при сепсисе: гиперпродукция противовоспалительных цитокинов, анергия, избыточная гибель иммунных клеток.

Гиперпродукция противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10 и др.). Активированные Т-хелперы (CD4+) вырабатывают большое количество противовоспалительных цитокинов (Т-хелперы 2-го типа – Th2). Отмечено, что у наблюдаемых пациентов с усиленной дифференцировкой Т-хелперов 2-го типа наблюдалась высокая летальность, так же, как и увеличение обратной передифференцировки Т-хелперов из 2-го типа в 1-й приводили к уменьшению летальности при сепсисе [3].

При анергии (отсутствие иммунных реакций на антиген) развивается функциональная несостоятельность клеток не только по функциям распознавания

и презентации антигенов, но и по другим регуляторным и эффекторным функциям [18, 20, 21].

Апоптоз или процесс избыточной гибели клеток, представляется невольной потерей клеток адаптивной иммунной системы, которая приводит к нарушениям. Причем тип клеточной смертности определяется свойствами оставшихся в живых клеток. Апоптоз лимфоцитов запускает выработку противовоспалительных цитокинов, а они в свою очередь нарушают реакцию макроорганизма к возбудителю, при этом некротизированные клетки активируют выработку провоспалительных цитокинов, которые будут дополнять антимикробную защиту [4].

Концепция двухфазного ответа определяет, что на начальной стадии сепсиса происходит рост иммунной активности SIRS (CCBP) с резким снижением CARS (Compensatory Antiinflammatory Reaction Syndrome/компенсаторная противовоспалительная реакция), вызывая иммуносупрессию. При изучении данной концепции вводится понятие MARS (Mixed Antagonists Response Syndrome/синдром смешанной про/противовоспалительной реакции), присутствие в организме иммунных реакции разного направления одновременно. Важно отметить клинические проявления: хронизацией и диссеминацией инфекции; нарушение процессов репарации; тяжелый эндотоксикоз; формированием поздней полиорганной недостаточности.

Концепция «хаоса» продолжение концепции двухфазного ответа, и отражает не только разнонаправленность, многообразие и дисбаланс ответных иммунных реакций организма, но и ограниченность системного воспаления как единого клинического синдрома с общими для всех пациентов закономерностями развития. Исходом такого иммунного «хаоса» при нарастающем сепсисе - угнетение всех механизмов защиты против инфекции [4]. Концепция «хаоса» (CHAOS): Cardiovascular compromise – сердечно-сосудистые нарушения (преобладание SIRS); Homeostasis – соответствует равновесию SIRS и CARS; Apoptosis – программированная клеточная смерть (преобладание SIRS): Organ

dysfunction – моно/полиорганные нарушения (преобладание SIRS); *Suppression of immune system* – иммуносупрессия; анергия, повышение восприимчивости к инфекции (преобладание CARS). Следует отметить, что в отличие от SIRS, концепции CHAOS, иммуносупрессии и др. не имеют четкой клинической картины и сложны для рутинной диагностики. В некоторых исследованиях указывается на возможность дифференциальной диагностики сепсиса от заболеваний другого генеза с помощью определения цитокинового профиля [20].

Отметим, что есть еще ряд патофизиологических концепций развития сепсиса, где главная составляющая генеза сепсиса, это системная воспалительная реакция (SIRS/CCBP). Воспаление является основным патологическим процессом. Его роль – концентрация защитных факторов в зоне повреждения. Развитие повреждений органов и систем при сепсисе связано с инфекцией первичного очага провоспалительных медиаторов эндогенного происхождения, они активируют такие структуры как лимфоциты, макрофаги, нейтрофилы и др. Следует отметить, что активировать гиперпродукцию лимфоцитов, макрофагов и эндотелия могут также экзо - и эндотоксины бактерий [15].

В формировании SIRS выделяют три этапа [5, 245]: ограниченная выработка цитокинов в ответ на влияние микроорганизмов (контроль процессов реализации иммунной и воспалительной реакции организма), выброс незначительного количества цитокинов в системный кровоток (создаются условия для уничтожения патогенов и поддержание системы гомеостаза), генерализация воспалительной реакции (нарушение проницаемости эндотелия капилляров, ДВС-синдром, развитие полиорганной дисфункции) [12, 40].

1.5.2. Иммунопатофизиология сепсиса

1.5.2.1 Взаимодействие «патоген – хозяин»

Патофизиологические и иммунопатологические аспекты сепсиса до сих пор остаются неопределенными. Происходят смены парадигмы сепсиса в течение последних десятков лет. Многочисленные научные и клинико-экспериментальные исследования позволяют выделить главное в иммунопатогенезе сепсиса: прорыв защитных барьеров иммунитета; эндотоксикоз и антигенемия; дисбаланс в цитокиновой регуляции процесса; неспецифическая иммуносупрессия; Клеточная реактивность и специфическая иммуносупрессия [21, 30].

Патогены могут проникать в стерильные области человеческого организма случайно, или через активные целенаправленные механизмы. Пассивный вход чаще нарушение естественных барьеров при хирургических манипуляциях. Некоторые патогены проникают через барьеры организма связываясь со специфическими белками на поверхности клеток (вирусы), или путем экскреции экзотоксинов (бактерий). Кроме экзотоксинов, действующих как факторы вирулентности, патогены обладают огромным количеством токсинов, действующих на клетки «хозяина» прямым или косвенным образом. Одним из самых ранних и наиболее характерных токсинов является липополисахарид (LPS) – основной компонент клеточной стенки Грам (-) бактерии. Отметим, что LPS это один из наиболее сильных, причем естественных индукторов воспаления [13, 109, 232]. Большое количество исследовательских работ в последние десятилетия, было посвящено биологии распознавания LPS, предполагая, что LPS может быть основной причиной патофизиологии сепсиса [13, 60, 214, 291, 363, 377].

1.5.2.2. Инфекции, переходящие в сепсис – иммунологическая дисфункция

Врожденная иммунная система предназначена для защиты «хозяина» от патогенов, отвечает за первоначальное определение опасных факторов, а именно микроорганизмов и воспалительных воздействий [35]. Современное изучение иммунопатофизиологии сепсиса строится на концепции динамического иммунного ответа, когда одновременно, с самого начала выстраиваются процессы провоспалительные и противовоспалительные [367]. Следовательно, результирующее действие про/противовоспалительных процессов определяет общее иммунное состояние организма. В некоторых случаях возникает иммунный дисбаланс, приводя к клинической картине сепсиса [56].

Как правило, начальный иммунный ответ при сепсисе характеризуется перепроизводством провоспалительных медиаторов, приводящих к клиническим признакам. Мононуклеарным клеткам принадлежит высвобождение провоспалительных цитокинов IL-1, IL-6, TNF- α . Провоспалительные медиаторы приводят к быстрой активации иммунной системы – система гипервоспаления [401]. Следом происходит выделение противовоспалительных цитокинов, их концентрация в тканях нарастает, снижая содержание медиаторов воспаления. Выжившие после начальной фазы сепсиса пациенты часто входят в иммуносупрессивное состояние, характеризующееся лимфопенией [370]. Также, уровень человеческого антигена лейкоцита – антигена DR, экспрессируемого на моноцитах коррелирует с исходом сепсиса [179].

Иммунная система при сепсисе стремится к постоянству среды через провоспалительные и противовоспалительные процессы. При возникновении дисбаланса, и изменения иммунного ответа (в обоих направлениях) уровень смертности становится высоким [57]. Если инфекция находится под контролем иммунной системы, то про/противовоспалительные процессы во время течения сепсиса уравниваются, что увеличивает вероятность выживания.

Важными экзогенными факторами развития сепсиса являются источник инфекции (абдоминальные, легочные, кровотока), тип, вирулентность,

концентрация возбудителя. В недавнем клиническом проспективном когортном исследовании была продемонстрирована важность места инфекции для исхода сепсиса. Пациенты с первичной инфекцией кровотока показали более высокую 90-дневную летальность по сравнению с пациентами с легочным или интра-абдоминальным локусом (58% против 35% и 32%) [125, 386].

Иммунный ответ хозяина может быть изменен в зависимости от того, как часто иммунная система обнаруживала антигены возбудителя сепсиса раньше. Некоторые исследования позволяют предположить, что иммунная толерантность может отрицательно влияет на иммунный обмен. В работе Cheng S.C. et al. было показано, что толерантные моноциты имеют нарушения метаболических путей [241].

Неудивительно, что все перечисленные выше факторы суммируется в гетерогенное клиническое состояние пациентов, которые испытывают или функциональный, но избыточный иммунный ответ, или подавленное состояние иммунитета. Эффективная целевая терапия сепсиса требует знания патогенеза сепсиса и гетерогенности индивидуального ответа хозяина на инфекцию. В исследовании Davenport E.E. et al. был применен геномный подход, который позволяет понять гетерогенность сепсиса, определяя подгруппы пациентов с различными состояниями и прогнозами иммунного ответа [113]. Совершенствование классификации может иметь важные терапевтические решения, для выявления пациентов с высоким риском летальности и индивидуально подобранной терапии, направленной на модуляцию дисфункционального ответа хозяина. Наличие таких подходов дает возможность применения персонального медицинского подхода и целенаправленного терапевтического вмешательства для улучшения результатов лечения.

Помимо сопутствующих заболеваний, на течение и исход сепсиса влияет и индивидуальная генетическая предрасположенность хозяина. В масштабном исследовании Rautanen A. et al., целью было определение генетических вариантов, которые влияют на выживаемость при сепсисе, были использованы различные

массивы однонуклеотидного полиморфизма (SNP) для всего генома, чтобы генотипировать отдельные коллекции образцов [114]. Исследование показало, что SNP в гене FER, кодирующем тирозинкиназу FES-связанного протеина, может влиять на течение сепсиса, связан со сниженным риском смерти с не носителями гена [310].

Изменение системы комплемента, диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС) и дисфункция эндотелиального барьера вовлечены в патогенез сепсиса и связаны с такими осложнениями, как острый респираторный дистресс-синдром или острое повреждение почек. Было показано, что нейтрофилы снижают функцию эндотелиального барьера, что, возможно, влияет на увеличение эндотелиальной утечки. Если такие данные будут иметь подтверждение, то функция нейтрофилов и связанные с ними молекулы адгезии могут стать возможным прогностическим биомаркером и будущей целью лечения для поддержания целостности эндотелиального барьера [377].

1.6. Молекулярные биомаркеры при сепсисе

1.6.1. Концепция «идеального» биомаркера. Некоторые аспекты изучения различных биомаркеров сепсиса

Максимально ранняя постановка диагноза и своевременное начало антибиотикотерапии является определяющим моментом для успешного выздоровления пациента с сепсисом [15]. Поэтому важно иметь проверенные индикаторы для точной диагностики, прогноз и течения сепсиса и системного воспалительного ответа (ССВР). Говоря о концепции «идеального» биомаркера, необходимо отметить, что для диагностики важен лабораторный маркер, отражающий биологические/патогенетические процессы с возможностью определять его в лабораторных условиях [408].

На основании терминологии рабочей группы США (Biomarkers Definitions Working Group), в 2001 году, определено, что «биологические маркеры – это

количественно определяемые биологические параметры, которые как индикаторы определяют норму, патологию и результат лекарственной коррекции заболевания» [39, 73, 179]. Была представлена классификация биомаркеров, где маркеры, определяющие риск возникновения заболевания выделены как антецендентные, скрининговые - верифицируют субклинические стадии заболевания на этапах скрининга - скрининговые маркеры, диагностические – помогают определить, наличие и тяжесть заболевания, прогностические - показывают оценку развития заболевания и мониторинг проведенной терапии.

Септический ответ представляет собой сложную цепь событий, состоящую из чреды воспалительных и противовоспалительных процессов, гуморальных и клеточных реакций, нарушения кровообращения и пр. [16, 104]. И поэтому ранняя диагностика, стратификация тяжести сепсиса позволяют обеспечить своевременность и специфичность лечения. Биомаркеры могут указать на наличие/отсутствие ССВР, дифференцировать бактериальную/вирусную/грибковую инфекции; определить тяжесть состояния; дифференцировать системный сепсис и локальную инфекцию. Сегодня биомаркеры применяют в прогнозировании, руководствуются при назначении антибиотикотерапии, оценке ответа пациента на терапию, при восстановлении после сепсиса, и развитии дисфункции органов (полиорганной дисфункции) [316, 348].

Экспертами также предложили концепцию SMART, на основании требований которой, лабораторные маркеры обязаны быть [101]: чувствительными и специфичными (S – specific and sensitive), легко измеряемыми (M – measurable); доступными для клинической практики (A – available and affordable); с хорошей воспроизводимостью (R – responsive and reproductive) и своевременным определением и получением результата (T – timely).

Было исследовано значимое количество лабораторных маркеров, гораздо больше, чем при других заболеваниях. Подобная ситуация не является

недостатком организации исследований, а отражает сложность сепсиса, как патофизиологического процесса, в который вовлечены многие медиаторы воспаления. К сожалению, до сих пор биомаркеры и методы молекулярной диагностики недостаточно специфичны и диагноз сепсиса базируется на клинических признаках [35, 220]. Действительно, в настоящее время есть трудности в отличии сепсиса от других неинфекционных причин ССВР, учеными и врачами всего мира ведется постоянный поиск новых биомаркеров.

Поиском потенциальных лабораторных маркеров сепсиса занимаются исследователи всего мира. В 2009 году коллегами из Бельгии выполнена масштабная работа по изучению базы данных научных публикаций «Medline» с подготовкой обзора научно-исследованных биомаркеров сепсиса [220]. Рассматривались все опубликованные на тот момент исследования, как клинические, так и экспериментальные, где оценивался биомаркер. В этот обзор вошло 3370 исследований, в которых было изучено и описано 178 различных биомаркеров при сепсисе. Выделены биомаркеры цитокинов/хемокинов (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-2; IL-4; IL-8; IL-10 и др.); клеточных маркеров (CD10; CD11b; CD11c; CD18; CD64 и др.); рецепторные (СС-хемокиновый рецептор; FAS-рецептор и др.); коагуляционные (Антитромбин; D-димеры; Фибрин и др.); связанные с повреждением эндотелия сосудов (Ангиопоэтин; Эндокан; Фактор роста тромбоцитов и др.); связанные с вазодилатацией (Копептин; Адреномедуллин и Проадреномедуллин др.); острой фазы (С-реактивный белок; Ферритин; Липополисахаридсвязывающий белок; Прокальцитонин и др.).

Идеальные лабораторные маркеры могут помочь при скрининге, ранней диагностике, стратификации рисков, прогнозе исхода сепсиса, что значительно улучшит результаты лечения сепсиса [246, 298].

1.6.2. Цитокины/хемокины

Провоспалительные цитокины IL-1 β , IL-6, TNF- α являются регуляторами раннего врожденного иммунного ответа на инфекцию и играют ключевую роль в регуляции воспаления и травмы. Эндотоксины бактерий приводят к поступлению в кровь значимого количества цитокинов, в результате чего поражается эндотелий, развивается ССВР и иммунодепрессия [44]. Воздействие цитокинов на организм приводит к появлению лихорадки, активации эндотелиальных клеток и стимуляции выхода циркулирующих полиморфно-ядерных клеток (PMNs) в кровотоки.

Основными провоспалительными цитокинами, которые регулируют ранние ответы определены: интерлейкин-1 α (IL-1 α), IL-1 β , IL-6 и фактор некроза опухоли- α (TNF- α). Провоспалительные цитокины действуют как эндогенные пирогены (IL-1, IL-6, TNF- α), усиливая синтез вторичных медиаторов и других провоспалительных цитокинов макрофагами, мезенхимными клетками, такими как фибробласты, эпителиальные и эндотелиальные клетки, а также стимулируют выработку белков острой фазы [327]. Важно отметить, что после хирургических операций, а также различных травм, при аутоиммунных патологиях и др. может отмечаться рост провоспалительных. В связи с этим, измерение при диагностике сепсиса и ССВР этих параметров нелогично, так как они не будут специфичными для возможности отличия инфекции от воспаления [109, 129]. Согласно анализу клинических исследований, возможно предположить, что лабораторные маркеры IL-6, IL-8 и IL-10 значимы при диагностике неонатального сепсиса, но как только будут установлены более узкие диапазоны [305].

1.6.3. Маркеры клеточной поверхности и растворимые рецепторы

CD64 представляет собой мембранный гликопротеин. В клинических исследованиях было показано, что экспрессия CD64 поверхностных нейтрофилов повышается при инфекциях бактериальной природы. Отмечается, что, экспрессия CD64 увеличивается через несколько часов после активации врожденного иммунитета, маркер не экспрессируется нейтрофилами здоровых людей. Следовательно, экспрессия CD64 может отражать ранние стадии инфекционного процесса, что может помочь при постановке диагноза и прогнозе заболевания, что допускает возможность использования данного лабораторного маркера при ранней диагностике сепсиса и ССВР [269, 298, 360].

Рецептор TREM-1, экспрессируемый на миелоидных клетках (CD354), был впервые описан в еще 2000 году [176]. Относится к семейству, связанному с рецепторами естественных киллерных клеток, экспрессия на поверхности нейтрофилов, моноцитов и макрофагов миелоидных клеток. Активация экспрессии TREM-1 происходит при воздействии бактериальными/грибковыми компонентами, медиаторами воспаления (простагландином E2 (PGE2)) и эндогенными веществами, которые высвобождаются при повреждении клеток. Есть данные, что TREM-1 может способствовать развитию немикробных воспалительных заболеваний, потенцируя воспаление [82].

Растворимая молекула TREM-1 (sTREM-1) может действовать как ингибитор воспалительных реакций, связывая медиаторы воспаления, предотвращая их связывание с мембранной формой TREM-1 и последующую активацию клеток. Уровни молекул sTREM-1 могут быть измерены в биологических жидкостях и выступать как диагностический тест [89] для диагностики/прогнозирования сепсиса. Самые высокие уровни sTREM-1 были обнаружены у пациентов с сепсисом вызванными бактериями и грибами [80]. Отмечено, что уровень sTREM-1 вариабельно повышается через 2-3 час после инфицирования и может оставаться повышенным в течение нескольких дней

[149]. Однако, применение его как лабораторного маркера требует дальнейшего изучения.

Клеточный рецептор активации урокиназы u-PAR, поверхностный сигнальный рецептор, экспрессируемый на лейкоцитах [188]. В научных работах, отмечено его важность в процессах клеточной адгезии, дифференцировки, пролиферации и ангиогенеза [301]. Данный лабораторный маркер можно измерить в биологических жидкостях (кровь, моча, спинномозговая жидкость и др.), т.к. известно его участие в воспалительных процессах с образованием растворимого uPAR, который образуется при отщеплении рецептора от клеточной поверхности. Концентрация данного маркера в крови отражает иммунный ответ на бактериальную/вирусную инфекцию и др. В клинических исследованиях отмечено значимое повышение данного показателя у пациентов с сепсисом и ССВР [74]. Ряд исследователей отмечают информативность при определении тяжести сепсиса [59, 162, 380].

1.6.4. Биомаркеры, связанные с повреждением эндотелия сосудов

Ангиопоэтины 1 и 2 (Ang-1) (Ang-2) относятся к сосудистым эндотелиальным факторам роста. Отмечено, что при сепсисе, Ang-1 участвует в стабилизации эндотелия, а Ang-2 способствует нарушению его целостности, т.е. данные биомаркеры действуют альтернативно. Значимые увеличения показателя маркера Ang-2 крови связывают с наличием сепсиса и ПОН, говоря о нарушении целостности эндотелия сосудов. В описанном когортном исследовании отмечено увеличение уровня Ang-1 и понижение уровня Ang-2 у септических пациентов с благоприятным исходом [380].

1.6.5. Липополисахарид-связывающий белок

Липополисахарид-связывающий белок (LBP) его синтез, в основном происходит в печени. Это полипептид, связывающий LPS. Образующийся LPS-LBP комплекс активирует сигнал в зависимости от уровня LBP [135]. При сепсисе отмечается повышение уровня LBP в крови, что свидетельствует о важности данного показателя для диагностики [186]. Данный показатель может быть эффективным лабораторным маркером и использоваться для прогноза тяжести и исхода заболевания [413]. Надо отметить, что в клинических исследованиях отмечено, что на значения как LPS, так и LBP могут влиять проведение АБТ и данные маркеры не коррелируют с клиническим течением, именно поэтому использование LBP при диагностике сепсиса весьма ограничено [289].

1.6.6. Белковые биомаркеры острой фазы. С-реактивный белок

С-реактивный белок (CRP) был впервые обнаружен в 1930 году, квалифицирован как белок, вызывающий преципитацию полисахарида С при острой фазе инфекции при воздействии *S. pneumonia* [326].

Ген CRP находится на 1-й хромосоме в локусе 1q23-q24. Белок семейства пентраксинов, класс патерн-распознающих рецепторов (PRRs). Белки этого семейства участвуют в иммунологических реакциях (в острой фазе), CRP один из главных компонентов гуморального врождённого иммунитета, обеспечивает связь между врождённой и адаптивной системами [406].

CRP является врождённым опсоином, не только способен определять патогены, но и способствует их поглощению фагоцитами [289]. Связывание С-реактивного белка с патогенными агентами обуславливает их элиминацию. Данный процесс возможен за счёт способности CRP, усиливать классический путь активации комплемента на поверхности бактериальных клеток, что помогает поглощать данные клетки макрофагами, имеющих рецепторы для комплемента CR3 и CR4.

CRP синтезируется в печени в ответ на IL-6 и этот синтез усиливается синергически IL-1 β . Однако, недавние исследования показали, что есть внепеченочная продукция CRP: гладкомышечные клетки коронарной артерии, почки, нейроны человека, альвеолярные макрофаги, жировая ткань. Период полураспада в плазме около 18,8 часов. После встречи с патогеном/повреждения ткани его концентрация увеличивается течение 72 часов. В острой фазе заболевания, у пациентов наблюдается повышение значений CRP, также отмечена тенденция к снижению при нормализации состояния [61, 320, 406].

По данным литературы, отмечается, что показатели значений CRP, не являются специфичными для воспаления, в клинических исследованиях наблюдали повышения значений данного лабораторного маркера после хирургических операций, ожогов и других патологических состояний. Важно отметить, что изучены значимые характеристики данного лабораторного маркера, как маркера применяемого при диагностике бактериальных инфекций. Чувствительность CRP определена 68-75%, специфичность соответствует 40-67% [244]. Отмечена низкая специфичность данного маркера при диагностике бактериальных инфекций, что свидетельствует о его ограниченном применении для дифференцировки воспаления [391]. Согласно опубликованным данным, значимое снижение значений CRP в крови соответствует хорошему ответу на стартовую АБТ у пациентов с сепсисом [351].

1.6.7. Лактат

В настоящее время показатели уровня лактата (La) в сыворотке крови используются для диагностики сепсиса и выбора методов лечения в ОРИТ. Как клинический показатель был описан в 1964 году Broder и Weil, после определения, что его уровень > 4 ммоль/л ассоциируется с шоковым статусом [217]. Уровень лактата в крови – это результат соотношения его продукции и элиминации. Повышенный уровень La в крови может представлять анаэробный

метаболизм и гипоперфузию ткани, непосредственно связанную с дисфункцией органов у тяжелобольных пациентов [217, 350].

Кинетика лактата зависит от наличия гипоперфузии и гипоксии, как правило, когда его уровни повышаются, он показывает существование органной дисфункции и не может использоваться для раннего диагноза [188]. Ранее определение уровней лактата может быть использовано для оценки тяжести состояния пациентов и прогнозирования летальности [184, 246, 342]. Установлено, что чем выше уровень La и чем ниже скорость его нормализации (клиренс лактата), тем выше риск неблагоприятного исхода. В ретроспективном когортном исследовании Filho R.R. et al., с участием 443 пациентов с сепсисом в ОРИТ, было определено, начальное значение уровня лактата более 2,5 ммоль/л коррелирует с 28-дневной смертностью чувствительность 67,4%, специфичность 61,7%, отрицательное прогностическое значение 94,2% [349]. В качестве предиктора раннего агрессивного лечения в ряде исследований были рекомендованы различные значения уровней La [136, 204, 267, 395].

В ретроспективном исследовании Liu Z. et al. было проведено сравнение прогностической значимости уровня лактата в сыворотке крови и данных, полученных при применении шкал SOFA и qSOFA для оценки неблагоприятного исхода у пациентов с сепсисом [267].

1.6.8. Пресепсин

Пресепсин (PSEP) представляет собой растворимую форму гликопротеина CD14 (sCD14-ST), попадает в кровоток путем протеолиза и экзоцитоза [304] и является иммунологическим биомаркером для раннего выявления инфекций [106, 230, 234]. Было отмечено, что уровень PSEP в крови повышается в ответ на бактериальные инфекции, снижается при применении эффективного лечения [217, 379].

Гликопротеин CD14 экспрессируется на поверхности мембраны моноцитов и макрофагов (mCD14). Значительную роль в развитии септических

осложнений играют Toll-подобные рецепторы (TLR), связывая несколько групп лигандов грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, таких как липиды, пептидогликан и другие поверхностные паттерны патогенности [263, 328]. После связывания с чужеродными липополисахаридами CD14 активирует TLR4-специфичный провоспалительный сигнальный каскад и запускает воспалительную реакцию организма против инфекционных агентов [409]. Гликопротеин CD14 существует в двух формах: мембранный (mCD14) и растворимый (sCD14). Растворимый CD14-подтип (sCD14-ST) продуцируется действием протеаз циркулирующей плазмы на sCD14. Молекулярный комплекс LPS-LPBP-CD14 подвергается ферментативной обработке с участием катепсина D и высвобождается в кровь путем диссоциации CD14 от клеточной мембраны [264]. Плазменные уровни пресепсина можно рассматривать как индикатор активации врожденных иммунных эффекторных клеток в ответ на инвазивные патогены.

На сегодняшний день биологическая функция PSEP недостаточно изучена [407]. Определение диапазона концентраций пресепсина в крови человека важно для дальнейшей разработки биомаркера в качестве диагностического инструмента. Однако раннее повышение уровня PSEP в кровотоке во время сепсиса и бактериальных инфекций сделало его изучаемым для исследований и адаптации в клинических условиях [252]. При исследовании уровня растворимого гликопротеина sCD14-ST были изучены концентрации PSEP после инкубации линии моноцитарных клеток (THP1) с LPS в периферических мононуклеарных клетках. В THP1 клетках PSEP был обнаружен через 1 час после воздействия LPS и достиг максимума через 3 часа. В периферических мононуклеарных клетках секреция уровней пресепсина увеличивалась в течение первого часа, одновременно с высвобождением провоспалительного медиатора IL-6 [64].

В многоцентровом исследовании Masson S. et al. был сделан анализ корреляции концентрацией плазменного пресепсина с реакцией хозяина, целесообразностью антибактериальной терапии и смертностью у 997 пациентов с

тяжелым сепсисом и септическим шоком [131]. Было отмечено, что концентрация PSEP увеличивалась с ростом полиорганной дисфункции органов. У пациентов с грамотрицательными бактериальными инфекциями был отмечен более высокий уровень, чем у пациентов с грамположительными инфекциями. В течение 7 дней концентрация PSEP снижалась как у пациентов с отрицательными посевами и положительными посевами крови с соответствующей антибактериальной терапией в условиях ОРИТ. Однако, при неадекватной терапии у пациентов с положительными посевами крови уровень PSEP увеличивался. Авторы сделали выводы, что пресепсин является ранним предиктором ответа хозяина на инфекцию и прогностическим маркером смертности у пациентов с сепсисом.

В отделениях интенсивной терапии у больных сепсисом чувствительность и специфичность PSEP для прогнозирования инфекции были связаны с APACHE II и определены как 84,6% и 62,5%, соответственно [378]. При значении cut-off 466,5 нг/л и при ППЗ 82% и ОПЗ 57% чувствительность и специфичность к тяжелому сепсису составили 90% и 55%, соответственно.

В 2013 году Liu V. et al. определили, что уровни пресепсина в плазме являются перспективным показателем для диагностики и прогнозирования тяжести сепсиса и 28-дневной смертности у септических больных в ОРИТ [203]. В соответствии с их исследованием уровень PSEP при Cut-off 449 нг/л прогнозирует течение сепсиса с чувствительностью 82,4%, специфичностью 72,4%, ППЗ – 71,3%, ОПЗ – 83,2%, точностью прогноза составила 77,0%. Пресепсин как индикатор 28-дневной смертности при cut-off 556 нг/л показал чувствительность 62,2%, специфичность 66,8%, ППЗ 48,3%, ОПЗ 78,0% и прогностическую точность 65,3%. В одноцентровом проспективном наблюдательном исследовании было отмечено, что уровень PSP у пациентов, только поступивших в отделение неотложной помощи, при дифференциации между SIRS и сепсисом имел чувствительность 61% и специфичность 100% (Cut-off – 581 нг/л) [200].

Таким образом, можно констатировать, что эффективность PSEP для диагностики инфекции, зависит от рассматриваемого cut-off. Так в исследовании de Guadiana Romualdo L.G. et al. при использовании уровня cut-off в 273 нг/л чувствительность 95,5%, специфичность 21,7%. В свою очередь, чувствительность 97,1% и 67,1% и специфичность 16,9% и 80,8% для диагностики сепсиса в ОРИТ были определены при уровнях cut-off 312 нг/л и 849 нг/л, соответственно [117].

Различия в полученных данных о чувствительности и специфичности PSEP для прогнозирования инфекции могут быть связаны с неоднородностью проведенных исследований этого биомаркера. Так в исследовании Memar M.Y., Baghi H.B. [264] при обзоре опубликованных исследований о клиническом применении в диагностике и прогнозировании инфекций отмечается, что большой диапазон данных о чувствительности и специфичности PSEP обусловлен различными подходами к таким научным понятиям, как: стратегия исследования (проспективное или нет); клинические условия (отделение неотложной помощи, ОРИТ); тип и возраст пациентов (взрослые или новорожденные) тип образец (плазма, сыворотка, вся кровь) для измерения.

Для повышения точности исследований, биомаркер PSEP может быть использован в сочетании с другими маркерами и методами диагностики тяжелых инфекций. Однако, чтобы точно установить диапазон концентраций в крови для диагностики/прогноза инфекций, необходимы дальнейшие проспективные исследования с большей выборкой.

1.6.9. Прокальцитонин

Первая работа об использовании прокальцитонина (PCT) для диагностики бактериальной инфекции была опубликована в 1993 году [57]. Повышенные уровни PCT обнаружены у пациентов с сепсисом и информативны для идентификации инфекции бактериальной природы [67].

Тест на PCT был одобрен Управлением по контролю за качеством пищевых продуктов, медикаментов и косметических средств США (Food and Drug Administration (FDA)), с 2005 года рекомендован к широкому клиническому применению. В 2008 году Американская коллегия медицины критических состояний (American College of Critical Care Medicine) и Американское общество инфекционистов (Infectious Diseases Society of America) рекомендовали использовать для дифференциальной диагностики инфекции бактериальной природы от других воспалительных процессов тест на PCT [67].

Прокальцитонин относится к семейству белков CAPA (Calcitonin gene-related peptide Amylin-(Pro-)calcitonin-Adrenomedullin family) [260].

Прокальцитонин это белок, который является предшественником гормона кальцитонина (КТ), секретируемого у здоровых людей из ткани щитовидной железы, при наличии в организме инфекционного процесса высвобождается практически из всех тканей. Определено, что PCT оказывает провоспалительное действие на лейкоциты, а именно нейтрофилы и моноциты [66, 216]. Известно о том, что прокальцитонин является агонистом рецепторов кальцитонин ген родственного пептида (CGRP), образующегося при процессинге кальцитонина. При наблюдении повышенных значений прокальцитонина, он ингибирует реакции, обуславливаемые взаимодействием CGRP с его рецепторами [203]. CGRP обладает противовоспалительными свойствами, которые и могут быть инактивированы высокими значениями теста на PCT [202, 208, 209].

Прокальцитонин представляет собой пептид, состоящий из 116 аминокислот, после транскрипции PCT расщепляется ферментативно до молекул зрелого кальцитонина (32 аминокислоты) и катакальцина. Синтез

прокальцитонина кодируется геном CALC-1, расположенным на 11-й хромосоме [65].

В организме все ткани обладают способностью продуцировать PCT, но только С-клетки щитовидной железы экспрессируют соответствующие ферменты, которые способствуют преобразованию прогормона в зрелый кальцитонин [388]. При нормальных физиологических условиях уровень прокальцитонина в плазме крови у здоровых людей практически не определяется (0,043 нг/мл у мужчин и 0,038 нг/мл у женщин) [208]. При системных инфекциях, экспрессия гена CALC-1 увеличивается практически во всех клетках и тканях организма, а прокальцитонин можно описать как «hotmokine»-воспалительный медиатор [153]. При ССВР, индуцированном бактериями, отмечается повышение PCT в крови от 1 нг/мл до 1000 нг/мл и выше [65]. В исследованиях отмечалось, что во время бактериальной инфекции уровни PCT повышаются через 2-4 часа после начала сепсиса достигая максимума в течение 6-24 часов. Прокальцитонин может определяться в сыворотке/плазме крови до 7 дней, затем разрушается протеолизом [388]. Период полувыведения 20-24 часа, при наличии надлежащего иммунного ответа хозяина и антибактериальной терапии, уровни прокальцитонина уменьшаются на 50% в течение 24 часов [15]. Было замечено, что значение теста на PCT в образцах крови пациентов (артериальной) на 4% выше, чем в образцах крови пациентов (венозной) [62].

Многочисленные исследования и клиническая практика доказали, что для благоприятного исхода при сепсисе решающую роль имеют ранняя диагностика заболевания и своевременное лечение. Однако у больных с клиническими признаками острого воспаления и отрицательными результатами микробиологических исследований дифференциальная диагностика сепсиса затруднена. Поэтому в ранней фазе заболевания врачу специалисту бывает сложно подобрать адекватное лечение для конкретного пациента. В таких ситуациях необходимо использовать дополнительные возможности, позволяющие

повысить точность диагноза сепсиса на ранней стадии, например, количественное определение уровня PCT в крови пациента.

В 2014 году Julián-Jiménez A. et al. провели сравнительное исследование основных биомаркеров воспалительной реакции и бактериальной инфекции с целью улучшения диагностики, прогностической оценки и ведения пациентов с тяжелой инфекцией [188]. Авторы отмечают, что для ранней диагностики заболевания, необходимо принимать во внимание собственную кинетику биомаркеров, то есть время достижения максимальной концентрации в крови и период полураспада. Исследовались самые используемые биомаркеры рецептор sTREM-1, прокальцитонин (PCT), С-реактивный белок (CRP), цитокины IL-10, IL-6, TNF- α [62]). Согласно представленным данным было показано, что концентрация в крови CRP поднимается медленно, что делает его неподходящим для экстренной диагностики. По данным ряда авторов, период полураспада PCT составляет 20-30 часов, а снижение на 30-50% свидетельствует о завершении бактериальной агрессии [188, 189, 258]. Авторы делают вывод, что из всех применяемых биомаркеров, PCT благодаря особой кинетике, является биомаркером для ранней диагностики и скрининга при подозрении на наличие бактериальной инфекции [155, 376]. Согласно данным многоцентрового когортного исследования Mueller F. et al., начальные уровни PCT при поступлении в отделение неотложной терапии точно прогнозировали положительную культуру крови у больных при внебольничной пневмонии [273]. В клинической практике оптимальные пороговые значения/уровни PCT (Cut-off values) используют для начала и прекращения антибактериальной терапии. Отметим, что клиническая ситуация играют определяющую роль. В 2019 году был опубликован консенсус экспертов, предложен алгоритм использования PCT при назначении/отмене антибиотиков который поможет снизить побочные эффекты от терапии [209]. Ряд исследователей убеждены и в экономической привлекательности систематического использования маркера PCT для уменьшения использования антибиотиков при лечении сепсиса [76, 89, 136, 265,

335]. В работе Aloisio E. et al. приводятся данные о том, что экономия средств, обусловленная сокращением использования антибиотиков, уменьшением связанных с лечением ими побочных эффектов, значительно превышает затраты на тестирование PCT [48].

Высокий уровень значений PCT и их рост в течение первого дня у тяжелобольных пациентов в ОРИТ являются ранними прогностическими факторами неблагоприятного исхода. Поэтому показатели PCT в сыворотке/плазме используют не только для прогноза развития сепсиса, но и для прогноза неблагоприятного исхода [92, 233, 314, 407]. В исследовании Augun F. Et al была подтверждена статистически значимая взаимосвязь между уровнями прокальцитонина в первом лабораторном анализе, выполненном во время госпитализации, и смертностью [57]. Было показано, что PCT при предельном значении 6,38 нг/дл имеет высокую чувствительность (81,8%) и специфичность (80,8%). Отметим, что в некоторых исследованиях при диагностике сепсиса оптимальное пороговое значение cut-off PCT для прогнозирования неблагоприятного исхода может различаться.

Как было сказано выше, на течение и исход сепсиса влияют самые разнообразные факторы и их взаимодействия. Поэтому при использовании уровня PCT для ранней диагностики состояния пациента, прогноза исхода сепсиса и подбора необходимой терапии необходимо неоднократное проведение бактериологического исследования крови (не менее трех раз) с обязательным определением чувствительности выделенных штаммов микроорганизмов к антимикробным препаратам и, одновременно с этим, целесообразно проводить исследование крови на определение уровня PCT [6]. При этом следует учитывать, что у пациентов уровень PCT в сыворотке/плазме крови также может повышаться во время неинфекционных состояний (травмы, ожоги, панкреатит, острый инфаркт миокарда, карцинома (медуллярная, мелкоклеточный рак легкого, бронхиальные карциномы), при получении иммуномодулирующей терапии, которая может повышать синтез провоспалительных цитокинов, при проведении

перитонеального диализа у пациентов с циррозом печени, после кардиогенного/теплового шока, хирургического вмешательства, острого отторжения трансплантата после пересадки, а также после переливания гранулоцитов крови [107, 194, 396]. Поэтому большинством экспертов, для принятия клинического решения, предлагается использовать значения теста на PCT, как дополнительный метод с учетом клинической картины заболевания [43].

1.6.10. Адреномедуллин и MR-проадреномедуллин

Адреномедуллин (ADM) – гипотензивный пептид впервые был выделен в 1993 году японскими учеными Kitamura K. et al. из клеток феохромоцитомы человека [196]. Первоначально было определено, что с адреномедуллином связаны вазодилатация и снижение артериального давления [292, 293, 294], позднее исследования показали, что ADM оказывает множество разных биологических воздействий [198, 199, 206]. Вазодилатации и нарушению целостности эндотелия, принадлежит значимая роль в развитии септического шока, а свободно циркулирующий пептид ADM, участвующий в регуляции функции эндотелиального барьера и тонуса сосудов, вовлечен в патофизиологию сепсиса. Уровни ADM повышаются во время сепсиса и коррелируют со степенью вазодилатации, с тяжестью заболевания и неблагоприятным исходом [178].

Адреномедуллин состоит из 52 аминокислот и оказывает цитокиноподобное действие гормонов во время воспаления и инфекции. Как и прокальцитонин (PCT), и синтез ADM опосредован через экспрессию генов суперсемейства кальцитонина. Ген ADM человека, расположенный в одном локусе на хромосоме 11, состоит из 4 экзонов и 3 интронов с 5'-фланкирующей областью. Предшественник ADM синтезируется с участием mRNA из 185 аминокислот в виде препрогормона – препроадреномедулина, который подвергается многоэтапному процессу расщепления и после отщепления сигнального пептида превращается в проадреномедуллин (proADM), состоящий из 164 аминокислот. Затем proADM расщепляется на N-концевой

аминотерминальный 20-пептид проадреномедуллина (PAMP) [177, 383], среднерегиональный проадреномедуллин (MR-proADM) [191], адренотензин, и удлиненный глицином 53-аминокислотный пептид, который впоследствии превращается в зрелый ADM и может варьироваться в зависимости от патологии и других факторов [146, 276, 277, 278].

Синтез ADM широко распространен в тканях включая кости, кору надпочечников, почки, легкие, кровеносные сосуды, сердце, жировую ткань, передний гипофиз, таламус и гипоталамус. Стоит отметить, что ADM обнаружен на всех эпителиальных поверхностях, отделяющих внутреннюю среду от внешней (кожные покровы, дыхательные, пищеварительные и мочеполовые пути, и др.), а также во всех выделениях организма (пот, слезы, молоко, бронхиальные выделения и др.). Можно предположить, что это связано с тем, что адреномедуллин выполняет функцию защиты от внешних патогенов [383].

В крови млекопитающих ADM связан со специальным белком-переносчиком, ADM-связывающим белком-1 (ADM-1), идентичным фактору комплемента H [300]. ADM оказывает свое влияние путем лигирования рецепторных комплексов в сочетании со специфическим белком (RAMP), модифицирующим активность рецептора [146, 344]. Рецептор ADM-1 состоит из CRLR в сочетании с RAMP-2, тогда как комбинация CRLR и RAMP-1 образует рецептор CGRP (белок, связанный с геном кальцитонина). На клеточном уровне ADM-рецепторы экспрессируются на различных типах клеток, включая EC, VSMC, кардиомиоциты, макрофаги и дендритные клетки [198, 300, 383]. Взаимодействие ADM с его рецептором происходит через его С-концевой фрагмент [206], в то время как N-концевой участок ADM имеет лишь незначительное значение для его агонистической функции [294]. Независимым от эндотелия способом ADM, соединяясь со своим рецептором, индуцирует увеличение количества внутриклеточного циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) [68, 205, 324], который впоследствии активирует протеинкиназу А (РКА или цАМФ-зависимая киназа) [294].

Доклинические исследования на животных и людях показали, что клиренс ADM происходит в малом круге кровообращения. В настоящее время постепенно увеличивается число исследований метаболизма ADM, хотя данных об этом все равно недостаточно. В ряде исследований было показано, что эндопептидазы плазмы играют основную роль в инактивации или деградации ADM, который начинает быстро разлагаться при воздействии протеаз на N-концы ADM [332, 344, 400]. Период полувыведения ADM из плазмы составляет приблизительно 22 минуты [322]. Также было установлено, что ADM разрушается в почках, надпочечниках и легких и что этот эффект предотвращается ингибиторами металлопротеиназ [412].

Выделяют следующие биологические эффекты ADM: вазодилататорный, положительный инотропный, диуретический, натрийуретический, бронходилататорный, ингибирование секреции инсулина, альдостерона и аденокортикотропного гормона (АКТГ) [302, 325]. Проведенные исследования *in vitro* продемонстрировали сильное сосудорасширяющее влияние ADM на изолированные кровеносные сосуды и органы [171, 224, 255, 294]. В свою очередь исследования *in vivo* показали, что прямая инфузия ADM у различных видов млекопитающих (включая человека) приводила к снижению артериального давления и вызывала компенсаторное увеличение частоты сердечных сокращений, концентрации эндогенного норадреналина и ренина, которые совпали с повышением сердечного выброса [170, 178, 199, 256, 277, 278, 331].

Эти сосудорасширяющие эффекты объясняются тем, что ADM связывается со своими рецепторами, присутствующими как в сосудистых гладкомышечных клетках (VSMCs), так и в эндотелиальных клетках (ECs) [294]. Было описано несколько механизмов действия, посредством которых возникает гипотензивный эффект ADM, как независимых от эндотелия, так и зависимых от него. Эндотелий-независимый механизм осуществляется при взаимодействии ADM с его рецепторами в VSMC, что увеличивает внутриклеточный уровень цАМФ, и приводит к последующей активации PKA, которая может ингибировать

сокращение гладкомышечных клеток сосудов несколькими путями: (1) РКА открывает калиевые каналы VSMC, вызывая отток калия, что приводит к гиперполяризации мембранного потенциала и закрытию потенциал-управляемых кальциевых каналов, уменьшая внутриклеточное содержание кальция; (2) РКА включают ингибирование саркоплазматического кальциевого канала и киназы легкой цепи миозина (MLCK), которая необходима для сокращения актомиозина. Эндотелий-зависимый механизм заключается в стимуляции разными путями кальций-зависимого синтеза оксида азота в ЕС, что приводит к активации миозиновой легкой цепи фосфатазы (MLCP), которая «инактивирует» MLCK и снова снижает уровень кальция, ингибируя саркоплазматические кальциевые каналы. Таким образом, положительный инотропный эффект пептида ADM опосредуется увеличением цитозольного кальция, независимо от цАМФ, через активацию протеинкиназы [279].

Отмечено, что при сепсисе концентрация ADM в плазме и экспрессия mRNA ADM увеличиваются [292]. Так, потеря целостности эндотелиального барьера приводит к накоплению жидкости во внесосудистом состоянии, вызывая отек, снижение артериального давления и последующую полиорганную недостаточность. Это коррелирует с высоким процентом смертности на ранней стадии сепсиса, когда, несмотря на поддерживающую терапию, у пациента развивается полиорганная недостаточность [146]. В дополнении к этому, было показано, что высокие концентрации пептида ADM характерны и для других заболеваний (гипертония, сердечная, почечная и дыхательная недостаточность, цирроз, онкологические заболевания и пр.)

Адренomedулиновые пептиды обладают антимикробной и противовоспалительной функциями, участвуя в защитном механизме организма от бактериальной инвазии. Было обнаружено, что ADM и PAMP обладают мощным микробицидным действием против грамположительных, грамотрицательных бактерий и *Candida albicans*. Эта активность реализуется через открытие гидрофильных каналов микроорганизма, изменяя проницаемость

мембраны [397]. Стоит отметить, что некоторые цитокины, например, TNF- α/β , IL-1- α/β , LPS стимулируют продукцию и высвобождение ADM. Также стимулируют продукцию и секрецию ADM некоторые гормоны (стероиды, гормоны щитовидной железы, ангиотензин II, норэпинефрин, вещество P, эндотелин-1, брадикинин). В то время, как гормоны трансформирующий фактор роста (ТГФ)- β , интерферон γ , тромбин, форсколин и 8-Br-цАМФ ингибируют синтез ADM [344].

Одна из первых работ, где было показано, что уровень циркулирующего (иммунореактивного) адреномедуллина значительно повышается у пациентов с сепсисом, была опубликована в 1996 году. Медиана концентрация адреномедуллина у 12 септических больных, находящихся в ОРИТ, составила 107 фмоль/мл, тогда как для 16 здоровых человек тот же показатель составлял – 7,9 фмоль/мл [171].

Однако непосредственно измерить концентрацию ADM очень сложная задача, по причине того, что адреномедуллин быстро выводится из кровотока, это определяет его недоступным для биохимического исследования крови. ADM имеет короткий период полувыведения, в плазме он быстро метаболизируется (эндопептидазы), связываясь с AMBP-1, близлежащими рецепторами, а также со стенками и поверхностями сосудов [83, 311]. Поэтому вместо адреномедуллина в сыворотке крови стали определять количественное значение среднерегионального проадреномедуллина (MR-proADM). К настоящему времени выявлено, что у взрослых уровни ADM и MR-proADM стремительно повышаются при сепсисе и серьезных бактериальных инфекциях, связаны с тяжестью заболевания, и точно могут прогнозировать риск полиорганной недостаточности [171].

Среднерегиональный проадреномедуллин (MR-proADM) в отличие от ADM, представляет собой фрагмент из 48 аминокислот, который отщепляется от предшественника молекулы ADM в соотношении 1:1. Его физиологическая роль пока неизвестна, но он позволяет сделать заключение о концентрации и активности адреномедуллина [213]. MR-proADM не подвергается значительному

разрушению протеазами, не связывается в тканях и циркулирующей крови, поэтому его период полувыведения составляет несколько часов и его концентрация в плазме крови может быть определена в клинической практике.

Несмотря на то, что в научной литературе повышенные концентрации MR-proADM в основном ассоциируют с инфекциями легких [397], клинические исследования доказали, что у пациентов с сепсисом уровень MR-proADM значимо выше, чем у пациентов с синдромом системной воспалительной реакции (ССВР) [156]. Также было отмечено, что с наличием MR-proADM в крови связана гипотония при тяжелом сепсисе, в таком смысле он может быть использован как диагностический маркер и как маркер прогноза при оценке риска исхода лечения [237]. Позднее, по результатам обсервационного исследования с участием 101 тяжелобольных пациентов с гематологическими злокачественными заболеваниями было предложено использование теста на MR-proADM в качестве нового прогностического лабораторного маркера у тяжелобольных пациентов с различной степенью тяжести сепсиса [52]. Возможность теста на MR-proADM прогнозировать исходы заболевания, аналогично шкалам APACHE II и SAPS II. Также отмечено, что по уровню значимости теста на MR-proADM были определены локализованные бактериальные инфекции и дифференцированы сепсис от SIRS. В когортном исследовании пациентов, направленных в отделение неотложной помощи с высокой температурой и подозрением на тяжелые инфекции (сепсис, инфекции нижних дыхательных путей, инфекции мочевыводящих путей, инфекции мягких тканей, инфекции центральной нервной системы, остеомиелит и пр.), в группах «сепсис-септический шок» выявлена значимая корреляция между оценкой APACHE II и MR-proADM [53]. В свою очередь, при исследовании влияния концентраций CRP, PCT, PSEP и MR-proADM, измеренных в первые 24 часа после поступления в ОРИТ, на диагностику и прогноз при сепсисе и септическом шоке, авторы, изучив результаты тестов 388 пациентов, также пришли к выводу, что уровень MR-proADM увеличивается пропорционально

шкале APACHE-II и имеет лучшую прогностическую ценность ($p < 0,001$), особенно при септическом шоке ($p < 0,01$) [132].

К настоящему времени накоплено достаточно данных, позволяющих утверждать, что MR-proADM может быть хорошим прогностическим маркером, стратифицирующим риск смертности у пациентов с сепсисом. Так, при измерении уровней MR-proADM у тяжелобольных пациентов, поступивших в ОРИТ, P. Schuetz et al. отмечали, что средний уровень MR-proADM ниже 1 нмоль/л был у несептических больных в критическом состоянии, 2,6 нмоль/л – у пациентов с сепсисом и 8 нмоль/л – у больных с септическим шоком ($p < 0,01$) [333]. Многонациональное проспективное наблюдательное когортное исследование TRIAGE, в котором участвовали 7132 пациента в тяжелом состоянии, показало, что измерение уровня MR-proADM значительно улучшает регрессионные модели прогноза летальности, а также клинические модели оценки необходимости госпитализации в отделение интенсивной терапии и срочности начальной терапии [336]. В 2016 году de la Torre-Prados M.V. et al. установили, что прогностическое значение MR-proADM (log rank test: $p = 0,001$) показывает лучшую корреляцию с 28-дневной смертностью [120]. Статистическая значимость была отмечена в регрессионном анализе Cox ($p < 0,001$) для 100 пациентов с относительным риском в 1,26 раза выше исходного для каждого повышения MR-proADM на нмоль/л.

Последующие исследования также подтвердили, что уровень концентрации MR-proADM в крови может быть использован как маркер тяжести заболевания и смертности. Так в исследовании 2017 года была проанализирована способность MR-proADM прогнозировать смертность у пациентов с сепсисом в сравнении с прокальцитонином (PCT), С-реактивным белком (CRP) и лактатом. В исследовании 326 пациентов с сепсисом (21,7%) и септическим шоком (79,3%) были разделены на три группы в соответствии с разной степенью полиорганной недостаточности (по шкале SOFA). Согласно приведенным данным, только MR-proADM и лактат были связаны с неблагоприятным исходом: соотношение рисков

8,5 против 3,4 ($p < 0,001$). Однако, в многомерном анализе MR-proADM был единственным достоверным прогностическим маркером летальности на 28 сутки по всей когорте, показав при этом максимальную площадь под кривой AUROC: AUROC = 0,79 (95% CI: 0,74-0,84) ($p < 0,001$). Для группы SOFA ≤ 6 показатели AUROC MR-proADM составили 0,75 (95% CI: 0,61 - 0,88); для группы SOFA = 7-12 AUROC = 0,74 (95% CI: 0,66-0,83); для группы SOFA ≥ 13 AUROC = 0,73 (95% CI: 0,59-0,86); ($p < 0,05$). В другом проспективном когортном исследовании 173 септических пациентов наилучшие прогностические значения AUROC при поступлении в ОРИТ были получены для MR-proADM и для соотношения показателей CT-proET-1/MR-proADM: 0,75 (95% CI: 0,67-0,85) и 0,82 (95% CI: 0,75-0,89), соответственно [51]. Кроме того, исходные уровни MR -proADM коррелировали с балансом жидкости в течение пяти дней после поступления ($Rho = 0,41$; $p < 0,001$).

Исследуя 120 пациентов Valenzuela Sanchez F. Et al подтвердили ранее сделанный вывод, что исходные уровни MR-proADM помогают выявлять наличие инфекционного процесса у пациентов с синдромом системного воспалительного ответа и органной дисфункцией [381]. Также авторы отметили, что уровни MR-proADM и его клиренс на 5-е сутки после поступления в ОРИТ являются наиболее эффективными маркерами для определения неблагоприятных исходов и риска летальности у пациентов с тяжелым сепсисом. В свою очередь, при исследовании 71 пациента с сепсисом и септическим шоком, авторы подтвердили, что про MR-proADM является биомаркером, показывающим достоверные различия между выжившими и не выжившими больными по концентрации в плазме крови в трех анализируемых временных точках (на 1-й день, на 3-е и 7-е сутки). Диагностическая точность MR-proADM для прогноза летальности в ОРИТ была подтверждена анализом AUROC. Также есть данные, что уровни MR-proADM и высокочувствительного тропонина Т (hsTNT) были достоверно выше у пациентов, умерших до 7 и 28 дня в отделении реанимации [382]. Как известно, у длительно болеющих тяжелых септических пациентов возможна нормализация

уровней PCT при сохраняющейся тяжести состояния, и для прогноза неблагоприятного исхода MR-proADM в разных исследованиях показал значения AUROC $>0,8$ [357]. Это коррелирует с данными недавнего систематического обзора и метаанализа, которые показали, что повышение значений ADM и MR-proADM у пациентов с сепсисом, связано с увеличением неблагоприятного исхода: относительный риск = 3,31 (95% CI: 2,31-4,75), AUCROC = 0,80 (95% CI: 0,77-0,84) при чувствительности 0,72 (95% CI: 0,64-0,78) и специфичности 0,77 (95% CI: 0,69-0,83), что больше, чем результаты опубликованных метаанализов для прокальцитонина, тропонина и лактата [383].

Ввиду мультифакторной структуры септического ответа можно предположить, что комбинация нескольких тестов будут более эффективна для диагностики и лечения сепсиса, чем использование одного биомаркера в качестве уникального инструмента. В масштабном исследовании Angeletti S. et al при комбинированном измерении ряда биомаркеров (PCT, MR-proADM, IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, VEGF- α (Vascular Endothelial Growth Factor alpha), IFN- γ (Interferon gamma), EGF (Epidermal Growth Factor), MCP-1 и TNF- α) у пациентов с сепсисом (n = 104), была определена максимальная посттестовая вероятность при комбинации лабораторных маркеров PCT и MR-proADM [52]. Отмечено, что посттестовая вероятность диагностической ценности сочетания этих маркеров превышает посттестовые вероятности всех остальных сочетаний и единичных маркеров.

В отличие от уровня PCT, который зависит от возбудителя инфекции (при Грам (-) сепсисе PCT также показывает высокий уровень), концентрация MR-proADM, по-видимому, связана со степенью органной недостаточности и тяжестью инфекции, а не с возбудителем как таковым. При обследовании 200 больных сепсисом с установленным этиологическим инфекционным агентом было показано, что AUCROC для MR-proADM с Грам (+) возбудителем составила 0,96 (p < 0,01); с Грам (-) – 0,94 (p < 0,001); с грибами – 0,99 (p < 0,001) и при полимикробном возбудителе – 0,98 (p < 0,001) [52].

Также установлено достоверное повышение концентрации MR-proADM в плазме крови у пациентов с внутрибольничными инфекциями после септического шока. Поэтому, можно предположить, что динамическое наблюдение за концентрацией MR-proADM значительно увеличивает точность прогноза и представляет собой прорыв в мониторинге инфекционного риска у пациентов ОРИТ.

Для пациентов с сепсисом и септическим шоком прогностическая значимость и диагностическая ценность MR-proADM (в настоящее время мало изучена) значительно увеличивается при применении этого маркера в сочетании с другими шкалами тяжести сепсиса (например, REA-ICU (риск раннего поступления в отделение интенсивной терапии), PSI, CURB-65, SOFA, APACHE II и пр.), по сравнению с использованием MR-proADM изолировано как отдельного биомаркера. Так, в недавней работе Spoto S. et al. на основании ROC-анализа и данных о посттестовой вероятности некоторых быстрых лабораторных маркеров (PCT, MR-proADM, лактат) и клинических шкал SOFA/qSOFA, был предложен диагностический алгоритм для сепсиса и септического шока. Согласно представленному алгоритму, при подозрении на сепсис первоначально рекомендуется определить концентрацию прокальцитонина. Если показатели PCT $\geq 0,5$ нг/мл, то вероятность идентификации сепсиса составляет 96%, а септического шока – 98%. Далее следует измерить концентрацию MR-proADM и получить данные шкал SOFA и/или qSOFA. Если при PCT $\geq 0,5$ нг/мл, уровни MR-proADM показывают значение ок1,5 нмоль/л, а показатели SOFA и/или qSOFA ≥ 2 , то вероятность идентификации сепсиса составляет 99,5%. При концентрации лактата ≥ 2 ммоль/л у пациентов был выявлен септический шок в 99,9% случаев [352].

Прогностическая ценность проадреномедулина с целью улучшения раннего выявления тяжелых инфекций продолжает изучаться. Необходимы дальнейшие исследования в этой области. Предполагается, что MR-proADM будет важен как диагностический лабораторный маркер для исключения тяжелых

инфекционных и неинфекционных заболеваний, выявление ранних стадий локализованных инфекций и как маркер прогноза и исхода заболеваний.

1.6.11. «Омиксные» технологии

Многочисленные клинические исследования показали, что у пациентов с сепсисом может быть различная патофизиология болезни, несмотря на сходные клинические проявления. Есть вероятность, что именно определение биомаркеров позволят перейти к персонализированной медицине [68, 318]. В рекомендациях Европейского общества по клинической микробиологии и инфекционным заболеваниям (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Disease / ESCMID) в отношении прецизионной медицины при сепсисе отмечается, что при поиске биомаркеров важно оценить их клиническую полезность (доступность для взятия образца, проведение быстрого теста с точными результатами) [270]. Прецизионная медицина дает возможность значительно улучшить результаты лечения пациентов с сепсисом.

Отметим, что в последнее время активное развитие области междисциплинарных исследований позволило специалистам микробиологии объединить данные, полученные в результате множественных омических технологий (геномика, транскриптомика, протеомика, метаболомика) для создания более целостного понимания поведения клеток, организмов и их сообществ, при заболевании [134, 313, 384, 385]. «Омиксные» методы помогают получить более целостную молекулярную перспективу изучаемых биологических систем. Данные технологии представляются перспективным инструментом для разделения пациентов на подгруппы на основе специфических, патофизиологических особенностей организма. Стратификация пациентов проходит по фенотипу, а не по рутинным параметрам (вес, рост, возраст, пол, симптомы и признаки заболевания, сопутствующие заболевания, лекарства, история болезни, эпидемиологический и социально-экономический анамнез, предпочтения и пр.).

Метаболомика, объединяет множество инструментов и подходов в изучении метаболитов и интегрирует эти сложные многокомпонентные данные. Транскриптомика использует молекулы РНК в качестве биомаркеров, исследование которых может быть произведено в формате «Point of care testing» (РОС-тесты). Сегодня, диагностические биомаркеры РНК могут дифференцировать инфекционно-положительный сепсис от инфекционно-негативного системного воспаления (SIRS). Для этого используется первый, основанный на исследовании РНК, быстрый клинический молекулярный анализ SeptiCyte LAB, который был одобрен Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) для использования врачами интенсивной терапии в качестве диагностического инструмента раннего выявления инфекции у тяжелобольных пациентов с подозрением на сепсис [93]. Для исследования не нужны биопсия или сканирования, нужна пробирка с биологическим материалом (кровь). В панель SeptiCyte LAB входят гены LAMP1 (Lysosomal-Associated Membrane Protein-1), PLA2G7 (Phospholipase A2, Group VII; platelet-activating factor acetylhydrolase), PLAC8 (Placenta-specific gene 8), CEACAM4 (Carcinoembryonic Antigen-related Cell Adhesion Molecule-4). Разработчики указали, что анализ крови SeptiCyte LAB помогает правильно диагностировать тип инфекции у 100% пациентов с подозрением на сепсис за 4,5 часа после взятия образца. Точность результатов диагностики SeptiCyte LAB, основанной на РНК, была подтверждена в работе McHugh L. et al. [252]. Так в ретроспективном исследовании, охватывающим 105 тяжелобольных пациентов в ОРИТ, было показано, что SeptiCyte LAB позволяет быстро, надежно и точно дифференцировать больных с сепсисом от пациентов с SIRS. Чувствительность составила 0,94% (CI: 0,87-0,98); специфичность – 0,62% (CI: 0,55-0,68); AUROC – 0,88% (CI: 0,84-0,92); ППЗ – 0,48% (CI: 0,44-0,52); ОПЗ – 0,96% (CI: 0,92-0,98).

Транскриптомные биомаркеры также могут быть использованы для различения возбудителей бактериальных и вирусных болезней, а также болезней неинфекционного происхождения [373]. Так в работе Tsalik E.L. et al. было

обследовано 328 пациентов по шести известным профилям генной экспрессии GSE6269, GSE42026, GSE40396, GSE20346, GSE60244 и GSE42834 [372]. Оценка профилей в периферической крови позволила однозначно классифицировать четыре группы пациентов: 1 - ответ организма на бактериальную инфекцию; 2 - вирусную; 3 - ко-инфекцию; 4 - неинфекционный SIRS.

Метод оценки профилей генной экспрессии может быть использован для стратификации пациентов на подгруппы на основе транскриптома лейкоцитов периферической крови. Геномные профили экспрессии генов крови использовались в проспективных наблюдательных когортных исследованиях, направленных на выявление биологически значимых молекулярных эндотипов у пациентов с внебольничной пневмонией, ассоциированной с сепсисом. Так в исследовании Davenport E.E. et al. были определены две сигнатуры ответа на сепсис, показывающие иммуносупрессивный тип SRS1 по сравнению с SRS2 [114].

При сепсисе отмеченные реакции больных разнообразны, что затрудняет идентификацию пациентов с высоким риском неблагоприятного исхода и применение целевой терапии. Выявление эндотипов сепсиса может помочь в обеспечении персонализированного ведения пациента в выборе необходимой для него терапии. В проспективном обсервационном когортном исследовании Scicluna V.P. et al. были биологически идентифицированы релевантные молекулярные эндотипы у пациентов с сепсисом при поступлении в ОРИТ, а также проведена оценка связи этих эндотипов с клиническими признаками и исходом сепсиса [341]. Четыре молекулярных эндотипа сепсиса, обозначенные как Mars1-4, были идентифицированы и связаны с 28-дневной смертностью (log-rank $p = 0,022$). Авторами было отмечено, что биомаркеры BPGM и TAP2 достоверно идентифицировали пациентов с эндотипом Mars1, который единственный был последовательно значимо связан с 28-дневной смертностью. Анализ общего улучшения реклассификации с использованием комбинированной клинической и эндотипной модели значительно улучшил прогнозирование риска

до 0,33 (0,09-0,58; $p = 0,008$). Метод диагностики по экспрессии генов достоверно стратифицировал пациентов с сепсисом по четырем эндотипам.

Несмотря на огромный прогресс в изучении биомаркеров сепсиса, диагностика данного заболевания в клинических условиях остается сложной задачей. Развитие сепсиса меняет экспрессию и активность тысячи эндогенных медиаторов воспаления, коагуляции и промежуточного метаболизма. Эндотипы носят динамический характер, и значительная доля пациентов меняет эндотип при развитии острой фазы септического шока. Изменения эндотипа оказывает влияние как на реакцию пациента к терапии, так и клинические исходы [293]. В этих условиях клинические и стандартные лабораторные анализы не очень полезны, потому что у большинства критически больных пациентов развивается воспалительная реакция, независимо от того, есть у них сепсис или нет. Даже микробиологическая оценка может быть ненадежна, потому что многие образцы культур не показывают наличие микроорганизмов у таких пациентов. Поэтому представляется маловероятным, что один биомаркер может предоставить достаточную информацию о нарушении реакции больного. С другой стороны, группа биомаркеров может привести к сепсис-сигнатурам, необходимым для разработки таргетной терапии [76, 358]. Таким образом, такая классификация сепсиса или эндотипы могут значительно дополнить традиционные биомаркеры этого заболевания и помочь в осуществлении персонализированного подхода к ведению септических пациентов.

Анализ научных публикаций показал, что в последнее время улучшилось понимание патофизиологии сепсиса, увеличилось количество применяемых в клинических условиях биомаркеров сепсиса, постоянно совершенствуются диагностические и лабораторные системы. Однако, несмотря на это, к настоящему моменту ни одной эффективной и адекватной терапии сепсиса так и не было создано. Отсутствие клинических испытаний может частично объясняться большой гетерогенностью пациентов с сепсисом, и сложностью патофизиологии этого заболевания [114, 340]. Важно подчеркнуть, что почти во

всех исследованиях, в качестве «золотого стандарта» обычно используется культурально-положительный сепсис, хотя у многих пациентов с сепсисом культуры могут оставаться отрицательными. До сих пор недостаточно данных об оценке экономической эффективности большинства предлагаемых методов диагностики и лечения сепсиса. Большим количеством исследований подтверждено, что раннее назначение соответствующей терапии, включая антибиотики, связано с улучшением результатов. Но и сегодня ранняя диагностика сепсиса в клинических условиях остается важной проблемой.

Обзор литературы показывает, что все существующие на данный момент биомаркеры сепсиса можно разделить на диагностические и прогностические маркеры: диагностические предназначены для дифференциации сепсиса от неинфекционных тяжелых заболеваний, для определения возбудителей и оценки степени тяжести заболевания; прогностические определяют степень риска для пациентов и прогнозируют результаты лечения.

Уникальный биомаркер определен не только идентифицировать/исключить сепсис, но должен быть использован для руководства терапией. В литературе белковые и цитокиновые биомаркеры сепсиса рассматриваются как «традиционные» [108]. Прокальцитонин, безусловно, является наиболее изученным биомаркером и единственным примером, который часто применяется для определения продолжительности и доз антибиотиков [287]. Другими хорошо изученными биомаркерами являются лактат, С-реактивный белок, 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 или чувствительностью, чтобы его можно было использовать отдельно и в диагностике, и в лечении пациентов с сепсисом, а также регулярно и легко применять в клинической практике.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Дизайн исследования

Изучение литературных данных показало, что за последние три десятилетия произошла значительная эволюция в понимании патофизиологии и лечении сепсиса. Одним из важных изменений стало принятие необходимости ранней диагностики и целенаправленной терапии сепсиса (early goal directed therapy) в условиях ОРИТ: идентификация пациентов из группы риска, своевременное лечение антибиотиками, оптимизация гемодинамики и соответствующая поддерживающая терапия. Однако и сегодня ранняя диагностика сепсиса и ССВР в клинических условиях проблематична. Это происходит по ряду причин, в том числе и из-за изменчивого и неспецифического характера признаков и симптомов сепсиса у каждого конкретного пациента. Поэтому на ранней фазе заболевания врачу бывает трудно подобрать адекватное лечение. В таких ситуациях важно использовать дополнительные лабораторные маркеры, позволяющие увеличить точность постановки диагноза сепсиса и ССВР на ранних стадиях.

Данное исследование было направлено на разработку стратегии лабораторного мониторинга и на основе подробного изучения результатов микробиологических, молекулярно-генетических и иммунохимических исследований, создание комплексного клиничко-лабораторного диагностического алгоритма для наблюдения за течением сепсиса, ССВР и коррекции интенсивной терапии у пациентов ОРИТ. Работа проводилась для улучшения результатов ранней диагностики сепсиса и ССВР у тяжелобольных пациентов с подозрением на сепсис и тяжелые инфекционные заболевания. В рамках проведенного исследования, биоматериалы пациентов были изучены при помощи различных лабораторных методов выявления патогенов сепсиса и произведена оценка эффективности их применения для ранней диагностики септических состояний в условиях многопрофильного стационара.

При планировании исследования с учетом накопленных к настоящему времени научных и клинических данных выбран дизайн исследования: ретроспективное наблюдательное типа «случай-контроль».

Генеральной совокупностью в нашем исследовании следует считать всех пациентов ОРИТ, относящихся к группе риска по развитию септических осложнений. Выборки пациентов формировались ретроспективно на основании результатов истории болезни в медицинской информационной системе многопрофильного стационара ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой» и данных лабораторного обследования. При необходимости проведения дополнительных клиничко-лабораторных тестов использовались архивные образцы биоматериала.

Основным критерием включения в исследование являлось наличие симптомов сепсиса, септического шока или системного воспалительного ответа у пациентов, поступивших в ОРИТ, в соответствии с критериями диагностики и классификации сепсиса «Сепсис-1» (ACCP/SCCM, 1992; Калужская согласительная конференция (РАСХИ), 2004) и «Сепсис-2» (SCCM/ESICM, 2003) [10]. Подозрение на сепсис считалось подтвержденным, если у пациентов была доказана инфекция и признаки полиорганной недостаточности клинически или при помощи использования микробиологических методов лабораторной диагностики ($\text{SOFA} \geq 2$ и/или $\text{qSOFA} > 2$ и/или $\text{APACHE II} > 15$). Инфекция считалась подтвержденной клинически, при соответствии клинической картины и диагноза, при соответствующих результатах исследований биологического материала, выполненных в лаборатории микробиологии, а также назначения больному необходимой антибиотикотерапии. Для подтверждения наличия или отсутствия инфекции использовались классические микробиологические методы лабораторных исследований и методы амплификации нуклеиновых кислот ПЦР.

К критериям исключения в процессе всего периода проведения данного исследования были отнесены следующие показатели: возраст < 18 лет, беременность, предыдущая застойная сердечная недостаточность (класс NYHA \geq III), правожелудочковая недостаточность, хроническая почечная недостаточность

III стадии KDOQI и/или более, острая легочная эмболия. Также не были использованы для проведения данного диссертационного исследования пробы пациентов, для которых не представлялось возможным установить /отвергнуть наличие сепсиса, невозможность собрать подробные входящие данные, или были установлены дефекты взятия проб биологического материала.

Оптимальный объем выборки для исследования значимости биомаркеров сепсиса и ССВР при диагностике, мониторинге и прогнозе исхода заболевания рассчитывался по формуле, которая используется при сравнении количественного показателя в двух равновеликих независимых группах [57, 22]:

$$n = (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \times \frac{s_1^2 + s_2^2}{\Delta^2}$$

где s_1^2 и s_2^2 – дисперсии признака в обеих группах; Δ – минимальная (клинически значимая) величина различий, которую нужно обнаружить; Z_{α} и Z_{β} – критические значения нормального стандартного распределения для заданных α и β .

Разница считается статистически значимой, когда значение $p < 0,05$. Заданная мощность критерия была выбрана 80%, а минимально значимая разница (Minimum Significant Difference/MSD) медианных значений биомаркеров определялась по данным изученной литературы. Стандартные отклонения в группах рассчитывались по результатам проведенных предварительных исследований. Необходимо было учитывать, что в течение всего исследования возможны исключения результатов (по разным причинам), расчетный объем выборки был увеличен приблизительно на 20%. В качестве окончательного, минимального объема выборки была выбрана наибольшая из всех рассчитанных численностей в зависимости от этапа работы, которая составила 75 пациентов.

Выбор методов лабораторного исследования для сравнения их диагностической ценности (микробиологических, молекулярно-генетических и иммунохимических) обусловлен рядом следующих факторов: анализом данных об их чувствительности и специфичности при ранней диагностике сепсиса и

ССВР, широтой распространения и удобством использования в рутинной лабораторной практике, сокращением времени получения результатов тестов, а также оценкой их диагностических и/или прогностических особенностей.

План исследования

1. Изучить применение микробиологических методов исследований у пациентов ОРИТ с тяжелыми инфекциями и определить возможности для раннего выявления этиологических инфекционных агентов, в том числе и с использованием молекулярно-генетических методов.

2. Провести сравнительную оценку результатов микробиологических и молекулярно-генетических методов выявления патогенов и определить диагностическую эффективность метода ПЦР для поиска этиологических инфекционных агентов.

3. Изучить диагностические и прогностические характеристики иммунохимических методов клинической лабораторной диагностики для раннего выявления сепсиса, ССВР и определить наиболее информативные биомаркеры для ранней диагностики, прогнозирования течения патологического процесса, неблагоприятного исхода и своевременной коррекции лечения.

4. Определить возможность применения различных комбинаций биомаркеров для диагностики сепсиса у больных в критическом состоянии.

5. На основании полученных данных разработать комплексный клинико-лабораторный диагностический алгоритм для мониторинга течения сепсиса, ССВР и коррекции интенсивной терапии.

Данное исследование было одобрено Этическим комитетом ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации (далее ФГБУ ДПО «ЦГМА») (Протокол №5-Л/18 от 02.10.2018 г.) и Ученым советом ФГБУ ДПО «ЦГМА» (Протокол №2/1 от 04.04.2019 г.).

2.2. Общая характеристика пациентов

В рамках настоящего исследования проведен комплексный мониторинг 2274 пациентов, в исследование были включены 7428 образцов биоматериала пациентов, поступивших в реанимационные отделения многопрофильного стационара ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой» с подозрением на сепсис и тяжелые инфекции в период с января 2013 по декабрь 2018 г. Для всех этапов данного исследования, количество обследованных пациентов ($n = 2274$) из них мужчин 1222 (54%), женщин 1052 (46%), средний возраст пациентов составил $66,0 \pm 14,3$ лет. Распределение больных по разделам настоящей работы представлено в Таблице 2.

Таблица 2.

Распределение больных по разделам настоящей работы

Разделы работы	Кол-во больных	Женьщины	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 ФГАУ «ЦКБ с поликлиникой» программам, информация об анамнестических данных, осмотре и инструментальных исследованиях была получена из медицинской информационной системы (МИС), а также были выполнены соответствующие лабораторные исследования.

В рамках изучения применения микробиологических методов исследований у пациентов ОРИТ с сепсисом и/или тяжелыми инфекционными заболеваниями, для получения полной эпидемиологической картины заболеваний, для выявления приоритетных патогенов и повышение результативности микробиологического исследования было важно оценить состояние микробного пейзажа в ОРИТ и отделениях стационара.

Данные для исследования были получены на основании результатов бактериальных посевов образцов биологических сред полученных от пациентов (n = 1116) с подозрением на сепсис ССВР и/или тяжелые инфекционные заболевания поступивших в ОРИТ за период 2013-2018 гг. Сепсис был определен в соответствии с критериями «Сепсис-1» (АССР/SCCM [77], 1992; Калужская согласительная конференция [9, 34], 2004) и подтвержден дополнительными лабораторными и инструментальными методами исследования.

Материалом для изучения послужили образцы биологического материала: моча, кровь, отделяемое дыхательных путей (промывные воды бронхов (ПВБ), мокрота, бронхо-альвеолярный лаваж (БАЛ), желчь, кал, экссудаты и трансудаты, синовиальная жидкость, материал слизистых оболочек верхних дыхательных путей (мазки из носоглотки и ротоглотки), мазки из урогенитального тракта, спинномозговая жидкость (ликвор).

Определяли частоту высеваемости и встречаемости значимых микроорганизмов. Исследование проводили классическими микробиологическими методами лабораторной диагностики [25, 26]. Данные по количеству выделенных штаммов микроорганизмов по реанимационным отделениям стационара и всего по ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой» по годам представлены в Таблице 3.

Таблица 3.

Количество выделенных штаммов микроорганизмов в 2015-2018 годах

Годы	2015	2016	2017	2018
Количество выделенных штаммов	Всего по ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой»			
	2258	2465	3156	5136
	По ОРИТ стационара			
	630	621	640	1234

Исходные данные пациентов ОРИТ, включенных в изучение и анализ микробного пейзажа ОРИТ, представлены в Таблице 4.

Исходные данные пациентов ОРИТ, включенных в изучение и 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%)

Далее был проведен анализ полученного микробного пейзажа; изучена чувствительность выявленных возбудителей инфекционного процесса к антибактериальным препаратам; определены наиболее часто выделенные при микробиологических лабораторных исследованиях патогены инфекции в ОРИТ и отделениях стационара ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой»; 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. На основе проведенного анализа были подготовлены рекомендации об организации

образовательных мероприятий для врачей-специалистов стационара и специалистов клинической лабораторной диагностики с целью улучшения информированности о современных направлениях по лабораторной диагностике возбудителей тяжелых инфекций, а также по повышению рациональности применения антибактериальной терапии.

Для оценки эффективности существующей практики выполнения посева крови на гемокультуру (гемокультивирование) при диагностике инфекций кровотока было отобрано и исследовано 1644 образцов крови, полученные от пациентов, находящихся на лечении в реанимационных отделениях стационара ($n = 657$). Исходные данные пациентов ОРИТ, включенных в исследование оценки эффективности существующей практики выполнения гемокультивирования при диагностике инфекций кровотока представлены в Таблице 5.

Таблица 5.

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 (объем 10 мл) для аэробов, анаэробов и грибов. Среднее количество флаконов от одного пациента составило 2,2 (от 1 до 6). 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.

Согласно дизайну данного исследования 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 составили 54 (51%), средний возраст $57,1 \pm 6,01$ года, мужчины – 52 (49%), средний возраст $60,5 \pm 6,11$ года. Материалом для исследования была свободно отходящая мокрота, трахеальный аспират (ТА) и образцы бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ). Выявление возбудителей из образцов биологического материала проводились культуральным методом лабораторной диагностики (культивирования микроорганизмов на плотных питательных средах с последующим выделением чистой культуры микроорганизма, его идентификации, определение чувствительности выделенного патогена к

антибактериальным препаратам, а также при помощи метода амплификации нуклеиновых кислот ПЦР-РВ.

В ходе первой фазы было обследовано пациентов ($n = 77$), средний возраст $57,1 \pm 6,1$ лет, из них 35 (45%) – женщины, 42 (55%) – мужчины. Диагноз пневмонии устанавливался на основании клинических признаков, наличия свежих очагово-инфильтративных изменений в легких на рентгенограмме (данные были взяты из МИС) и лабораторных признаков. Показатели шкалы PORT (Pneumonia Outcomes Research Team) превышали 130 баллов, что свидетельствовало о тяжелом течении заболевания.

Во ходе второй фазы, для оценки результатов лечения пневмонии при эмпирической антибактериальной терапии и целенаправленной, основанной на методах ПЦР-диагностики было обследовано пациентов ($n = 29$) с пневмонией, средний возраст $62,9 \pm 15,0$ лет, из них 10 (34,5%) – женщины, 19 (65,5%) – мужчины, которые были разделены на две группы. В первой группе ($n = 19$) выделение возбудителей осуществляли культуральным методом (культивирование микроорганизмов, их идентификация, определение чувствительности к антибактериальным препаратам), и при этом соответственно пациенты получали эмпирическую антибактериальную терапию. Во второй группе ($n = 10$) для идентификации возбудителей и определение резистентности выделенных патогенов к антибактериальным препаратам использовали метод ПЦР-диагностики на автоматизированной, аналитической системе быстрой молекулярной диагностики, назначение антибактериальных препаратов осуществлялось на основе полученных результатов. В используемой автоматизированной системе используется технология мультиплексной ПЦР-РВ, для выявления широкого спектра патогенов и маркеров резистентности к антибактериальным препаратам, результат исследования получали через 4-6 часов. По полу, возрасту, сопутствующим заболеваниям группы не различались.

При изучении эффективности иммунохимических методов клинической лабораторной диагностики, для раннего выявления сепсиса, ССВР и тяжелого

инфекционного процесса изучались следующие биоаркеры: прокальцитонин (PCT), С-реактивный белок (CRP), пресепсин (PSEP), проадреномедуллин (MR-proADM). Всего на данном этапе было обследовано 395 пациентов. Для исследования использовались образцы биологического материала сыворотки/плазмы крови.

Для оценки биомаркера прокальцитонин (PCT), как маркера риска развития бактериальных инфекционных осложнений, у пациентов с острым коронарным синдромом были отобраны данные 154 пациента, поступивших в ОРИТ ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой» с ОКС без признаков бактериальной инфекции. При поступлении помимо стандартного обследования, всем пациентам измерялся уровень PCT. Дополнительно к общим критериям включения (невключения) в исследование (приведенным в разделе 2.1) критерием отбора в анализируемую выборку был уровень PCT < 10,0 нг/мл. Далее все пациенты были ретроспективно разделены на две группы в зависимости от наличия инфекционного процесса /отсутствия инфекционного процесса в ходе дальнейшего наблюдения. Пациенты, у которых были отмечены клинические и лабораторные признаки ССВР, а именно повышение температуры тела, тахикардия, тахипное, лейкоцитоз, повышение биохимических маркеров, а также была микробиологически (использование микробиологических методов лабораторной диагностики) или клинически доказанная инфекция, были определены в группу с клиникой инфекционного процесса (n = 62), остальные пациенты были распределены в группу без признаков инфекционного процесса (n = 92). Характеристика пациентов, поступивших в ОРИТ с острым коронарным синдромом (ОКС) без признаков бактериальной инфекции госпитализированных в ОРИТ по стратифицированным группам представлена в Таблице 6.

Характеристика пациентов, поступивших в ОРИТ с острым коронарным синдромом без признаков бактериальной инфекции

Характеристика	С подтвержденной клиникой инфекционного процесса (<i>n</i> = 62)	Без клиники инфекционного процесса (<i>n</i> = 92)
Демография		
Возраст (лет)	73,1±14,5	68,6±13,9
Пол, <i>n</i> (%)		
Мужской	34 (55%)	61 (66%)
Женский	28 (45%)	31 (34%)
Сопутствующие заболевания, <i>n</i> (%)		
Патология легких	14 (23%)	21 (23%)
Метаболические расстройства	25 (40%)	35 (38%)
Злокачественные новообразования	11 (18%)	16 (17%)
Хирургическая патология	12 (19%)	20 (22%)
Жизненные показатели		
Температура при поступлении (°C)	37,7±1.2	37,8±1.1

Для оценки проведения антибиотикотерапии под руководством РСТ у тяжелобольных пациентов с сепсисом, использовали данные пациентов, находящихся в отделении ОРИТ с любым типом системной инфекции, которым назначались антибиотики. В исследуемую группу были включены пациенты, получающие антибактериальную терапию по схеме с учетом динамики концентрации прокальцитонина. Контрольную группу составили пациенты, которым АБТ назначалась по схеме, установленной текущим стандартом

медицинской помощи. Характеристика пациентов по стратифицированным группам представлена в Таблице 7.

Таблица 7.

Характеристика пациентов, находящихся в отделении ОРИТ с любым типом системной инфекции, которым назначались антибиотики

Характеристика	Контрольная группа (n = 51)	Исследуемая группа (PCT) (n = 63)
Демография		
Возраст (лет)	67,9±17,8	68,2 ± 15.0
Пол, n (%)		
Мужской	31 (61,5%)	36 (57,1%)
Женский	20 (38,5%)	27 (42,9%)
Сопутствующие заболевания, n (%)		
Дыхательная система	22 (43%)	26(41%)
Мочевыделительная система	3 (6%)	4 (6%)
Органы брюшной полости	4 (8%)	6 (10%)
Центральная нервная система	7 (14%)	8 (13%)
Другие системы	5 (10%)	7 (11%)
Инфекции кровотока	10 (19%)	12 (19%)
Жизненные показатели		
Температура (°C)	37,7±1.2	37,8 ± 1,1
Оценка сепсиса		
Установлен в ИБ диагноз «сепсис»	22 (43%)	26 (41%)
Оценка gSOFA(баллы)	0,94±0,54	1,05 ± 0,58
Нежелательный исходы	0	0

Дополнительно, всем пациентам, включенным в исследование, проводились измерения показателей концентрации PSEP в крови: 1-е сутки поступления

пациента в ОРИТ (0-24 часа), на 2-е сутки (48 часов), 5-е сутки (120 часов). Для оценки общего состояния здоровья пациента, как отмечено ранее, в качестве рутинных лабораторных тестов периферической крови были выделены: общий анализ крови (с подсчетом нейтрофилов и тромбоцитов), биохимический анализ крови с определением показателей лактат, креатинин, сывороточный билирубин. По необходимости проводились исследования на гемокультуру, в зависимости от проявлений клинической симптоматики, проводились микробиологические лабораторные исследования различных биологических жидкостей. Все исследования проводилось согласно стандартным протоколам.

В исследовании диагностических и прогностических характеристик наиболее информативных биомаркеров для раннего выявления сепсиса, ССВР и прогнозирования течения патологического процесса, неблагоприятного исхода и своевременной коррекции лечения было изучено 952 образца биоматериала от 127 пациентов, которые были госпитализированы в реанимационные отделения стационара с подозрением на сепсис или тяжелые инфекции.

Всех включенных в исследование пациентов наблюдали в динамике. Помимо стандартного лабораторно-инструментального обследования больным несколько раз проводили измерение уровня PCT, MR-proADM, PRES и CRP: при поступлении в ОРИТ, в 1-й день (0-24 часа) 48 часов и на 5-е сутки (через 120 часов). В качестве рутинных лабораторных маркеров септических состояний и органной дисфункции были выбраны лактат, креатинин, сывороточный билирубин, количество лейкоцитов, нейтрофилов и тромбоцитов. Также (по возможности) проводилось микробиологическое исследование крови на гемокультуру и, в зависимости от клинической симптоматики, микробиологические исследования других биологических жидкостей. Для обеспечения возможности проведения дополнительных лабораторных исследований по необходимости, образцы сыворотки/плазмы крови пациентов были аликвотированы и заморожены при $-20^{\circ}/-80^{\circ}\text{C}$.

Для оценки диагностических характеристик биомаркеров для ранней и дифференциальной диагностики септических состояний было сформировано 4 группы пациентов: без подтвержденного диагноза сепсис, с диагнозом сепсис ($SOFA \leq 2$), 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. Попарно сравниваемые группы были статистически однородными. Данные пациентов в исследуемых группах сравнения представлены в Таблице 8.

Таблица 8.

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, °С	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 реанимационных отделений. В соответствии с исходом лечения и данными о госпитальной летальности (до 28 дней) были сформированы две группы: в первую группу вошли пациенты с благоприятным исходом (n = 68), во вторую – пациенты с неблагоприятным исходом (n = 59). Данные пациентов в исследуемых группах сравнения представлены в Таблице 9.

Таблица 9.

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%)
Сопутствующие заболевания, n (%)		
Патология легких	15 (25%)	16 (24%)
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

2.3. Общая характеристика клинического материала

Все клинико-лабораторные исследования биологического материала, использованные в данной работе, выполнялись в структурных подразделениях лабораторной службы ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой» в период с 2012 по 2019 гг. Результаты зафиксированы в медицинской документации. Микробиологические исследования выполнялись в соответствии с общепринятыми правилами отбора, хранения, транспортировки и работы с микробиологическими образцами.

Необходимое дополнительное лабораторное тестирование проводилось на остаточных количествах клинических образцов биологического материала, подлежащих утилизации. Виды биологического материала, используемого в данной работе, представлены в Таблице 10.

Таблица 10.

Виды биологического материала

Вид биоматериала	Используемые системы взятия биоматериала	Методы пробоподготовки
Сыворотка крови	Пробирки VACUETTE Griener Bio с активатором свертывания и разделительным гелем (Greiner bio-one, Австрия)	Центрифугирование при 3000g в течение 10 минут
Плазма (ЭДТА)	Пробирки VACUETTE Griener	

Цельная кровь (ЭДТА)	Bio с ЭДТА К3 (Greiner bio-one, Австрия)	Не требуется
Кровь для гемокультивирования	<p>Флаконы для анализатора BD BACTEC 9050 (Becton Dickinson and Company, США) с питательными средами для диагностики аэробных (BD BACTEC Plus Aerobic/F), анаэробных (BD BACTEC Plus Anaerobic/F) микроорганизмов, грибов (BD BACTEC Mycosis-IC/F), содержащие специальные добавки, нейтрализующие антибиотики. Объем исследуемой крови составляет 8-10 мл для взрослых и 1-3 мл для детей.</p>	Не требуется
Ликвор	<p>Взятие ликвора проводилось в асептических условиях по стандартной процедуре в стерильные центрифужные пробирки для биоматериала (Artasa, Италия) объемом 10 мл.</p>	<p>Образцы для посева обрабатывали согласно алгоритмам, принятым в ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой». Выделение нуклеиновых кислот из биоматериала проводилось с применением комплекта реагентов для экстракции РНК/ДНК из клинического материала «АмплиПрайм РИБО-преп», ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора.</p>

Отделяемое дыхательных путей (мокрота, БАЛ)	Взятие проводилось по стандартной процедуре, принятой в клинике. Для транспортировки использовали стерильные контейнеры для биоматериала (Hem Ltd., Россия) объемом 60 мл.	
---	--	--

Для проведения дополнительных лабораторных исследований, необходимых для выполнения данной работы, образцы крови пациентов, поступивших в реанимационные отделения и не имеющих критериев исключения, были подготовлены на хранение в морозильные камеры при температуре -80°C . Пробоподготовка крови включала: центрифугирование и дальнейшее аликвотирование сыворотки или плазмы крови. В соответствии с Национальным стандартом РФ ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа», необходимо выполнить центрифугирование крови не позднее, чем через 1 ч после забора. Затем аликвотированный биоматериал помещается на хранение в морозильные камеры при температуре при -20°C и -80°C . Правильность процедур по подготовке и условию хранения биообразцов имеет большое значение, для обеспечения качества проводимых исследований. Позднее размороженные для исследования образцы, были повторно заморожены для формирования архива. Для

исследования показателей концентрации биомаркеров, повторно замороженные образцы не применялись. После формирования групп пациентов для исследования, аликвоты биоматериала перед тестированием размораживали, центрифугировали при 3000 g в течение 10 минут. Пробы, содержащие фибриновые нити или другие нерастворимые частицы центрифугировали повторно.

2.4. Методы проведения лабораторных исследований

Микробиологические методы лабораторного исследования

В нашем исследовании выделение микроорганизмов проводилось в соответствии со стандартными методиками. Для выделения чистой культуры организмов, 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. Основные питательные среды, которые были использованы в данном исследовании, представлены в Таблице 11.

Основные питательные среды, использованные в исследовании

Назначение питательной среды	Название	Производитель
Общего назначения	Агар MRS, Агар колумбийский, Агар / Бульон Шадлера, и др.	Laboratorios Conda, S.A. (Испания)
Дифференциально-диагностические	Солевой агар с маннитом (МСА, MSA), Агар Симмонса с цитратом, Бульон селенит-цистиновый, Агар трехсахарный с железом, Агар Сальмонелла-Шигелла, Агар МакКонки, Агар Сабуро с декстрозой и хлорамфениколом,	Laboratorios Conda, S.A. (Испания) ООО «ЦФГС», Hem Ltd. (Россия)
	Питательная среда для идентификации коринебактерий по тесту расщепления и др.	ФГУП «НПО МИКРОГЕН» (Россия)
Хромогенные	Агар хромогенный для кандид,	Laboratorios Conda, S.A. (Испания)
	Двухкомпонентный CHROMagar™ Сальмонелла, CHROMagar™ Ориентейшн	Becton Dickinson and Company (США)
	Агар Мюллера-Хинтона для проведения диско-диффузионного теста	ООО «ЦФГС», Hem Ltd. (Россия)

Для внутреннего контроля качества питательных сред были использованы контрольные штаммы микроорганизмов, которые применяются для оценки микробиологических исследований и характеристик питательных сред при

стандартизации исследований. Список контрольных штаммов микроорганизмов, применяемых в данном исследовании приведен в таблице Таблица 12.

Таблица 12.

Список контрольных штаммов микроорганизмов для внутрилабораторного контроля качества

№ п/п	Наименование микроорганизма	№ штамма	№ п/п	Наименование микроорганизма	№ штамма
1	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC6303	9	<i>Shigella flexneri 1a</i>	8516
2	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228	10	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC29212
3	<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC14028	11	<i>Shigella Sonnei</i>	S-form
4	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25923	12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853
5	<i>Bacillus cereus</i>	ATCC10876	13	<i>Salmonella typhi</i>	H-901
6	<i>E coli</i>	ATCC25922	14	<i>Corynebacterium diphtheriae gravis tox</i>	665
7	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC19433	15	<i>Corynebacterium ulcerans</i>	675
8	<i>E coli</i>	3912/41			

Далее 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 венепункции 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 [77]. В анализаторе BD BACTEC 9050 в процессе инкубации, автоматически проводилось оптическое считывание состояния индикатора роста, после чего прибором подается сигнал. После регистрации микробного роста из гемокультуры, для выделения чистой культуры возбудителя классическими микробиологическими методиками, производился высев на плотные питательные среды. После посева биологического материала на питательные среды, проводилась инкубация в термостате при температуре 37°C в течение 24-48 ч. Для идентификации микроорганизмов и определения чувствительности к антибактериальным препаратам методом серийных разведений использовали анализатор автоматический бактериологический WalkAway 96 plus (Beckman Coulter, США). Для определения антибиотикочувствительности диско - диффузионным методом применяли диски со стандартными концентрациями антибиотиков следующих производителей: ЭРБА Лахема (Чехия), Bioanalyse Company (Турция), ФБУН НИИ Эпидемиологии и микробиологии им. Пастера (Россия). Панели антибиотиков для конкретных микроорганизмов соответствовали рекомендациям Межрегиональной ассоциации по клинической

микробиологии и антимикробной химиотерапии «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (429).

Молекулярно-генетические методы лабораторных исследований

Для проведения полимеразной цепной реакции (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 с уникальной технологией закрытого цикла (UNYVERO System, фирмы «Curetis GmbH», Германия).

При проведении мультиплексной полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени (ПЦР-РВ) в амплификаторе Rotor-Gene Q для каждой группы генов был использован специализированный набор реагентов для их выявления. Для этого были использованы наборы реагентов «СЕПТОСКРИН» производство НПФ «Литех» (Россия) и реагенты «АмплиСенс» производства ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора (Россия). Отметим, что исследования с помощью комплектов реагентов «АмплиСенс» кроме необходимых генов выявляют также ДНК основных Грам (-) возбудителей гнойно-септических инфекций. Для выявления в образцах крови ДНК грибов рода *Candida* использовали набор реагентов «АмплиСенс Флороценоз/Кандиды-FL».

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 наборы реагентов «СЕПТОСКРИН».

При выявлении в биологическом материале ДНК грибов рода *Candida* (*C.albicans*, *C.glabrata*, *C.krusei*, *C.parapsilosis* и *C.tropicalis*) использовали набор реагентов «АмплиСенс Флороценоз/Кандиды-FL».

ДНК *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* и *Streptococcus pneumoniae* в клиническом материале выявляли при помощи реагентов «АмплиСенс N.meningitidis/H.influenzae/S.pneumoniae-FL».

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».

Для выявления генов металло- β -лактамаз групп VIM, IMP и NDM применяли реагенты из набора «АмплиСенс MDR MBL-FL», а для выявления генов карбапенемаз групп KPC и OXA-48-подобных – «АмплиСенс MDR KPC/OXA-48-FL».

Все исследования ДНК проводились с использованием прозрачных пробирок для ПЦР объемом 0,2 мл с плоской крышкой с детекция через дно пробирки и/или объемом 0,1 мл. Анализ результатов выполняется отдельно (последовательно) для каждого канала флуоресцентной детекции, в соответствии с инструкцией к набору реагентов.

Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот с оптическим модулем iQ5 Optical Module был использован для мультиканального измерения концентрации конечного продукта ПЦР-теста в режиме реального времени. Принцип лабораторного метода полимеразная цепная реакция в реальном времени основан на измерении флуоресцентного сигнала в каждом цикле амплификации. Измерение концентрации продуктов ПЦР осуществляется введением в реакцию флуоресцирующих реактивов, регистрирующих увеличение количества ДНК пропорционального увеличению флуоресцентного сигнала. Причем в процессе амплификации определяются количество специфической ДНК в исследуемом образце биологического материала. Необходимо отметить, что все

этапы пробоподготовки проводились в ламинарных боксах биологической безопасности для предотвращения возможности контаминации исследуемых проб биоматериала.

Для идентификации возбудителей пневмонии и их генетической устойчивости к антибактериальным препаратам была использована система UNYVERO, разработанная и запатентованная фирмой «Curetis GmbH» (Германия). Автоматическая система UNYVERO представляет собой полный комплект оборудования и набор реагентов для определения возбудителей госпитальной пневмонии (Hospitalized Pneumonia/HPN). Система UNYVERO включает в себя модуль для лизирования образцов, сам анализатор, управляющую рабочую станцию, а также все необходимые для проведения исследования расходные материалы (пробирки для лизирования образцов, одноразовые шприцы с наконечниками для переноса биологического материала, картриджи с набором реагентов).

Чистоту и надежность результата анализа гарантирует полная интеграция всех тестовых процессов в закрытый одноразовый картридж, который уже содержит все необходимые реагенты (кроме биоматериала пациента). Все этапы молекулярного тестирования (пробоподготовка, экстракция и очистка ДНК, проведение ПЦР-диагностики, амплификация и выявление возбудителей пневмонии) в анализаторе выполняются автоматически внутри автономного картриджа. Биологическим материалом для исследования служат мокрота, бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ), аспират бронхов.

Принцип работы системы UNYVERO позволяет в течение 4-х часов выполнить все этапы полного тестирования, обнаруживать сразу несколько аналитов и выявить 17 потенциальных возбудителей пневмонии. Возбудители пневмонии, определяемые на автоматической системе UNYVERO представлены в Таблице 13, при этом патогены определяются системой в клинически-значимой концентрации (от 10^4 микроорганизмов/мл).

Возбудители пневмонии, определяемые на автоматической системе UNYVERO

Группа	Возбудители пневмонии
Грам (+) микроорганизмы	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>
Неферментирующие бактерии	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Legionella pneumophila</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
Энтеробактерии	<i>Enterobacter sp.</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Proteus sp.</i> , <i>Serratia marcescens</i>
Прочие микроорганизмы	<i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> , <i>Pneumocystis jirovecii</i> ,
Генетические маркеры резистентности к антибактериальным препаратам перечисленных возбудителей	<i>mecA</i> , <i>mrsA</i> , <i>ermA</i> , <i>ermC</i> , <i>mefA</i> , <i>ermB</i> , TEM, SHV, CTX-M, DHA, EBC, KPC, OXA-51, INT-1, SUL-1

Автоматическая система UNYVERO позволяет интерпретировать полученные результаты исследования с полуколичественной оценкой результата, а именно, обнаружение скудного, умеренного, обильного количества микроорганизмов.

В исследовании на автоматической системе UNYVERO мы использовали автономный одноразовый HPN-картридж (Hospitalized Pneumonia Cartridge) оснащенный предварительно заполненными буферами для очистки ДНК, реагентами и флуоресцентно-мечеными праймерами для проведения ПЦР-амплификации, и соответственно, последующей гибридизации ПЦР-продукта. На

первом этапе происходит изоляция и очищение ДНК, выделенное из помещенного в картридж биоматериала. Запатентованная технология подготовки образцов UNYVERO использует комбинацию различных химических веществ, механическую активацию и термический лизис. Это позволяет использовать один протокол для выделения нуклеиновых кислот из разных типов биоматериала. Далее следует этап мультиплексной ПЦР амплификации. Детекция ДНК, основанная на оптическом считывании флуоресцентно меченых ампликонов ДНК, происходит с чипа низкой плотности, и оптимизирована для времени гибридизации продуктов реакции в течение нескольких минут. Все этапы молекулярного тестирования выполняются автоматически без ручного взаимодействия.

Использование автономных картриджей системы UNYVERO минимизирует риски контаминации образцов биологического материалов и предотвращает любые возможности разлива биологических жидкостей или реагентов в лаборатории. В целях внутреннего контроля качества, проводимого ПЦР-теста в каждый картридж предустановлен синтетический ген, без какой-либо гомологии с уже известными последовательностями, который обрабатывается вместе с образцом биоматериала пациента. Одноразовые картриджи утилизируются согласно стандартным протоколам / стандартным операционным процедурам утилизации отходов в клиничко – диагностических лабораториях.

Исследование проб биологического материала по времени выполнения исследования от взятия исследуемого образца до получения конечного результата исследования в среднем составляло от 4 до 6 часов, что в 6-8 раз меньше, чем при классических микробиологических методах лабораторной диагностики.

Иммунохимические методы лабораторных исследований

Метод иммунохимического анализа основан на специфической особенности антител образовывать прочные соединения с определенными антигенами. Реакция «антиген – антитело» проходит в строго количественном соотношении, и, при внесении метки на один из исходных компонентов, легко детектируется современными лабораторными приборами.

В рамках данного исследования для количественного измерения, определяемых биомаркеров в сыворотке и плазме крови, были использованы современные, автоматические, высокочувствительные иммунохимические анализаторы, известных производителей.

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 7проадреномедуллин (MR-proADM), измеряли на анализаторе BRAHMS Kryptor Compact Plus (Thermo Fisher Scientific, США). Для всех измерений использовали тест-системы производителей.

Определение уровней CRP в сыворотке крови выполнялось на иммунохимическом анализаторе Immulite 2000XPi и нефелометре BN ProSpec. При измерении количества высокочувствительного CRP на анализаторе Immulite 2000XPi используется твердофазный хемилюминесцентный иммуноферментный анализ (сэндвич). Для проведения одного теста необходимо 5 мкл сыворотки/плазмы крови, обработанной гепарином или ЭДТА. Для определения белков плазмы был использован специализированный нефелометр BN ProSpec, в котором использован принцип светорассеяния, определяемого под углом 90 к источнику.

Измерение PSEP выполняли на иммунохемилюминесцентном анализаторе PATHFAST, который представляет собой прибор для количественного определения различных аналитов *in vitro* в цельной крови, гепаринизированной

плазме, сыворотке или других биологических пробах по протоколу заданным конкретным выполняемым исследованием. Данный анализатор представляет собой полностью автоматизированный прибор, сочетающий технологии иммунохемилюминесценции и технологию магнитной сепарации Magtration.

Концентрацию PCT и MR-proADM измеряли на автоматическом иммунном анализаторе BRAHMS Kryptor Compact Plus. Определение концентрации биомаркеров в этом приборе отличается высокой точностью и достоверностью, благодаря использованию уникальной технологии TRACE (Time Resolved Amplified Cryptate Emission) при которой сигнал, следующий непосредственно от иммунокомплекса фиксируется с определенной и точной задержкой во времени.

В основу высокочувствительного и специфичного метода TRACE (Time Resolved Amplified Cryptate Emission) заложена безызлучательная передача энергии от клеткообразной структуры (донора) с ионом европия в центре (криптан) к акцептору, который является частью химически модифицированного, светособирающего протеина (XL 665). Близость донора или, так называемого криптата и акцептора (XL 665), когда они являются частью иммунокомплекса, и перекрывание спектра излучения донора и спектра абсорбции акцептора, с одной стороны, усиливают флуоресцентный сигнал криптата, а с другой стороны, увеличивают время существования сигнала акцептора, позволяя измерить флуоресценцию с точной задержкой во времени. После активации образца при помощи азотного лазера (337 нм), донор (криптан) излучает определенный миллисекундный сигнал (большой), частота 620 нм, тогда как акцептор (XL 665) формирует сигнал малый, диапазон частоты 665 нм. При соединении этих компонентов из двух в один образующийся иммунокомплекс усиление сигнала и увеличение долговечности сигнала акцептора происходит на частоте 665 нм и может быть определено в микросекундах. Неспецифичные сигналы, например, сигналы краткосрочного и несвязанного акцептора XL 665 и сигналы со средней специфичной интерференцией в зависимости от естественной флуоресценции

пробы, исключаются путем временной задержки флуоресцентного измерения. Сигнал, формируемый криплатом (частота 620 нм), является опорным значением и измеряется вместе с сигналом акцептора большой продолжительности (частота 665 нм). Это и служит основным специфичным сигналом.

Технологии TRACE™ позволяют отслеживать и проводить измерения в гомогенной фазе, что обеспечивает исключительно точные измерения. Методика гомогенного анализа исключает этапы промывки и разделения. Прибор фиксирует и проводит прямые измерения величины сигнала, формирующегося в процессе биохимической реакции формирования иммунного комплекса. Те воздействия, которые могут создать трудности, такие как мутная/хилезная сыворотка и др. в автоматическом режиме подвергаются коррекции с помощью специального, рассчитанного внутренними средствами соотношения значений интенсивности на определенных длинах волны. Короткое время инкубации обеспечивает точный результат теста через 20 минут.

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.

2.5. Методы определения лабораторных показателей для проведенных исследований

Общий /клинический анализ крови выполняли на гематологическом автоматическом анализаторе CellDyn Ruby (Abbott, США) с использованием реагентов производителя (Abbott, США). Определяемые в проведенном исследовании параметры и референтные интервалы представлены в Таблице 14. Референтные интервалы приведены в соответствии с методическими рекомендациями «Гематологические анализаторы. Интерпретация анализа крови» (утв. Минздравсоцразвития России 21.03.2007 № 2050-РХ).

Определяемые параметры и референтные интервалы для проведенных исследований

Показатели	Единицы измерения	Референтный интервал			
		Мужчины		Женщины	
Гемоглобин (Hb)	г/л	130	160	120	150
Эритроциты (RBC)	$10^{12}/л$	4,0	5,6	3,7	4,7
Гематокрит (HCT)	%	40	48	36	42
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH)	пг	26	34	26	34
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC)	г/л	300	380	300	380
Средний объем эритроцита (MCV)	фл	80	100	80	100
Лейкоциты (WBC)	$10^9/л$	4,0	8,8	4,0	8,8
Ретикулоциты	‰	2	12	2	12
Тромбоциты (PLT)	$10^9/л$	180	320	180	320
Скорость оседания эритроцитов СОЭ	мм/ч	5	18	6	20
Нейтрофилы	$10^9/л$	2,0	5,9	2,0	5,9
Лимфоциты	$10^9/л$	1,2	3,0	1,2	3,0
Базофилы	$10^9/л$	0	0,065	0	0,065
Эозинофилы	$10^9/л$	0,02	0,30	0,02	0,30
Моноциты	$10^9/л$	0,09	0,6	0,09	0,6
Нейтрофилы	%	48	78	48	78
Лимфоциты	%	19	37	19	37

Базофилы	%	0	1	0	1
Эозинофилы	%	0	5	0	5
Палочкоядерные нейтрофилы	%	1	6	1	6
Сегментоядерные нейтрофилы	%	47	72	47	72
Моноциты	%	3	11	3	11

Все биохимические исследования выполнялись на автоматических анализаторах AU 680 (Beckman Coulter, Германия) и Thermo Konelab Prime 60 (Thermo Fisher Scientific, Финляндия).

Характеристики используемых биохимических и иммунохимических методов определения аналитов с указанием их референтных интервалов приведены в Таблице 15.

Таблица 15.

Характеристики используемых биохимических и иммунохимических методов определения аналитов

№ п/п	Аналит	Метод определения	Наименование реагентов / расходных материалов	Референтный интервал
1.	CRP	Иммунохемилюминесцентный	High Sensitivity GRP	< 1 мг/л
2.		Иммунотурбидиметрический	N Латекс CRP высокочувствительный	
3.	PCT	Иммунолюминометрический (TRACE)	BRAHMS PCT sensitive KRYPTOR K-050	< 0,5 нг/мл
4.	MR-proADM	Иммунолюминометрический (TRACE)	BRAHMS MR-proADM KRYPTOR K-050	< 0,55 нмоль/л
5.	Креатинин	Колориметрический по Яффе	Креатинин (CREATININE), 4×51 мл + 4×51 мл	40-130 мкмоль/л
6.		Колориметрический по Яффе с компенсацией	CREATININE (Jaffé), 6 × 60 мл	

7.	Общий билирубин	Фотометрический в видимом диапазоне по конечной точке	TOTAL BILIRUBIN, 4×40 мл + 4×40 мл	5-21 мкмоль/л
8.			BILIRUBIN TOTAL (NBD), 4 × 60 мл	
9.	PSEP	Хемилюминесцентный иммуноферментный анализ (CLEIA)	PATHFAST™ Presepsin, 60 определений	60-365 пг/мл

Дозировки биомаркеров в сыворотке/плазме крови исследовали при диагностике инфекций (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 формуле: разницу между начальным уровнем концентрации биомаркера (при поступлении) и уровнем концентрации биомаркера при дальнейших измерениях (через 24, 48, 120 часов) делили на значение начального уровня биомаркера (при поступлении), а затем умножали на 100.

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

Результаты представляли в виде среднего \pm стандартное отклонение, медианы с межквартильными диапазонами или пропорциями. Сравнения между категориальными переменными проводились с помощью критерия согласия, а также критерия Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса, критерия Шапиро - Уилка. Сравнение между непрерывными переменными выполнялись при помощи двухсторонних t-тестов Стьюдента или критерия Манна-Уитни U.

Для расчета объема выборки пациентов использовали формулу сравнения количественного показателя в двух равновеликих независимых группах или использовали результаты сравнения клиренсов биомаркеров (Biomarker-c) в

группах с выжившими / не выжившими пациентами, анализируя популяцию пациентов с сепсисом и ССВР.

Референтные интервалы для перечисленных ранее анализов, используемых в исследовании, 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 внутрिलाбораторного (внутреннего) 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).

Для всего дозирующего и измерительного оборудования, используемого в данном исследовании, в плановом порядке проводилось техническое обслуживание и допущено к эксплуатации в клиничко-диагностических лабораториях медицинской организации.

2.6. Методы статистической обработки результатов исследований

Статистический анализ результатов исследований осуществлялся с использованием статистических программ MedCalc, версия 18.9.1 (MedCalc Software, Бельгия) и MS Excel (Microsoft Corporation, США). При обработке данных использовались методы параметрической и непараметрической

статистики, методы описательной статистики и сравнения выборок. Критическое значение уровня значимости принималось равное 5% ($p < 0,05$).

Проверка нормальности распределения количественных признаков была выполнена с помощью критерия согласия, критерия Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса, критерия Шапиро-Уилка.

Проверка гипотез о различии между групповыми средними арифметическими в двух группах выполнялась при помощи двухсторонних *t*-тестов Стьюдента для независимых или зависимых выборок. 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 проводилась при помощи *U*-критерия Манна-Уитни (Mann-Whitney *U*-test) для независимых выборок. При необходимости парных сравнений в пределах одной группы применяли критерий Вилкоксона для зависимых переменных (Wilcoxon Matched Pairs Test).

Описательная статистика непрерывных количественных данных при ненормальном распределении представлена в виде медианы (*Md*) и значений 25% нижнего и 75% верхнего квартилей [*Q*25- *Q*75]. 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. В ходе анализа связь оценивали как сильную или значимую при абсолютном значении коэффициента корреляции $r \geq 0,7$, как имеющую среднюю силу при $0,5 \leq r \leq 0,69$, и как слабую – при $r < 0,3$ (модифицированная шкала Чеддока).

Оценка операционных параметров лабораторных тестов производилась по следующим критериям: диагностическая чувствительность (*Se*), диагностическая специфичность (*Sp*), предсказательная ценность отрицательного и положительного результатов (*-VP / +VP*), диагностическая точность (*Ac*).

Операционные параметры Se, Sp, -VP и +VP рассчитывались по формулам [31], выраженным в %. Критерии оценки диагностической ценности лабораторных тестов представлены в Таблице 16.

Таблица 16.

Критерии оценки диагностической ценности лабораторного теста

Критерий	Болезнь присутствует	Болезнь отсутствует
Положительный результат	a – истинно положительный	b – ложноположительный
Отрицательный результат	c – ложноотрицательный	d – истинно отрицательный
Клиническая чувствительность (Se)	$\frac{a}{(a + c)} =$	доля истинно положительных результатов в группе больных
Клиническая специфичность (Sp)	$\frac{d}{(b + d)} =$	доля истинно отрицательных результатов в группе здоровых
Предсказательная ценность положительного результата (+VP)	$\frac{a}{(a + b)} =$	доля истинно положительных результатов среди всех положительных результатов
Предсказательная ценность отрицательного результата (-VP)	$\frac{d}{(c + d)} =$	доля истинно отрицательных результатов среди всех отрицательных результатов

Для анализа чувствительности и специфичности, выбора модели с оптимальной прогностической силой и подбора оптимального порога отсечения (Cut-off) применяли характеристические кривые (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 оценки значений площади под ROC-кривой (Area Under Receiver Operating Characteristic, AUROC) использовалась следующая шкала: 0,9-1,0 –

отличная значимость; 0,8-0,9 – очень хорошая; 0,7-0,8 – хорошая; 0,6-0,7 – средняя; 0,5-0,6 – неудовлетворительная [27].

Критерием выбора наиболее адекватного значения исследуемых биомаркеров для эффективного различения стратифицированных групп пациентов, было требование максимальной суммарной чувствительности и специфичности модели [31]:

$$\text{Cut-off} = \max (\text{Se} + \text{Sp})$$

Выборочные параметры, используемые в представленных в исследовании таблицах, имеют следующие обозначения: Me – медиана, CI – доверительный интервал, M – среднее, SD – стандартное (среднеквадратичное) отклонение, m – средняя ошибка среднего арифметического, n – объем анализируемой подгруппы, p – достигнутый уровень значимости, r – величина коэффициента корреляции, 25% и 75% квантили.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ходе работы была проанализирована диагностическая и прогностическая ценность лабораторных методов используемых при оценке неотложных критических состояний, ассоциированных с риском развития ССВР, сепсиса и/или тяжелых инфекционных заболеваний. В общей сложности в период с января 2013 по декабрь 2018 гг. было обследовано $n = 2274$ пациентов, 7428 образцов биоматериала пациентов, поступивших в реанимационные отделения многопрофильного стационара ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой» с подозрением на сепсис и тяжелые инфекции. Для улучшения результатов клинической лабораторной диагностики, проводимого лечения инфекционных осложнений, был разработан и внедрен в работу отделений центра анестезиологии и реаниматологии - алгоритм клинико-лабораторной диагностики сепсиса и ССВО для пациентов ОРИТ, используемый при оценке критических состояний, ассоциированных с риском развития ССВР, сепсиса/тяжелого сепсиса и/или тяжелых инфекционных заболеваний, который состоял из трех последовательных этапов скрининга.

- Микробиологические исследования
- Молекулярно – генетические исследования
- Иммунохимические исследования

3.1. Выявление этиологических инфекционных агентов при помощи микробиологических и молекулярно-генетических лабораторных методов диагностики

Важным этапом проведенного нами исследования, изучение микробного пейзажа ОРИТ и других отделений многопрофильного стационара, в котором проводилось исследование за период 2015-2018 год. Для выявления приоритетных патогенов сепсиса/тяжелого сепсиса и/или тяжелых инфекционных заболеваний, определения частоты их высеваемости и превалентности, нами были проанализированы результаты бактериальных посевов, полученных от пациентов

(n = 1116) с подозрением на сепсис/тяжелый сепсис и/или тяжелых инфекционных заболеваний, поступивших в ОРИТ, за отмеченный период времени. Спектр возбудителей, которые исследовались в лаборатории данной медицинской организации, представлен достаточно широко и включает объемный перечень грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов.

Для эффективного микробиологического мониторинга, в ОРИТ и других отделениях стационара данной медицинской организации, была разработана и предложена для использования в работе стационара схема эпидемиологического наблюдения за инфекциями связанных с оказанием медицинской помощи.

3.1.1. Оценка микробного пейзажа ОРИТ и отделений многопрофильного стационара для выявления приоритетных патогенов сепсиса/тяжелого сепсиса и/или тяжелых инфекционных заболеваний

Микробный пейзаж в медицинской организации, это результат процессов взаимодействия микроорганизмов и макроорганизмов, которые существуют в многопрофильном стационаре, учитывая влияния разнообразных факторов окружающей среды, а именно физических и химических методов дезинфекции, антибиотиков и др. Микроорганизмы приобретают новые свойства, к которым можно отнести не только устойчивость к внешним воздействиям и изменение вирулентности, но и устойчивость к АБП.

Следует особое внимание обратить на спектр микроорганизмов, выделяющихся в ОРИТ многопрофильного стационара, который многообразен, но при этом, имеет особенности в отношении структуры и профиля возбудителей, а также устойчивости к антимикробным препаратам. Для обеспечения правильно и своевременно назначенной рациональной стартовой эмпирической антимикробной терапии, являющейся важным компонентом в лечении, принципиальное значение имеет микробиологический мониторинг возбудителей инфекций в конкретном стационаре.

Был проведен анализ полученных результатов микробиологических исследований образцов различного биологического материала, полученного от пациентов ОРИТ и других отделений многопрофильного стационара, изучена структура возбудителей, их устойчивость к антимикробным препаратам за период 2015-2018 гг. Сравнительная оценка микробного пейзажа проводилась в различных отделениях хирургического (8) и терапевтического (7) профилей и отдельно в ОРИТ. На основании полученных нами данных, был определен микробный пейзаж, всего изучено 11 родов и 21 штамм микроорганизмов, который отмечался микробным разнообразием клинического материала от пациентов. В Таблицах 24 и 25 представлены результаты выявленных основных возбудителей инфекции в ОРИТ и других отделениях многопрофильного стационара, в котором выполнялось исследование. Следует подчеркнуть, что проводилось сравнение полученных нами данных по выявленным патогенам, 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. Проведенный в рамках исследования анализ микробного пейзажа ОРИТ и других отделений стационара 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.

Возбудители инфекций, выявленные за период 2015-2018 гг. в ОРИТ многопрофильного стационара представлены в Таблице 17.

Основные возбудители инфекций в ОРИТ за период 2015-2018 гг. (% от числа положительных посевов)

	По реанимационным отделениям стационара				Всего по России за 2014-2018 гг.
	2015	2016	2017	2018	
Всего количество выделенных штаммов	630	621	640	1234	8639
<i>Escherichia coli</i>	9,2%	8,7%	9,1%	7,6%	13,7%
<i>Enterococcus spp</i>	7,9%	8,2%	8,6%	6,1%	6,3%
<i>Enterococcus faecalis</i>	2,5%	2,4%	2,5%	3,3%	3,9%
<i>Enterococcus faecium</i>	2,4%	2,3%	2,2%	1,8%	2,3%
<i>Staphylococcus spp</i>	14,3%	13,0%	13,6%	12,3%	12,4%
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,5%	4,8%	5,0%	7,2%	10,2%
<i>Staphylococcus aureus (MRSA)</i>	1,2%	0,9%	1,0%	0,8%	2,2%
<i>Pseudomonas spp</i>	9,8%	7,4%	9,7%	16,9%	17,4%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9,2%	7,2%	8,8%	15,0%	17,3%
<i>Klebsiella spp</i>	13,6%	12,1%	17,3%	15,1%	27,9%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12,9%	11,1%	14,8%	13,2%	21,9%
<i>Acinetobacter spp</i>	11,1%	11,0%	11,7%	7,6%	16,3%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	3,5%	3,2%	4,8%	4,3%	15,7%

<i>Proteus spp</i>	5,2%	5,2%	5,8%	2,8%	3,3%
<i>Proteus mirabilis</i>	3,0%	2,6%	3,3%	2,4%	2,7%
<i>Streptococcus spp</i>	1,9%	1,6%	1,7%	1,1%	1,6%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,0%	0,6%	0,8%	0,6%	1,0%
<i>Enterobacter spp</i>	2,1%	2,3%	2,5%	2,1%	2,7%
<i>Candida spp</i>	4,0%	4,8%	6,1%	8,3%	н/д
<i>Candida albicans</i>	3,2%	3,1%	3,8%	5,4%	н/д
<i>Haemophilus spp</i>	0,2%	0,2%	0,2%	0,1%	0,1%
<i>Haemophilus influenzae</i>	0,2%	0,2%	0%	0,1%	0,1%

Согласно полученным в ходе исследования данным, по количеству выделенных штаммов ($n = 3125$), за 2015, 2016, 2017 и 2018 г.г., следует 630; 621; 640; 1234 - соответственно, обращает внимание явное 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%. Отмечено незначительное увеличение выделенных штаммов: грамотрицательных бактерий: *Pseudomonas spp.* с 9,8% до 16,9%; *Pseudomonas aeruginosa* с 9,2% до 15,0%; *Klebsiella spp* с 13,6% до 15,1%, *Klebsiella pneumoniae* с 12,9% до 13,2% и грамположительные бактерии: *Enterococcus faecalis* с 2,5% до 3,3%; *Staphylococcus aureus* с 3,5% до 7,2%, также отмечен незначительный рост *Candida spp.* с 4,0% до 8,3% и *Candida albicans* с 3,2% до 5,4%. Динамика изменения частоты встречаемости

микроорганизмов в ОРИТ, которые изучались в нашем исследовании за анализируемый период 2015-2018 гг., представлены на Рисунке 1.

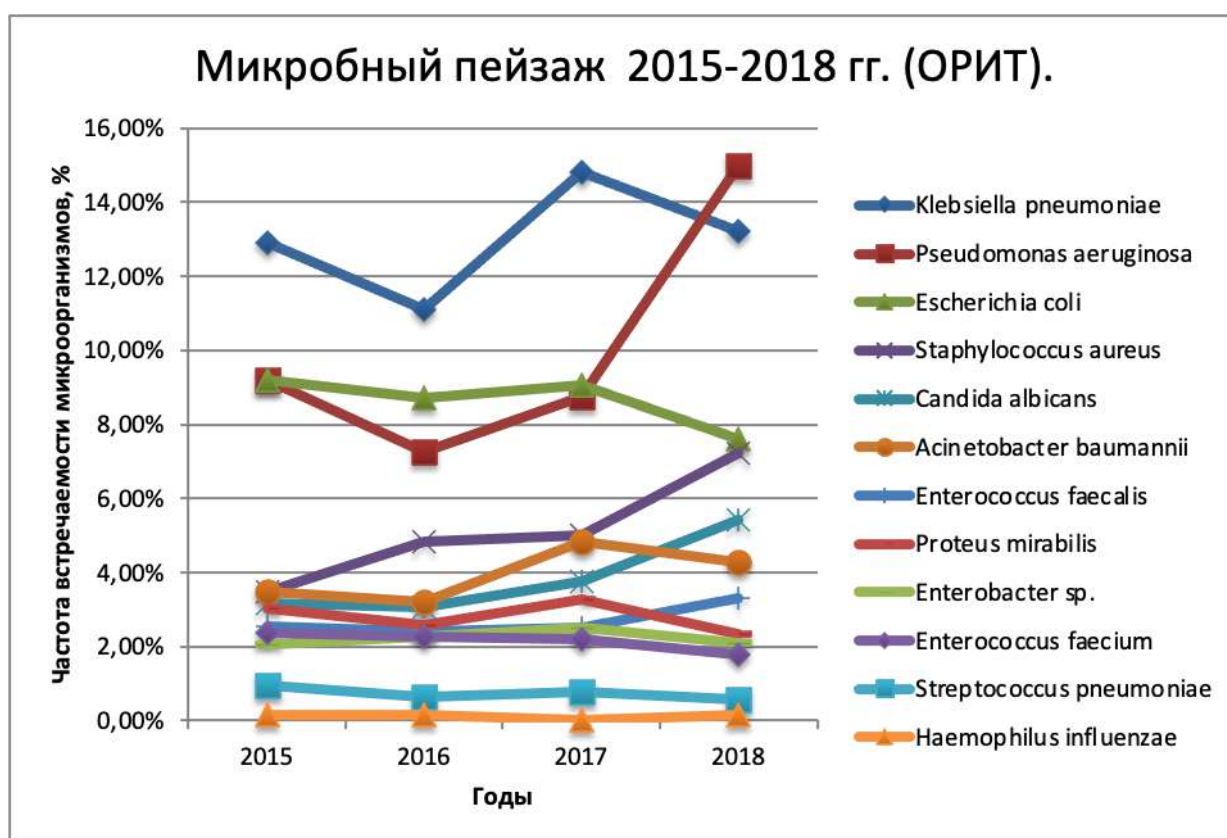


Рисунок 1. Частота встречаемости возбудителей инфекций в ОРИТ за период 2015 – 2018 гг.

При сравнении полученных нами данных по выявленным патогенам с данными представленными Национальной программой мониторинга антибиотикорезистентности НИИ антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО СГМУ Минздрава России, обращает внимание сниженные значения грамотрицательных возбудителей, а именно, *Acinetobacter baumannii*, более чем в три раза результат ниже 4,3% к 15,7%, *Escherichia coli* результат ниже почти в два раза 7,6% к 13,7%, *Klebsiella pneumoniae* ниже почти в два раза 13,2% к 21,9%, *Proteus mirabilis* 2,4% к 2,7%, *Enterobacter spp.* 2,1% к 2,7%, *Haemophilus influenzae* 0,1% к 0,1%, *Pseudomonas aeruginosa* 15,0% к 17,3% и

грамположительных микроорганизмов *Enterococcus faecalis* 3,3% к 3,9%, *Enterococcus faecium* и *Streptococcus pneumoniae* ниже почти в два раза 1,8% к 2,3% и 0,6% к 1,0% соответственно. Несмотря на увеличение процента встречаемости с 2015 по 2018 гг. в ОРИТ, по проведенному анализу *Staphylococcus aureus* 7,2%, полученные значения ниже региональных 10,2%.

Данные о частоте выявленных микроорганизмов по другим отделениям стационара, отображены в Таблице 18, где как ранее, представлены сравнительные данные о частоте встречаемости возбудителей в медицинских организациях регионов по материалам национальной программы.

Таблица 18.

Основные возбудители инфекций по отделениям стационара за период 2015 - 2018 гг. (% от числа положительных посевов)

	Всего по отделениям стационара				Всего по России за 2014-2018 гг.
	2015	2016	2017	2018	
Всего количество выделенных штаммов	2258	2465	3156	5136	13 404
<i>Escherichia coli</i>	12,8%	9,1%	12,1%	15,1%	15,7%
<i>Enterococcus spp</i>	2,1%	3,5%	6,5%	2,9%	5,0%
<i>Enterococcus faecalis</i>	3,6%	4,1%	2,7%	2,5%	3,2%
<i>Enterococcus faecium</i>	0,9%	1,0%	0,8%	1,1%	1,7%
<i>Staphylococcus spp</i>	12,5%	13,0%	11,5%	12,6%	13,3%
<i>Staphylococcus aureus</i>	9,3%	10,1%	8,7%	8,1%	11,8%

<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	1,1%	0,7%	0,9%	0,8%	2,1%
<i>Pseudomonas spp</i>	5,6%	6,5%	5,4%	8,1%	12,6%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,5%	5,2%	4,4%	6,9%	12,6%
<i>Klebsiella spp</i>	17,0%	18,7%	15,0%	13,3%	19,7%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5,7%	6,9%	5,2%	9,1%	16,7%
<i>Acinetobacter spp</i>	2,5%	3,5%	3,9%	2,9%	10,7%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0,8%	1,1%	1,2%	1,4%	10,3%
<i>Proteus spp</i>	3,6%	3,4%	3,4%	3,0%	2,9%
<i>Proteus mirabilis</i>	2,2%	2,1%	2,0%	2,1%	2,2%
<i>Streptococcus spp</i>	5,4%	5,6%	5,0%	6,9%	7,3%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0,8%	0,7%	0,7%	0,8%	3,8%
<i>Enterobacter spp</i>	2,2%	2,1%	2,2%	2,0%	2,6%
<i>Candida spp</i>	2,0%	2,1%	2,3%	3,5%	н/д
<i>Candida albicans</i>	1,6%	1,6%	1,6%	3,7%	н/д
<i>Haemophilus spp</i>	0,7%	0,6%	0,5%	1,2%	1,5%
<i>Haemophilus influenzae</i>	0,4%	0,4%	0,3%	1,0%	1,4%

Согласно данным, полученным при анализе микробного пейзажа в отделениях стационара, наблюдается та же тенденция что и при изучении картины в ОРИТ. По количеству выделенных штаммов ($n = 13015$) в отделениях стационара за 2015, 2016, 2017 и 2018 г.г., следует 2258; 2465; 3156; 5136 - соответственно, обращает внимание явное снижение выделенных штаммов 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%, *Staphylococcus aureus* (MRSA) 1,1% - 0,8% Отмечено незначительное увеличение выделенных штаммов грамотрицательных бактерий: *Escherichia coli* 12,8% - 15,1%, *Pseudomonas spp.* 5,6% - 8,1%, *Pseudomonas aeruginosa* 4,5% - 6,9%, *Klebsiella pneumoniae* 5,7% - 9,1%, *Acinetobacter spp.* 2,5% - 2,9%, *Acinetobacter baumannii* 0,8% - 1,4%, *Haemophilus spp.* 0,7% - 1,2%, *Haemophilus influenzae* 0,4% - 1,0% и грамположительных бактерий: *Enterococcus spp.* 2,1% - 2,9%, *Enterococcus faecium* 0,9% - 1,1%, *Staphylococcus spp.* 12,5% - 12,6%, *Streptococcus spp.* 5,4% - 6,9%, а так же *Candida spp.* 2,0% - 3,5%; и *Candida albicans* 1,6% - 3,7%. На Рисунке 2, представлена динамика изменения частоты встречаемости микроорганизмов в отделениях стационара, которые изучались в нашем исследовании за анализируемый период 2015-2018 гг.

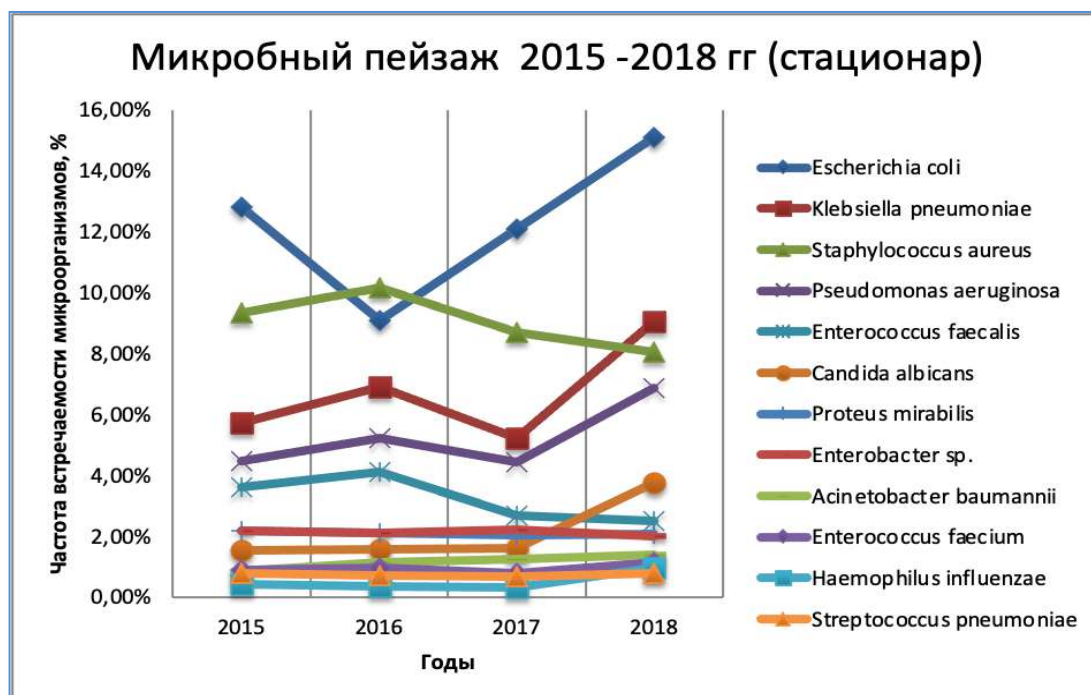


Рисунок 2. Частота встречаемости возбудителей инфекций в стационаре за период 2015 - 2018 гг.

При сравнении полученных данных по выявленным патогенам в отделениях стационара, с данными представленными Национальной программой мониторинга антибиотикорезистентности НИИ антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО СГМУ Минздрава России, обращает внимание сниженные значений

грамотрицательных возбудителей: *Klebsiella spp.* почти в два раза результат ниже 13,3% к 19,7%, *Proteus mirabilis* 2,1% к 2,2%, *Enterobacter spp.* 2,0% к 2,6% и грамположительных бактерий: почти в два раза ниже значение *Enterococcus faecalis* 2,5% к 3,2%, *Staphylococcus aureus* 8,1% к 11,8%, более чем в два раза значение ниже по *Staphylococcus aureus (MRSA)* 0,8% к 2,1% по регионам. Несмотря на увеличение процента встречаемости с 2015 по 2018 гг. в стационаре, по проведенному анализу отмечалось незначительное увеличение в 2018 году грамотрицательных возбудителей: *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*. По проведенному анализу полученные значения значительно ниже региональных, а именно встречаемость *Pseudomonas aeruginosa* и *Klebsiella pneumoniae* ниже региональных почти в два раза 6,9% к 12,6% и 9,1% к 16,7% соответственно. Данные, полученные по другим возбудителям: *Escherichia coli* 15,1% к 15,7%, *Acinetobacter baumannii* ниже почти в десять раз 1,4% - 10,3%, *Haemophilus influenzae* 1,0% к 1,4%. Практически на одном уровне за весь период наблюдения оставался грамположительный *Streptococcus pneumoniae*, что, однако, ниже более чем в три раза 0,8% к 3,8% по отношению к региональным показателям. Анализ изменений микробного пейзажа показывает, что среди изученных выделенных штаммов микроорганизмов, доля грамотрицательной микрофлоры остается стабильной. В отделениях хирургического профиля, по характеристике микробного пейзажа отмечено преобладание грамотрицательной флоры. В терапевтических отделениях был представлен более широкий спектр микроорганизмов, но значительно ниже региональных данных представленных в национальной программе, как для грамположительных, так и для грамотрицательных микроорганизмов.

На наш взгляд, интересным являлась возможность оценки анализа данных микробиологических посевов за 2015 - 2018 гг., по частоте встречаемости микроорганизмов, принадлежащих к группе ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.*) по ОПИТ и другим отделениям

многопрофильного стационара. Данная группа грамположительных и грамотрицательных бактерий, которые служат основной причиной нозокомиальных инфекций, представляющих опасность для жизни тяжелобольных пациентов с ослабленным иммунитетом. Микроорганизмы группы ESKAPE, представляют особую проблему с точки зрения роста резистентности. Были изучены 16140 выделенных штаммов, из них 3125 от пациентов, находящихся на лечении в ОРИТ и 13015 от пациентов из отделений хирургического и терапевтического профилей. Результаты выявленных патогенов, принадлежащих к данной группе по ОРИТ и другим отделениям стационара данной медицинской организации представлены в Таблице 19.

Таблица 19.

Динамика встречаемости выделенных микроорганизмов, принадлежащих к группе ESKAPE в ОРИТ и по стационару за период 2015 - 2018 г.г. (% от числа положительных посевов)

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 отделении реанимации и интенсивной терапии в 2015-2018 годы, доминирующими были отмечены грамотрицательные неферментирующие бактерии: *Pseudomonas aeruginosa* (9,2; 7,2; 8,8; 15,0)

принадлежащие к семейству *Pseudomonadaceae* и *Klebsiella pneumoniae* (12,9; 11,1; 14,8; 13,2) семейства *Enterobacteriaceae*, также грамположительные *Staphylococcus aureus* (3,5; 4,8; 5,0; 7,2) - семейство *Micrococcaceae*. На Рисунке 3, представлена динамика встречаемости выделенных микроорганизмов, принадлежащих к группе ESKAPE в ОРИТ за период 2015 - 2018 г.г. (% от числа положительных посевов).

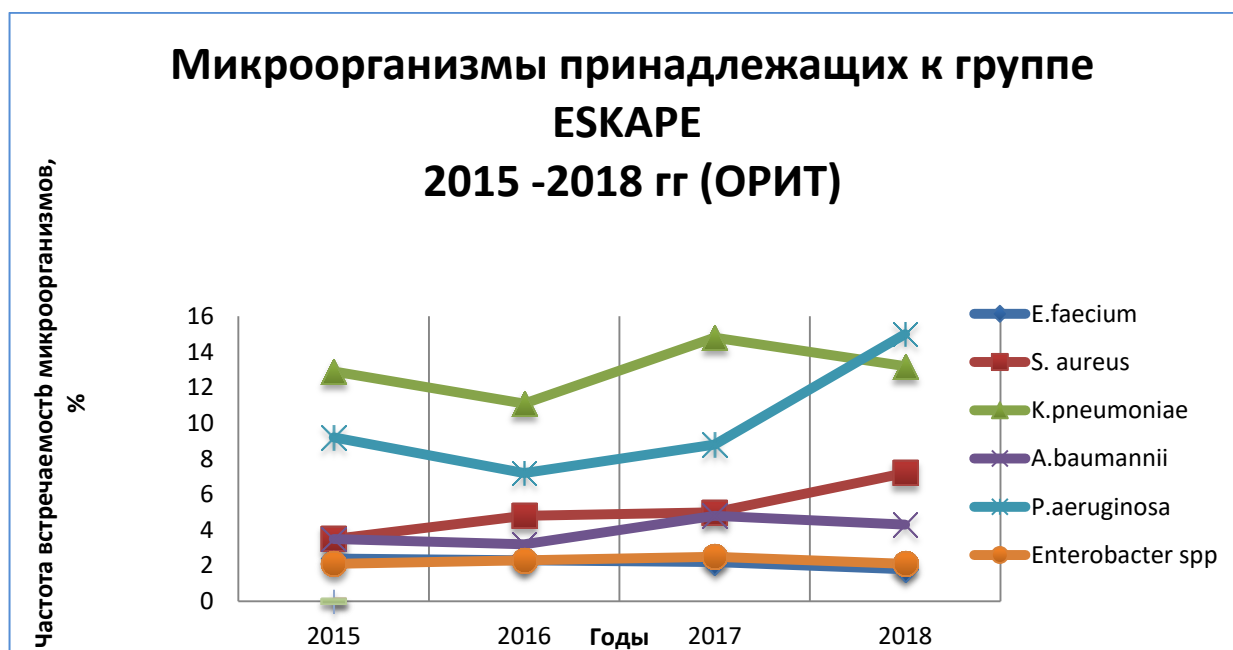


Рисунок 3 Динамика встречаемости выделенных микроорганизмов, принадлежащих к группе ESKAPE в ОРИТ за период 2015 - 2018 гг.

На диаграммах микробного пейзажа ОРИТ за период 2015-2018 гг., мы наблюдали явное снижение грамположительных патогенов *E. faecium* 2,4; 2,3; 2,2; 1,8 и грамотрицательных *Enterobacter spp* 2,1; 2,3; 2,5; 2,1 - соответственно. На диаграммах нами отмечено несущественное увеличение таких патогенов как, *S. Aureus* 3,5; 4,8; 5,0; 7,2 - соответственно, *K.pneumoniae* 12,9;11,1;14,8;13,2, *A.baumannii* 3,5; 3,2; 4,8; 4,3 и *P.aeruginosa* 9,2; 7,2; 8,8; 15,0 – соответственно, при этом все отмеченные нами значения, не превышают средних по ОРИТ в медицинских организациях регионов, а именно *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%.

По микробному пейзажу других отделений стационара данной медицинской организации, ведущие позиции к 2018 году, также, как и в ОРИТ принадлежат грамотрицательным бактериям *Klebsiella pneumoniae* (9,1%) и *Pseudomonas aeruginosa* (6,9%), грамположительным *Staphylococcus aureus* (8,1%). На Рисунке 4, представлена динамика встречаемости выделенных микроорганизмов, принадлежащих к группе ESKAPE по стационару за период 2015 - 2018 гг. (% от числа положительных посевов).

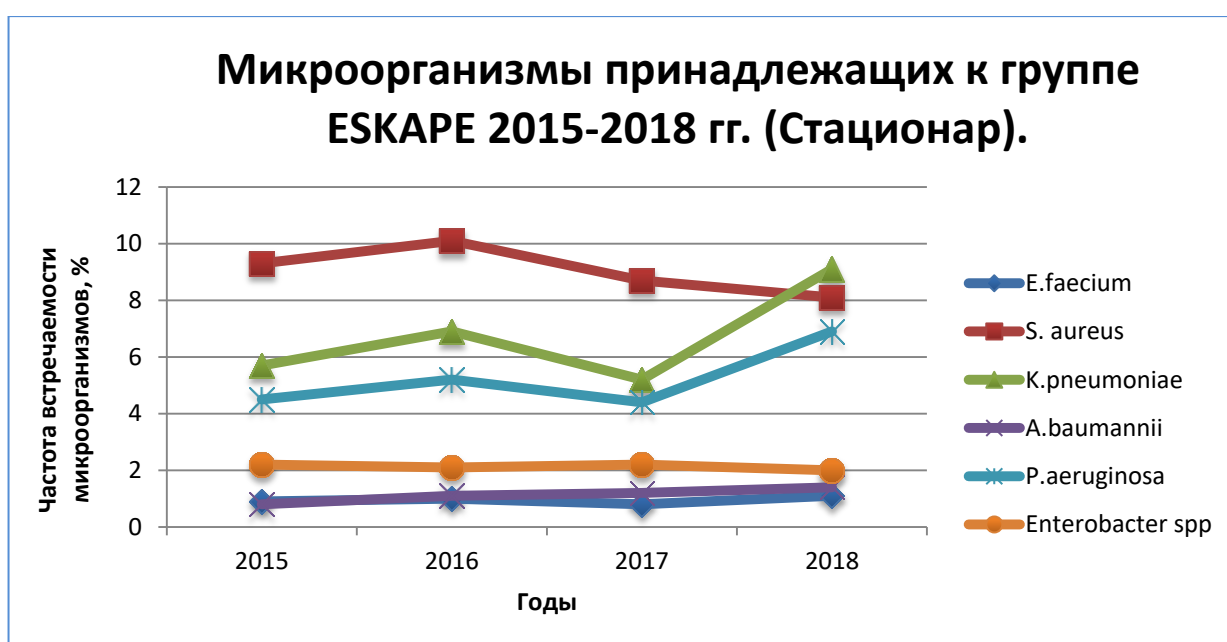


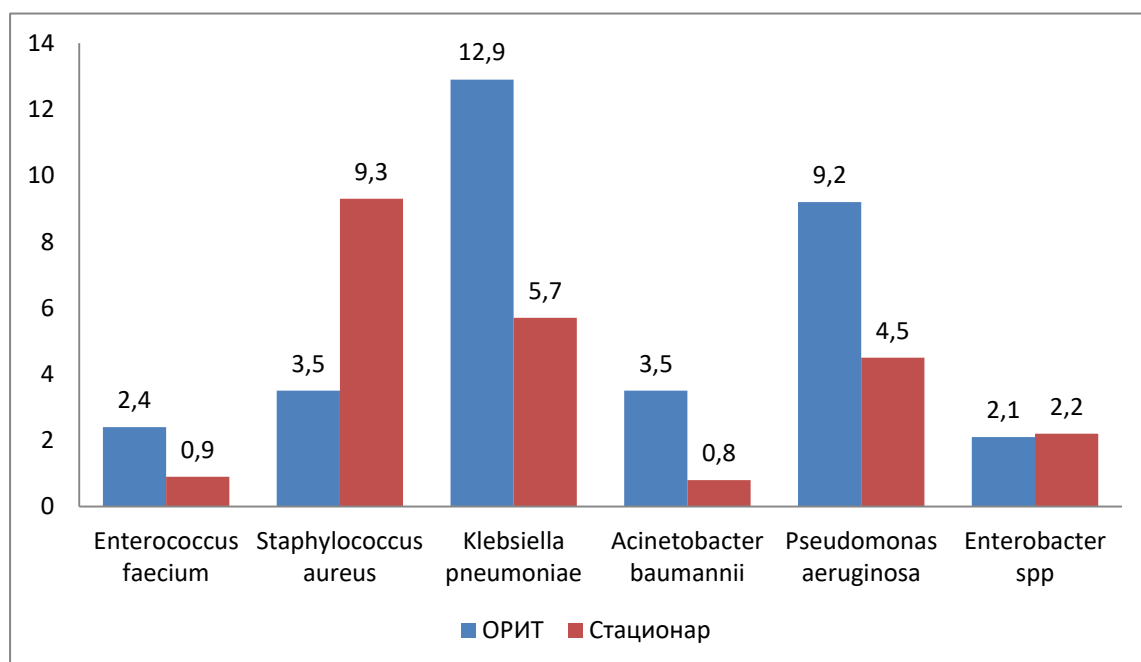
Рисунок 4. Динамика встречаемости выделенных микроорганизмов, принадлежащих к группе ESKAPE в стационаре за период 2015 - 2018 гг.

На диаграммах микробного пейзажа отделений стационара 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. Обращает внимание несущественное увеличение таких возбудителей как *E. faecium* 0,9; 1,0; 0,8; 1,1, *K. pneumoniae* 5,7; 6,9; 5,2; 9,1, *A. baumannii* 0,8; 1,1; 1,2; 1,4, *P.aeruginosa* 4,5; 5,2; 4,4; 6,9 – соответственно. Все полученные значения по стационару где проводилось исследование, значительно ниже, чем средние в медицинских организациях по материалам национальной

программы, а именно грамположительные бактерии *S. aureus* отмечено 8,1, а по региональным медицинским организациям 11,8, *E.faecium* 1,1 и 1,7 – соответственно и грамотрицательные *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, как правило, 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%, цiproфлоксацину 95,6% и гентамицину 62,0%, у *S. aureus* отмечена резистентность к эритромицину 18,5%, хлорамфеникол 21,2% и оксациллину 17,6%. 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 цiproфлоксацину 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%, цiproфлоксацину, 98,2%, гентамицину 75,1 и имипенему 74,2%. У *P. aeruginosa* - отмечалась высокая чувствительность к колистину 93,3% и отмечена резистентность к цiproфлоксацину 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 данной медицинской организации.

Нами был проведен мониторинг частоты встречаемости патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, принадлежащих к группе ESKAPE,

выделенными из различного биологического материала пациентов ОРИТ и других отделений стационара за исследуемый период 2015 и 2018 гг. Результаты



динамического наблюдения представлены на Рисунках 5 и 6.

Рисунок 5. Сопоставление частоты встречаемости микроорганизмов, принадлежащих к группе ESKAPE в ОРИТ / Стационар в 2015 году.

На диаграмме обращает внимание, что за период 2015 года, ведущими возбудителями в ОРИТ являлись грамотрицательные микроорганизмы, прежде всего *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa* 12,9% и 9,2% - соответственно. В отделениях стационара напротив, ведущий возбудитель грамположительный *S. Aureus* – 9,3%, а грамотрицательные микроорганизмы *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa* составили 5,7% и 4,5% соответственно. Похожий микробный пейзаж, где грамотрицательная флора превалирует над грамположительной, наблюдался и за период 2018 года в ОРИТ.

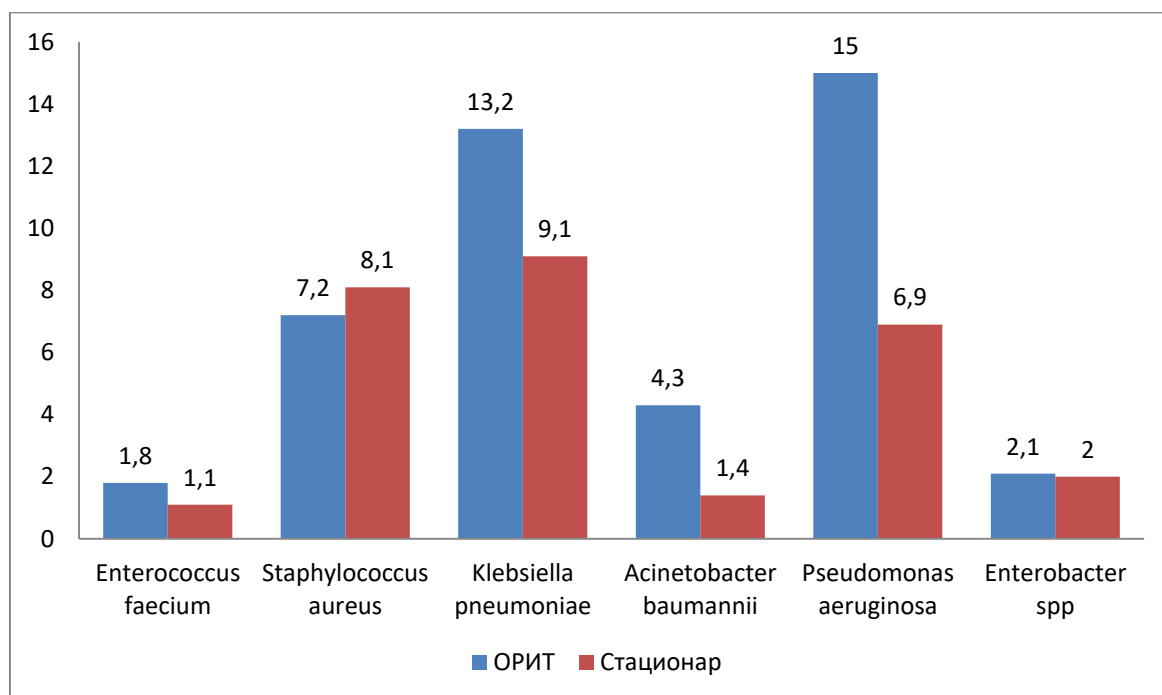


Рисунок 6. Сопоставление частоты встречаемости микроорганизмов, принадлежащих к группе ESKAPE в ОРИТ / Стационар в 2018 году.

Сопоставление частоты встречаемости микроорганизмов, принадлежащих к группе ESKAPE обращает внимание, что ведущими возбудителями в ОРИТ к 2018 году также как и ранее, отмечены *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa* - 13,2% и 15,0% - соответственно, а по другим отделениям стационара наблюдался некоторый сдвиг в сторону грамотрицательных возбудителей и к 2018 году ведущими отмечены грамотрицательные микроорганизмы *Klebsiella pneumoniae* - 9,1% и грамположительный *S. Aureus* - 8,1%. Необходимо отметить, что по материалам национальной программы о частоте встречаемости возбудителей в медицинских организациях *Klebsiella pneumoniae* – ОРИТ и стационар 21,9%; 16,7% - соответственно, *Pseudomonas aeruginosa* - 17,3% и 12,6%, а значение *S. Aureus* - 11,8%. Полученные данные значительно ниже, чем по медицинским организациям регионов. При проведении исследования, было выявлено единообразие микробного пейзажа в ОРИТ. Следует отметить, что предварительные знания о преобладающей микрофлоре, ее чувствительности к

АБП, ориентировали врачей специалистов при назначении рациональной эмпирической антибиотикотерапии тяжелым больным до готовности антибиотикограммы в лаборатории. Проведенный анализ позволил определить наиболее значимые направления микробиологического обеспечения инфекционного контроля и микробиологического мониторинга (ИСМП) для лаборатории микробиологии данной медицинской организации. Анализ микробного пейзажа в ОРИТ и других отделениях стационара проводился регулярно (каждые 6-12 мес.), сравнивая, например, данные предыдущего года до и после внедрения данного анализа. Результаты исследования «микробного пейзажа» были включены в схему лабораторного мониторинга инфекционного контроля.

3.1.2. Анализ результатов посева крови на стерильность (гемокультивирование) применяемого в ОРИТ и других отделениях стационара

Определяя сепсис как патологический процесс инфекционной природы и сложное взаимодействие микроорганизма и макроорганизма, следует отметить важность микробиологической диагностики, особенно исследования крови для подтверждения либо опровержения наличия инфекционно-воспалительного процесса. На сегодняшний день выявление бактериемии и фунгемии, а именно идентификацию бактерий и/или грибов, вызывающих инфекции кровотока, в лабораториях медицинских организаций выполняют с использованием метода гемокультур. Данное исследование дает необходимую информацию для диагностики и дальнейшего лечения сепсиса. Для ускоренного обнаружения бактериальных и грибковых патогенов в клинических образцах крови, используются автоматизированные системы культивирования крови, специальные флаконы с питательными средами для культивирования аэробов, анаэробов, дрожжей, грибов. Следует отметить, что существуют различные как Российские, так и зарубежные рекомендации по алгоритмам взятия крови для диагностики

инфекций кровотока, разнообразные практические рекомендации по правилам взятия крови для диагностики бактериемии. В рамках нашего исследования был проведен анализ метода выполнения посева крови на стерильность (гемокультивирование) применяемого в ОРИТ и других отделениях стационара. Важно отметить, что выделение клинически значимых микроорганизмов из культур крови, их идентификация и далее определение чувствительности к противомикробным препаратам, имеет ключевое значение для ведения патологического процесса инфекционной природы. Эта информация необходима врачам специалистам для оперативного назначения этиотропной терапии, коррекция эмпирической антимикробной терапии в кратчайшие сроки.

Эффективное выделение патогенов из крови зависит от объема забранной крови для исследования. Взятие оптимального количества биоматериала обеспечивает максимальное выявление бактериальных и грибковых патогенов. Коммерческие флаконы применяемые для гемокультивирования разработаны с учетом поддержания рекомендуемого соотношения крови и питательной среды в пропорции от 1:5 до 1:10, с оптимальным объемом крови.

Нами оценивался внутренний микробиологический протокол, где взятие биоматериала производили в 1-6 флаконов строго по 10 мл крови в аэробные/анаэробные флаконы для гемокультивирования из правой/левой локтевой вены. Биоматериал забирали у пациентов с клиническими признаками ССВО и инфекционного процесса с подозрением на предполагаемую инфекцию кровотока с соблюдением всех требований преаналитического этапа. Образцы крови без промедления инкубировали в микробиологическом анализаторе ВАСТЕС 9050, инсталлированный в лаборатории экспресс диагностики, с доступом к данным 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. Микроскопический метод является важным, хотя и ориентировочным методом определения видовой

идентификации микроорганизмов в клиническом материале. Полученный предварительный результат незамедлительно сообщали врачу клиницисту. Последующая информация, полученная в первый день исследования, сообщалась врачам ОРИТ с помощью формы электронного отчета. 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 бактериологическом анализаторе WalkAway 96 plus, в соответствии с инструкцией производителя определяя минимальное значение ингибирующей концентрации (МИК) и диско - диффузионным методом с использованием стандартных дисков. Затем значения классифицировали в соответствии с оценкой предлагаемой Европейским комитетом по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST), как чувствительные (S), микроорганизмы с промежуточной резистентностью (I) и резистентные (R).

В ходе исследования были изучены образцы крови ($n = 709$) полученных от пациентов, находящихся на лечении в ОРИТ ($n = 657$), в период 2013-2014 г.г. Всего исследовано 1644 флакона для гемокультивирования, объем одного флакона – 10 мл. У большинства пациентов образцы были получены в течение 24-часового периода. Если объем крови превышал 20 мл (дополнительные флаконы забирались в течение этого времени из других локусов), мы их рассматривали как один образец культуры крови объемом более 20 мл. Среди обследованных лиц женщины составили 320 (49%), средний возраст $57,4 \pm 6,04$ года, мужчины – 337 (51%), средний возраст $60,5 \pm 6,11$ года. Среднее количество флаконов от одного пациента составило 2,2 (от 1 до 6). У 23% от общего числа обследуемых образцов пациентов была выявлена бактериемия. 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 (общий 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);

По своим характеристикам группы были сопоставимы по полу, возрасту, сопутствующей патологии и проводимой терапии. Результаты представлены в Таблице 20.

Высеваемость микроорганизмов в зависимости 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%	<u>< 0,0001</u>
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.

Рекомендуемая в различных источниках практика культивирования крови, заключается в культивировании 20 мл крови, равномерно разделенной на аэробный и анаэробный флаконы. Учитывая наши данные для результативной микробиологической диагностики сепсиса, ССВО и инфекционного процесса

целесообразно использовать одновременно 2-4 флакона для культивирования, в том числе для аэробов и анаэробов, а общий объем культивируемой крови составляет не менее 20-40 мл для обеспечения необходимой чувствительности. Важно отметить, что 2 образца по 20 мл должны быть получены одновременно, или второй образец в течение 30 мин после первого (каждый из образцов объемом 20 мл должен быть получен путем венепункции правой/левой локтевых вен). К недостаткам микробиологической диагностики сепсиса и тяжелого инфекционного процесса методом гемокультуры относят длительность культивирования (в среднем 24-48 часов), имеют место сложности с выявлением некультивируемых форм микроорганизмов, а также серьезное влияние оказывает проведение предварительной эмпирической АБТ у пациентов.

3.1.3. Повышение результативности микробиологического исследования инфекции кровотока

Как альтернативу культуральным методам, для ускоренной диагностики этиологии ССВО и тяжелого инфекционного процесса, нами был использован молекулярно-биологический метод исследования, а именно 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. Недостатком диагностических тест-систем для ПЦР-РВ является возможность идентифицировать только те возбудители, чьи специфические праймеры входят в состав набора. 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 составлена диагностическая панель для выявления значимых патогенов, грам-положительные бактерии семейства *Streptococcaceae* (*Streptococcus spp.*, в том числе *methicillin-resistant Staphylococcus*), семейства *Staphylococcaceae* (*Staphylococcus spp.*, *methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, *methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci*; семейства *Enterococcaceae*, рода *Enterococcus* (*E. faecium* *E. Faecalis*), грам-отрицательные бактерии семейства *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*), семейства *Yersiniaceae* (*Serratia spp.*), семейства *Pseudomonadaceae* (*P. Aerugenosa*), грибов рода *Candida* (*C.albicans*, *C.krusei*, *C.parapsilosis* и *C.tropicalis C.glabrata*). Комбинированная панель для определения ДНК возбудителей септических инфекций и генов резистентности к антибиотикам представлена в Таблице 21. При формировании данной панели были использованы наборы реагентов отечественных производителей, представленных ранее. При помощи данных наборов можно проводить анализ различных типов биоматериала: чистой культуры, гемокультуры и образцов крови. Надо отметить, что данную панель для выявления возбудителей инфекций кровотока, можно модифицировать при обнаружении новых значимых патогенов, установленных при анализе микробного пейзажа ОРИТ и стационара в целом. 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 сокращает 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. При этом нами не исключалась возможность ложноположительного результата, а именно когда инфекция при помощи лечения АБТ уже устранена и методом ПЦР-РВ выявляют в биоматериале остатки

бактериальной ДНК. При использовании культурального метода исследования биоматериала, напротив, выявляют живые культуры микроорганизмов.

Таблица 21.

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 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>		VIM	
<i>Serratia spp</i>		NDM	Металло-β-лактамазы
<i>Enterobacter spp.</i>		IMP	
<i>P. aeruginosa</i>			
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 в клиническом материале 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 полученных нами при совместном применении гемокультивирования и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени без учета соответствия обнаруженных микроорганизмов представлены в Таблице 22.

Таблица 22.

Данные, полученные методом гемокультивирования и ПЦР-РВ без учета соответствия обнаруженных микроорганизмов

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

Следует отметить, что среди результатов, где посев на гемокультуру отмечался как негативный (n = 100 флаконов), методом ПЦР-РВ позволил выявить 12 позитивных результатов.

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%.

Данные сопоставления результатов изучаемых методов с учетом видовой принадлежности микроорганизмов представлены в Таблице 23.

Таблица 23.

Сопоставление видов микроорганизмов, выявленных методом
гемокультивирования и методом ПЦР-РВ с учетом видовой принадлежности
микроорганизмов

Микроорганизм	Количество положительных культур			
	Всего	Оба метода	Только посев	Только ПЦР
<i>Streptococcus spp.</i>	5	3	1	1
<i>Staphylococcus spp</i>	40	37		3
<i>E. faecium</i>	6	3	3	
<i>E. faecalis</i>	11	9	2	
<i>E. coli</i>	10	9	1	
<i>Proteus spp</i>	4	2		2
<i>Klebsiella spp</i>	18	15		3
<i>Serratia spp</i>	3	1		2
<i>Enterobacter spp</i>	5	5		
<i>P. aeruginosa</i>	13	12		1

Всего	115	96	7	12
-------	-----	----	---	----

Всего было определено наличие 115 патогенов. В 96 случаях получено полное совпадение результатов сравниваемых методов – гемокультивирование и ПЦР-РВ. В 7 случаях при получении положительного посева на гемокультуру, исследование, выполненное параллельно методом ПЦР результат - отрицательный. Полученные результаты могут быть обусловлены несколькими причинами. Известно, что микробиологическое исследование крови требует строжайшего соблюдения правил асептики и антисептики при проведении процедуры. Наиболее вероятно, что выявленные при гемокультивировании микроорганизмы *E. Faecium*, *E. faecalis* и *E. Coli*, и не определены при ПЦР-РВ, возможно не исключают результат контаминации на преаналитическом этапе. В 12 случаях при получении положительного результата ПЦР-РВ и отрицательного результата гемокультивирования, важно отметить выявление методом ПЦР-РВ значимых патогенов, принадлежащих к группе ESKAPE (*Staphylococcus spp.*, *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, *P. Aerugenosa*). В комбинированную панель определения ДНК возбудителей септических инфекций были включены маркеры по определению маркеров генов резистентности. Для грамотрицательных микроорганизмов – *P. Aerugenosa*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp*, *Serratia spp*, *E. Coli*, *Enterobacter spp.* и выявление маркеров резистентности генов металло β-лактамаз (VIM, IMP, NDM), кодирующих карбапенемазы (IMP, NDM, VIM КРС, OXA-48). Для грамположительных микроорганизмов - *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.* (*methicillin-resistant Staphylococcus*, *methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, *methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci*), *E. faecium*, *E. Faecalis* проводилось выявление маркеров резистентности генов к метициллину/оксациллину (*mecA*), к ванкомицину и тейкопланину (*VanA*, *VanB*). Среди выявленных методом ПЦР-РВ возбудителей инфекции кровотока гены резистентности к антимикробным препаратам были обнаружены у 85 из 115 (73,9%) микроорганизмов. В основном резистентные штаммы были выявлены у больных с клинико-лабораторными признаками сепсиса/ССВО. Различные

маркеры резистентности к карбапенемам (VIM, IMP, NDM KPC, 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%, *E. faecium* к ванкомицину 4,1%, *P. Aeruginosa* к имипенему 58,0%. *K. pneumoniae* к эртапенему 38,8%, меропенему 8,8%.

Важно отметить, что для многих механизмов резистентности отрицательный результат не исключает фенотипической резистентности. Молекулярно-генетические методы основаны на обнаружении целевых генов лекарственной устойчивости и позволяют проводить идентификацию генетических детерминант резистентности микроорганизмов, при этом даже в случаях присутствия гена лекарственной устойчивости, они могут не выявить реальную фенотипическую экспрессию. Также ограничением этих методов является невозможность обнаружения генов, не входящих в используемую тест-систему. Поэтому использование ПЦР-РВ не заменяет фенотипические методы определения чувствительности, а позволяет в кратчайшие сроки, спрогнозировать появление устойчивости к различным группам антимикробных препаратов.

Использование ПЦР-РВ позволяет сократить время идентификации бактериальных и грибковых патогенов инфекций кровотока до 4-6 ч.

Следует отметить, что те пациенты, у которых микроорганизмы выделялись обоими методами, в день отбора проб крови на исследования посев на гемокультуры и метод ПЦР-РВ, имели клинико-лабораторные признаки сепсиса/ССВО, значение теста на РСТ в сыворотке/плазме крови был значимо повышен, составляя более 10 нг/мл соответственно (референтный интервал – до 0,5 нг/мл), что свидетельствовало о наличии тяжелой бактериальной инфекции.

На основе полученных данных, нами был предложен внутренний микробиологический алгоритм для диагностики инфекций кровотока представленный в Приложение 1. Суть разработанного микробиологического

алгоритма для диагностики инфекций кровотока состояла в следующем. У пациентов с соответствующей клинической картиной и подозрением на инфекцию кровотока единовременно забирали по 10 мл крови во флаконы для гемокультивирования (выделение аэробов и анаэробов), в случае необходимости дополнительно применялись флаконы со средой для культивирования грибов. Далее производилась инкубация в автоматическом микробиологическом анализаторе (в соответствии с инструкцией производителя). Отсутствие роста в течение 5-7 суток позволяло считать результат отрицательным. При наличии роста во флаконе, т.е. после получения сигнала с прибора, флакон незамедлительно извлекался, проводили окрашивание по Граму мазка, приготовленного из гемокультуры. Далее из флаконов выполняли, пересеив на плотные питательные среды, получали чистую культуру, проводили видовую идентификацию выделенной микрофлоры, определяли чувствительность к антибактериальным и/или антимикотическим препаратам. Параллельно для сокращения сроков выдачи результатов нами использовался молекулярно-генетический метод исследования. Из флакона с гемокультурой отбирали пробу для выделения бактериальной ДНК, изучения родовой видовой идентификации бактериальных и грибковых патогенов, а также определения маркеров резистентности к АБП методом ПЦР-РВ. Результаты, полученные на разных этапах исследования, в автоматическом режиме поступали в электронные отчеты ОРИТ, что помогало врачам оперативно скорректировать терапию. При этом предварительный ответ на основе окрашивания по Граму, результаты видовой идентификации выделенной микрофлоры, определения генетических маркеров резистентности микроорганизмов клиницисты получали в день регистрации роста гемокультуры в анализаторе (на 1-2 сутки от начала исследования), период времени до выдачи окончательного результата в среднем сокращался на 1-2 суток.

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

В ходе исследования нами также были изучены образцы ликвора ($n = 287$) полученных от пациентов, находящихся на лечении в ОРИТ ($n = 272$), в период 2013-2014 г.г. Среди обследованных лиц женщины составили 152 (55,9%), средний возраст $52,4 \pm 6,01$ года, мужчины - 120 (44,1%), средний возраст $51,5 \pm 6,10$ года. Все образцы биоматериала изучены с помощью бактериологического метода, из них методом ПЦР-РВ исследовано 84 (29,3%), методом латекс - агглютинации 87 (30,3%) образцов. При бактериологическом исследовании рост микроорганизмов получен в 61 (21,3%) образце, причем по результатам посевов отмечено преобладание возбудителей вторичных инфекций. Исследование методом ПЦР-РВ включало определение ДНК/РНК возбудителей бактериальных инфекций (*N.meningitidis*, *S.pneumoniae*, *H.influenzae*, *M.tuberculosis*, *L.monocytogenes*), возбудителей вирусных инфекций (HSV I/II, VZV, EBV, CMV, HHV6, *Enterovirus*), простейших *Toxoplasma Gondii* (*T. gondii*) возбудителей нейроинфекций (менингиты бактериальной и вирусной этиологии, туберкулез мозговых оболочек и мозговой ткани, пневмококковой, гемофильной инфекцией, листериозом, герпесвирусными, энтеровирусным заболеваниями). Положительные результаты при использовании метода ПЦР-РВ получены в 19 случаях, при этом выявлялись как вирусные 15, так и бактериальные 4 возбудители. Латекс-агглютинация проводилась только в случае достаточного объема (не менее 1 мл) ликвора. Результаты выявления антигенов бактериальных возбудителей совпали с результатами ПЦР-РВ. При использовании данным исследованием, результаты в среднем получали через $5,0 \pm 0,5$ часа, при применении культуральных методов сведения о возбудителях были известны через $48,0 \pm 4,5$ часов, чувствительности к антимикробным препаратам – через $72,0 \pm 6,5$ часов. Следует отметить, что единственным прямым методом выявления вирусов и простейших в биоматериале доступным лаборатории являются молекулярно-биологические методы. Серологические методы не дают ответа на вопрос об этиологической значимости выявленного микроорганизма, а методы культуральные вирусологические слишком длительны по времени исполнения

методик и часто недоступны лабораториям стационара. Таким образом, целесообразным представляется исследование ликвора, включающее классический микробиологический посев в комплексе с методом ПЦР-РВ.

3.1.4. Использование различных методов лабораторной диагностики для выявления возбудителей септических инфекций. Оптимизация диагностики нозокомиальной пневмонии в условиях стационара

Для получения объективной информации по выявлению значимых патогенов сепсиса и ССВР с применением микробиологических методов лабораторного исследования было проведено сравнение полученных результатов выявления возбудителей пневмонии двумя лабораторными методами: культуральным и методом амплификации нуклеиновых кислот ПЦР-РВ. Были изучены результаты лечения пневмонии при эмпирической антибактериальной терапии и целенаправленной, основанной на методах амплификации нуклеиновых кислот ПЦР - РВ.

Пневмония остается одним из наиболее распространенных инфекционных заболеваний человека. Особую проблему для клиницистов представляет тяжелая нозокомиальная пневмония. Для нее характерно возникновение дыхательной недостаточности в условиях септического процесса и формирование полиорганной недостаточности. Основные неудачи в лечении пневмонии связаны с поздним началом адекватной этиотропной терапии. В классических исследованиях была показана зависимость результатов лечения и выживаемость пациентов от адекватности стартовой антибактериальной терапии, что в свою очередь определялось своевременностью выявления возбудителя. Описано около 100 микроорганизмов (бактерии, микоплазмы, хламидии и др.), которые могут являться возбудителями тяжелых пневмоний. Однако клинически значимы около 2-х десятков возбудителей, имеющих «типичную» бактериальную, «атипичную» или вирусную природу. К категории наиболее частых «типичных» возбудителей относят *S. pneumoniae*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *H. influenzae*, а «атипичных» – *L.*

pneumophila, *M. pneumoniae* и *S. pneumoniae*. Определение возбудителя при традиционной микробиологической диагностике составляет минимум 48 ч. Также отсутствует возможность определения вклада некультивируемых микроорганизмов в воспалительный процесс. Отдельной проблемой является определение чувствительность выделяемой микрофлоры к АБП. Выполнение этих исследований требует дополнительных усилий, что затрудняет назначение своевременной и адекватной терапии. Развитие молекулярной биологии позволило идентифицировать в различном материале ДНК и/или РНК практически любых микроорганизмов. Сегодня накоплено большое количество клинических данных о перспективности этого метода диагностики. Во многих исследованиях наглядно подтверждается, что использование ПЦР для детекции генного материала возможно в режиме реального времени, а по срокам и точности получения результатов ПЦР превосходит классические культуральные методы диагностики. Обычно при использовании метода ПЦР требуется 24 часа для идентификации микроорганизма. Для каждого конкретного возбудителя требуется выполнение отдельного анализа, что делает процесс диагностики громоздким и трудоемким. Но в настоящее время, появились аналитические системы, позволяющие одномоментно определять широкий спектр патогенов и генетических маркеров устойчивости к антибиотикам в рамках одного исследования (например, система UNYVERO («Curetis»)).

Для повышения результативности диагностики нозокомиальных пневмоний было проведено сравнение эффективности выявления возбудителей классическим бактериологическим методом и методом ПЦР.

Перечень микроорганизмов, которые нами выявлялись в рамках одного исследования с помощью диагностической тест-панели Curetis UNYVERO *Pneumonia* были представлены ранее в Таблице 25.

По результатам исследования молекулярно-биологическим методом и бактериологическим методом было выявлено 106 и 53 патогенов соответственно. При использовании ПЦР-диагностики у 60 из 77 (77,9%) пациентов были

выявлены один или несколько возбудителей пневмонии: *S. pneumoniae*, *S. maltophilia*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *L. pneumophila*, в большинстве случаев в микробных ассоциациях. При классическом культуральном методе исследования возбудители были обнаружены у 43 (55,8%) пациентов. Данные о виде и количестве возбудителей, выявленных молекулярно-биологическим и бактериологическим методом, представлены в Таблице 24.

Таблица 24.

Вид и количество возбудителей, выявляемых различными методами исследования

Возбудитель	Молекулярно-биологический метод		Бактериологический метод	
	n	%	n	%
<i>S. pneumoniae</i>	34	32,7%	18	33,3%
<i>S. aureus</i>	14	12,7%	8	14,8%
<i>P. aeruginosa</i>	6	5,5%	12	22,2%
<i>A. baumannii</i>	21	20,0%	8	14,8%
<i>L.pneumophila</i>	2	1,8%	0	0,0%
<i>S. maltophilia</i>	17	16,4%	4	7,4%
<i>Enterobacter spp</i>	2	1,8%	0	0,0%
<i>K. pneumoniae</i>	4	3,6%	2	3,7%
<i>H. influenzae</i>	6	5,5%	0	0,0%
<i>S. bovis</i>	0	0,0%	1	3,7%
<i>Всего</i>	106	100,0	53	100,0

У тех пациентов, которые длительно пребывали в стационаре, отмечалось преобладание неферментирующих грамотрицательных микроорганизмов: *S. maltophilia*, *A. baumannii*, что вероятно могло объясняться присоединением

нозокомиальной инфекции. У 15 пациентов результаты ПЦР-РВ полностью сопоставимы с классическим микробиологическим методом исследования. У 39 пациентов, количество микроорганизмов, определяемых в каждом образце биологического материала с помощью автоматической системы, значительно превысило количество микроорганизмов, которые были выделены в результате классического микробиологического метода исследования.

Надо отметить, что рост резистентности возбудителей инфекций к бета-лактамам АБП представляет серьезную проблему для здравоохранения во всем мире. В формировании устойчивости грамотрицательных микроорганизмов к бета-лактамам важную роль играет распространение бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС). Энтеробактерии, которые непосредственно продуцируют БЛРС распространены в стационарах. Нельзя не отметить, распространение полирезистентных грамотрицательных неферментирующих бактерий, таких как *P. aeruginosa* и *A. baumannii*.

Анализ генетической устойчивости микроорганизмов к противомикробным препаратам ориентирован на следующие классы:

- устойчивость к β -лактамам
- широкого спектра действия (ESBL),
- устойчивость к карбапенемам
- устойчивость к макролидам,
- устойчивость к фторхинолонам,
- множественная лекарственная устойчивость

В Таблице 25, представлен перечень выявляемых маркеров генетической устойчивости к противомикробным препаратам, включенных в тест-панели системы «Curetis UNYVERO Pneumonia» в рамках одного исследования.

Перечень выявляемых маркеров генетической устойчивости к антибиотикам в рамках одного исследования с помощью тест – панели системы «Curetis UNYVERO Pneumonia»

Маркер устойчивости к антибиотикам	Микроорганизм	Устойчивость
mecA	<i>S. aureus</i>	Оксациллин
mrsA	<i>S. aureus</i>	Макролиды
ermA	<i>S. aureus</i>	Макролиды / Линкозамиды
ermC	<i>S. aureus</i>	Макролиды / Линкозамиды
mefA	<i>Streptococcus spp</i>	Макролиды
ermB	<i>Streptococcus spp</i> и <i>Staphylococcus spp.</i>	Макролиды / Линкозамиды
TEM	<i>Enterobacterales, Non-fermenting, H. influenzae</i>	Пенициллины / Цефалоспорины III
SHV	<i>Enterobacterales, Non-fermenting</i>	Пенициллины / Цефалоспорины III
CTX-M	<i>Enterobacterales, Non-fermenting</i>	Пенициллины / Цефалоспорины III
DHA	<i>Enterobacterales</i>	Пенициллины / Цефалоспорины III
EBC	<i>Enterobacterales</i>	Пенициллины / Цефалоспорины III
KPC	<i>Enterobacterales, Non-fermenting</i>	Карбапенемы
OXA-51	<i>A. baumannii</i>	Карбапенемы
INT-1	<i>Enterobacterales, Non-fermenting</i>	Множественная лекарственная устойчивость

SUL-1	<i>Enterobacteriales, Non-fermenting</i>	Множественная лекарственная устойчивость / Сульфонамиды
-------	--	---

Среди выявленных методом ПЦР-диагностики в реальном времени возбудителей пневмонии гены резистентности к антимикробным препаратам были обнаружены у 90 из 106 (85,4%) микроорганизмов, возбудителей пневмонии. В основном резистентные штаммы находили у больных нозокомиальной пневмонией. Различные маркеры резистентности (*ermC*, *mefA*, *ermB*, TEM, SHV, TEM+SHV, CTX-M, OXA-51, INT-1, SUL-1) были выявлены у *S. pneumoniae* в 94,1% случаев, у *K. pneumoniae* в 100% случаев, у *P. aeruginosa* – в 66,7%, у *A. baumannii* – в 72,7%, у *S. aureus* – в 71,4%, у *S. maltophilia* – в 66,7%. Стоит заметить, что 17 резистентных к антимикробным препаратам возбудителей при исследовании культуральным методом выявлены не были. Соответственно, определение чувствительности этой флоры к антибактериальным препаратам не проводилось.

Среди 34 представителей *S. pneumoniae* маркеры резистентности *mefA*, *ermB* выявлены в 28 случаях, в 6 случаях - маркеры резистентности обнаружены не были, при этом при классическом бактериологическом исследовании результаты были сопоставимы. В 14 случаях из 28 был обнаружен только один маркер - *ermB*, в случаях из 28 сочетание двух маркеров: *ermB* и *mefA*, в 9 случаях из 28 обнаружен только маркер *mefA*. Среди 14 выделенных штаммов *S. aureus* маркер резистентности к оксациллину *tesA* не был выявлен ни в одном случае. Для группы *Enterobacteriales* устойчивость к карбапенемам по KPC также не была обнаружена. Резистентность *A. baumannii* к карбапенемам по OXA-51 наблюдалась у 2 из 21 штамма. Устойчивость к пенициллинам/цефалоспорином III по TEM, SHV, TEM+SHV, CTX-M обнаружена для 21 штамма из 52-х. Множественная лекарственная устойчивость по INT-1, SUL-1 обнаружена у 10 выявленных микроорганизмов.

При использовании ПЦР-РВ, получение готовых результатов было отмечено в среднем через 4,5-6,0 часов, при применении культуральных методов, сведения о возбудителях были доступны через $48 \pm 5,6$ часов. Готовность результатов по определению чувствительности выявленных микроорганизмов к антимикробным препаратам в среднем составила $68 \pm 6,9$ часов. Таким образом, использование системы ПЦР-диагностики в реальном времени позволяет в кратчайшие сроки установить этиологию пневмонии и выявить резистентные микроорганизмы. Кроме того, существенным достоинством этого метода является определение тех возбудителей, которые не всегда по тем или иным причинам (например, предшествующее назначение антибиотиков) идентифицируются при культуральном исследовании.

Адекватность антибактериальной терапии у больных с пневмонией оценивали по динамике клинических симптомов, данных лучевых методов диагностики и лабораторным показателям. Стоит заметить, что изменения на рентгенограммах зачастую запаздывают по отношению к разрешению пневмонии. Традиционная оценка эффективности терапии по числу лейкоцитов и изменениям лейкоцитарной формулы не всегда информативна, особенно у пожилых пациентов. В клинических рекомендациях по лечению внебольничной пневмонии у взрослых, как маркер эффективности лечения пневмонии рекомендуется использовать уровень прокальцитонина (PCT) и С-реактивного белка (CRP) [33]. Установлена корреляционная зависимость между эффективностью антибактериальной терапии и снижением этих показателей. На момент диагностики пневмонии у всех пациентов уровень PCT был выше 0,5 мкг/л, а CRP больше 5,0 мг/л, что свидетельствовало о формировании синдрома системной воспалительной реакции бактериальной природы.

С использованием этих маркеров сравнили эффективность антибактериальной терапии больных с пневмонией при использовании различных методов идентификации возбудителей. Всего в исследование было включено 29 пациентов, которые были разделены на две группы. В 1-й группе ($n = 19$)

выделение возбудителей проводилось культуральным методом и соответственно пациенты получали эмпирическую антибактериальную терапию, во 2-й группе (n = 10) для идентификации возбудителей использовали ПЦР-диагностику в реальном времени, назначение антибиотиков осуществлялось на основе полученных результатов. Измерения концентрации биомаркеров в сыворотке/плазме крови проводили на 3-е и 7-е сутки. Динамика содержания PCT и CRP при проведении антибактериальной терапии представлена в Таблице 26.

Таблица 26.

Динамика содержания PCT и CRP при проведении антибактериальной терапии у больных с пневмонией

Показатель	Группы	Период измерения биомаркера		
		До начала лечения	3-е сутки	7-е сутки
PCT,% от исходных значений	1-я	100	125±11,8	130,4±12,5
	2-я	100	110±11,2*	84,6±9,1**
CRP,% от исходных значений	1-я	100	145±15,1	142±14,9
	2-я	100	139±12,7	101±11,3*

*достоверное различие между группами (p < 0,05)

**достоверное различие по отношению к исходному уровню (p < 0,05)

У больных 1-й группы на 3-и сутки назначения антибиотиков уровень PCT возрастал и превышал исходные значения, на 7-е сутки – оставался на прежнем уровне. Во 2-й группе на 3-и сутки показатели PCT достоверно не отличались от исходного уровня и были ниже, чем в 1-й группе (p < 0,05 между группами). На 7-е сутки концентрация PCT достоверно снизилась ниже исходного уровня. Показатели CRP в обеих группах на 3-и сутки превышали значения до начала терапии, однако на 7-е сутки уровень CRP был достоверно ниже у больных 2-й группы. Полученные результаты свидетельствуют о большей эффективности

антибактериальной терапии у больных 2-й группы. Так же следует отметить большую чувствительность РСТ для оценки эффективности лечения, чем CRP, что соответствовало литературным данным [78, 337].

У больных 1-й группы препараты назначались эмпирически с учетом клиники, предполагаемого возбудителя и его резистентности. Однако эта терапия была не всегда адекватной. У 10 пациентов по результатам микробиологического исследования проводилась коррекция антимикробной терапии с учетом выявленных возбудителей и их чувствительности к антибактериальным препаратам. Однако зафиксировано 2 случая, когда изменение терапии на основании культуральных методов диагностики было малоэффективным. У больных 2-й группы, через 4,5-5 часов с момента взятия биоматериала имелись сведения о возбудителях и маркерах резистентности, что позволяло сразу назначить адекватную этиотропную терапию. Соответственно в этой группе выраженность воспалительного процесса на 3-и и 7-е сутки была меньше в сравнении с 1-й группой. Таким образом, раннее исследование методом ПЦР в реальном времени может способствовать оптимизации этиотропной терапии на ранних сроках нахождения больного в ОРИТ.

Выявлено, что исследования, выполненные молекулярно-биологическим методом ПЦР-РВ, обладают значимой информативностью по количеству выявленных микроорганизмов, чем исследования, выполненные методами классической микробиологической диагностики. Очень демонстративны преимущества метода ПЦР-РВ при диагностике «атипичных» пневмоний. У двух пациентов в образцах мокроты была обнаружена *L. pneumophila*, что позволило назначить кларитромицин с хорошим эффектом. Выявленный в образцах биологического материала возбудитель легионеллёза *Legionella pneumophila* - грамотрицательный микроорганизм рода *Legionella*. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что посев мокроты не всегда позволяет найти всю значимую патогенную флору, что может быть связано с особенностями сбора биологического материала на преаналитическом этапе, с последующей его

обработкой и подготовкой к исследованию. Для успешного проведения микробиологического исследования при выявлении *L. Pneumophila*, необходимо использование специальных питательных сред, предназначенных для культивирования легионелл, так как данные микроорганизмы не растут на стандартных питательных средах. Это связано с потребностью данного возбудителя в L-цистеине и растворимом пирофосфате железа. Как правило, посев исследуемого материала для выявления *L. Pneumophila* на основные питательные среды, предназначенные для выращивания многих видов микроорганизмов, дает отрицательный результат.

Таким образом, метод ПЦР-РВ, а именно выявление ДНК возбудителей пневмонии и маркеров резистентности к антибактериальным препаратам, по сравнению с методами классической микробиологической диагностики, обладает более значимыми диагностическими возможностями, позволяя идентифицировать как классические возбудители, так и ряд атипичных микроорганизмов. В большинстве случаев, полученный результат молекулярно-биологического исследования позволяет своевременно назначать рациональную этиотропную терапию с учетом наличия у микроорганизмов генов резистентности к антибактериальным препаратам, а также способствует коррекции уже назначенной эмпирической терапии.

3.2. Значение биомаркеров в диагностике, мониторинге и прогнозе сепсиса и системного воспаления в ОРИТ

Биомаркеры занимают важное место в диагностике сепсиса и, системного воспаления, они могут указать на наличие или отсутствие ССВР, могут дифференцировать бактериальную, вирусную и грибковую инфекции, определить тяжесть септического состояния, дифференцировать системный сепсис и локальную инфекцию. Септический ответ – это сложная цепь событий, воспалительные и противовоспалительные процессы, гуморальные и клеточные реакции, нарушения кровообращения.

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 (повышение температуры тела, тахикардия, тахипное, лейкоцитоз, повышение биохимических маркеров) 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 системного сепсиса и локальной инфекции для поступивших в ОРИТ, мы 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 (с установленным сепсисом / без установленного сепсиса) достоверные различия были выявлены для PCT, MR-proADM, PSEP, CRP, креатинина, лактата, лейкоцитов, нейтрофилов, SOFA (в зависимости от дня нахождения в ОРИТ). Их медианные значения, межквартильные диапазоны (25-й и 75-й процентиля), при поступлении 0-24 часа, через 48 часов и 120 часов и критерий Манна-Уитни (Mann-Whitney тест) представлены в Таблице 27.

Медианные значения, межквартильные диапазоны (25-й и 75-й процентиля) при поступлении 0-24 часа, через 48 и 120 часов в стратифицированных группах и «р» по критерию Манна-Уитни (n.s. – различия не достоверны (non significant))

Биомаркер	С установленным сепсисом (n = 64)	С неустановленным сепсисом (n = 63)	«р» по критерию Манна-Уитни
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>
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			
РСТ нг/мл	5,30 [1,58-37,18]	2,40 [0,44-5,79]	<u>0,0020 (< 0,05)</u>
MR-proADM, нмоль/л	2,35 [1,68-8,52]	1,86 [0,89-3,10]	<u>0,0090 (< 0,05)</u>

PSEP пг/мл	759,5 [216,00-1356,00]	1045,00[229,25-2051,50]	0,6310 (n.s.)
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 отделении интенсивной терапии 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. Для SOFA значимые различия в концентрации выявлены на 2 сутки пребывания.

3.2.1. Диагностическая ценность теста на PCT при развитии инфекционных осложнений у пациентов ОРИТ

Нами были изучены возможности использования теста на PCT как маркера развития инфекционных осложнений у пациентов, поступивших в отделение интенсивной терапии с подозрением на сепсис, ССВР и тяжелые инфекции. Данные по медианным значениям, межквартильным диапазонам (25-й и 75-й процентиля) в динамике, при поступлении 0-24 часа, через 48 и 120 часов в стратифицированных группах представлены в Таблице 28.

Таблица 28.

Медианные значения, межквартильные диапазоны (25-й и 75-й процентиля) при поступлении 0-24 часа, через 48 и 120 часов в стратифицированных группах и «р» по критерию Манна-Уитни (n.s. – различия не достоверны (non significant)).

Биомаркер	С подтвержденной клиникой инфекционного процесса	Без инфекционных осложнений	Манн-Уитни тест
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>
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 ($p > 0,05$).

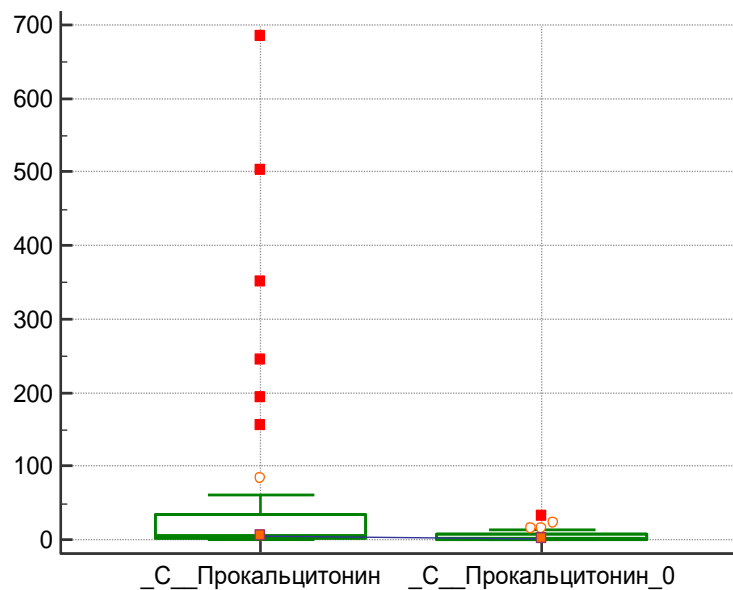


Рисунок 7. Концентрация РСТ в группах пациентов с подтвержденной клиникой инфекционного процесса и без инфекционных осложнений.

Полученные данные свидетельствуют, что различия значений медиан концентраций РСТ в группах пациентов с подтвержденной клиникой инфекционного процесса и без инфекционных осложнений - статистически достоверны ($p < 0,05$).

Нами были определены значения AUC ROC с определением площади под характеристической кривой cut off, расчет показателей чувствительности и специфичности теста на PCT, 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 представлены в Таблице 29.

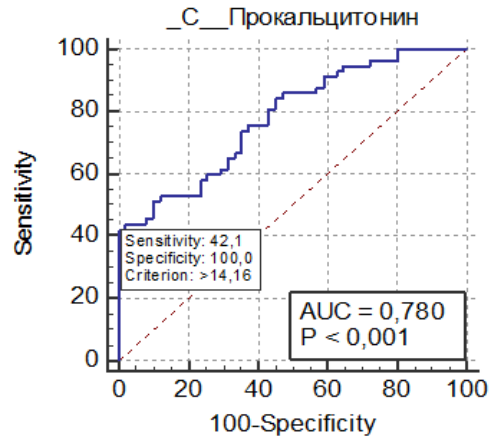
Таблица 29.

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

PCT 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 (AUC ROC)	0,78	0,68	0,594
Уровень значимости P	< 0,0001	0,0008	0,1498

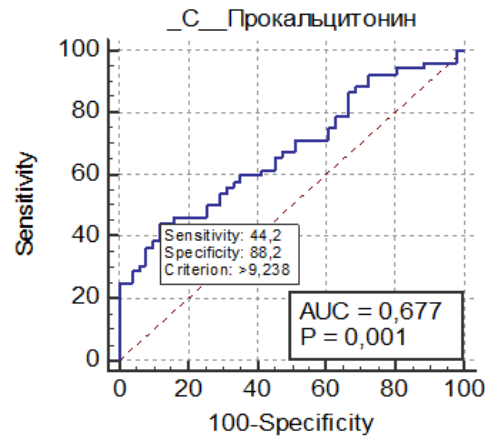
Установлено, что оптимальные пороговые значения для PCT как биомаркера для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений; при поступлении > 14,16 PCT нг/мл (42,1% чувствительности и 100% специфичности), через 48 - > 9,238 нг/мл (44,2% чувствительности и 88,2%

специфичности), через 120 часов - > 4,331 нг/мл (54,4% чувствительности и 67,7% специфичности), ППЗ: 100,0; 79,3; 71,4 и ОПЗ: 60,7; 60,8; 50,0 - соответственно.



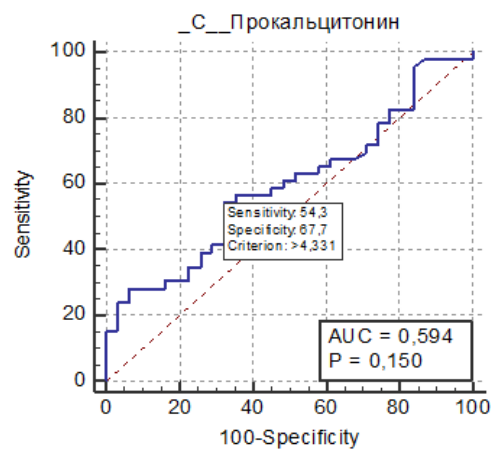
Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,780	0,043	0,0001	0,690	0,854

Рисунок 8. Чувствительность и специфичность теста на РСТ при поступлении 0-24 часа в ОРИТ для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений.



Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,677	0,053	0,001	0,578	0,766

Рисунок 9. Чувствительность и специфичность теста на РСТ через 48 часов поступления в ОРИТ, для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений.



Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,594	0,0652	0,150	0,476	0,705

Рисунок 10. Чувствительность и специфичность теста на РСТ через 120 часов поступления в ОРИТ, для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений.

3.2.1.1. Возможности теста РСТ для оптимизации антибиотикотерапии

Имеющиеся в настоящее время данные свидетельствуют, что клинические признаки для мониторинга пациентов с сепсисом и ССВР не могут быть однозначно интерпретированы. Дополнительные биомаркеры, отражающие конкретные патологические пути, могут стать важным инструментом для принятия клинических решений при ведении септических пациентов. Известно, что тест на прокальцитонин (РСТ) крови отражает реакцию макроорганизма на бактериальную инфекцию, является чувствительным биомаркером, предоставляющим прогностическую информацию о пациентах с инфекциями и сепсисом [352]. Его использование может повысить эффективность лечения с использованием антибактериальных препаратов [353, 354]. Многочисленные исследования показали, что уровень РСТ повышается в ответ на бактериальную инфекцию и снижается в период выздоровления [353, 359]. Значение показателей РСТ в сыворотке/плазме крови для принятия решений при контроле АБТ у пациентов ОРИТ с подозрением на сепсис и инфекционные осложнения требует дальнейшего изучения.

Нами был проведен анализ показателей эффективности использования, результатов теста на РСТ в сыворотке/плазме крови у пациентов с сепсисом, ССВР и тяжелыми инфекциями госпитализированных в ОРИТ, для контроля за АБТ.

Для оценки длительности проведения антибиотикотерапии под руководством теста на РСТ в сыворотке/плазме крови у тяжелобольных с сепсисом и ССВР, мы использовали данные пациентов, находящихся в отделении ОРИТ с любым типом системной инфекции, которым назначались антибиотики. В исследуемую группу были включены пациенты, получающие АБТ по схеме с учетом динамики концентрации теста на прокальцитонин в сыворотке/плазме крови. Контрольную группу составили пациенты, которым АБТ назначалась по схеме, установленной действующими стандартами медицинской помощи.

В анализ были включены пациенты с подозрением и/или доказанной инфекцией в качестве основного диагноза, проходившие лечение в ОРИТ. Основной конечной точкой эффективности была продолжительность лечения антибиотиками в днях использования АТ.

Исходные данные пациентов были аналогичны между группами Исследуемая группа РСТ и Контрольная группа. Около 50% пациентов находились в ОРИТ с инфекционной легочной патологией 43,1% и 42,9% соответственно, около 20% составили пациенты с инфекцией кровотока 22,2% и 19,8% соответственно, инфекции брюшной полости 9,5% и 7,8% соответственно, инфекция мочевыводящих путей - 6,3% и 3,9%. В Таблице 30 перечислены дополнительные базовые характеристики. Между клиническими характеристиками пациентов в группах статистических различий не выявлено. Концентрация прокальцитонина при поступлении достоверно отличалась в отобранных группах: медианные значения РСТ были выше в контрольной группе: 16.3 нг/мл [95% CI 10.7–43.7] против 3.9 нг/мл [95% CI 1.5–6.5] в исследуемой ($p < 0,0001$).

Стратегия ведения пациентов ОРИТ с сепсисом и инфекционными осложнениями по лечению АБП под контролем теста на РСТ была следующая:

- Начало лечения антибиотиками у пациентов в критическом состоянии основывалось на клиническом решении, принятого врачом ОРИТ по клиническим признакам сепсиса и тяжелых инфекций.
- Протокол использовали для поддержки решения врача о продолжении/прекращении лечения антибиотиками.
- Лечение антибиотиками прекращали при снижении концентрации уровня РСТ крови до 20% от пикового уровня и/или ниже 0,5 нг/мл, клиренс РСТ $> 80\%$ в сочетании с клиническим улучшением.

- Если уровни PCT не снижались у пациента с клиническим улучшением, проводился диагностический поиск состояний, не связанных с бактериальными инфекциями, при которых уровень концентрации PCT в крови может повышаться.



Рисунок 11. Схема обследования пациентов ОРИТ с сепсисом и инфекционными осложнениями по лечению АБП под контролем теста на прокальцитонин.

Рекомендации по использованию теста на PCT при АБТ способствовали более раннему прекращению приема антибиотиков сокращая продолжительность лечения: Среднее значение 7,762 дня [95% CI 7.043-8.481] в исследуемой группе против 9.627 дней [95% CI 8.601-10.654] в контрольной, $p = 0,0053$ (< 0.05). Характеристика длительности антибактериальной терапии (дни) в изучаемых группах представлена в таблице 30 и на рисунке 12.

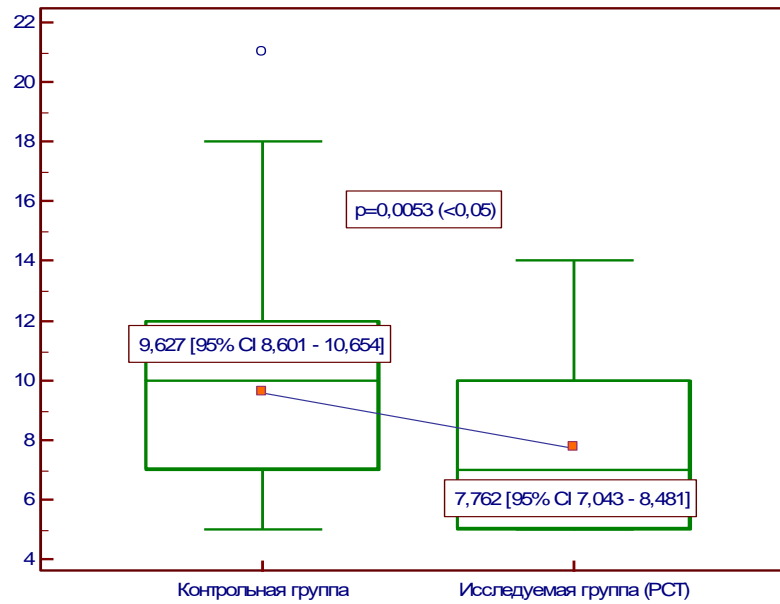


Рисунок 12. Сравнение длительности антибактериальной терапии пациентов контрольной группы и группы обследуемой по критерию Манн-Уитни.

Таблица 30.

Статистические характеристики длительности антибактериальной терапии (дни) в изучаемых группах

	Контрольная группа ($n = 51$)	Обследуемая группа (PCT) ($n = 63$)
Minimum	5	5
Maximum	21	14
Среднее значение	9,627	7,762
95% CI	8,601 - 10,654	7,043 - 8,481
Медиана	10	7
95% CI	7,000 - 10,000	7,000 - 7,000
SD	3,6494	2,8552
2.5 - 97.5 перцентиль	5,000 - 18,675	5,000 - 14,000

Рекомендации по использованию теста на прокальцитонин способствовали более раннему прекращению приема АБП, сокращая продолжительность лечения: среднее значение 7,8 дня [95% CI 7.0-8.5] в обследуемой группе против 9.6 дней [95% CI 8.6-10.7] в контрольной ($p < 0.05$). При этом количество нежелательных

исходов в группах не различалось. Так же в исследуемой группе не отмечалось ухудшения состояния больных согласно шкалам qSOFA, SOFA и APACHE II.

Ранняя диагностика, в сочетании с началом адекватного лечения антибиотиками является важным вопросом лечения сепсиса. После начала лечения, наблюдение за пациентами имеет первостепенное значение для выявления пациентов с благоприятным течением заболевания, которые подвержены низкому риску осложнений, у которых возможно раннее прекращение антибактериальной терапии. Таким образом, нами отмечена важность ежедневной оценки риска для пациента с использованием объективных прогностических параметров. В дополнение к клиническим параметрам, тест на РСТ может помочь при оценке реакции на АБТ в принятии решений о начале и отмене АБТ. В проведенном исследовании, нами изучалась кинетика РСТ в динамике 0/48/120 часов в ОРИТ, подтвержден прогностический потенциал РСТ независимо от других клинико-лабораторных показателей. Раннее выявление лиц, не отвечающих на лечение, может предотвратить нежелательные явления. Тест на РСТ предоставляет дополнительную информацию у пациентов с сепсисом и может влиять на принятие решения о месте оказания медицинской помощи в ОРИТ. Длительное воздействие АБТ может оказывать токсическое действие, следовательно, может увеличить риск неэффективности лечения у пациентов контрольной группы. Значения теста на РСТ также могут сориентировать врачей ОРИТ к дальнейшему обследованию пациентов, что может привести к уменьшению риска неадекватного лечения, связанного с более ранней деэскалацией антибиотиков у пациентов с сепсисом и тяжелыми инфекциями.

Лечение АБП под контролем теста на прокальцитонин у пациентов с тяжелой инфекцией, сепсисом и ССВР в отделении интенсивной терапии приводит к сокращению продолжительности лечения антибиотиками по нашим данным в среднем на 1,87 дней. Эффекты были сходными у пациентов с сепсисом и между подгруппами Обследуемая группа и Контрольная группа, в зависимости от тяжести сепсиса, типа инфекции и методов лечения. В качестве лабораторного

маркера показатели уровня РСТ в сыворотке/плазме крови имеют свои сильные и слабые стороны, а ценность измерения теста на РСТ зависит от множества дополнительных факторов в каждой конкретной ситуации.

3.2.2. Исследование диагностических характеристик пресепсина у пациентов, поступивших в ОРИТ с признаками сепсиса и тяжелых инфекций

Пресепсин обсуждается в настоящее время как один из потенциальных маркеров септических состояний. Для определения его роли и месте в диагностике этого тяжелого состояния представляется значимым выявить его диагностические характеристики у пациентов, поступивших в отделения интенсивной терапии с признаками сепсиса, ССВР и тяжелых инфекций. Нами были изучены возможности использования теста PSEP как маркера развития инфекционных осложнений у пациентов, поступивших в ОРИТ с подозрением на сепсис и ССВР. В Таблице 31, представлены медианные значения, межквартильные диапазоны (25-й и 75-й процентиля) в динамике 0-24 часа, 48 и 120 часов в стратифицированных группах пациентов.

Таблица 31.

Медианные значения, межквартильные диапазоны (25-й и 75-й процентиля) при поступлении 0-24 часа, через 48 и 120 часов 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	759,5 [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 пресепсин 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. На рисунке 13 графически представлены концентрации маркера пресепсина в группах пациентов с подтвержденной клиникой инфекционного процесса и без инфекционных осложнений.

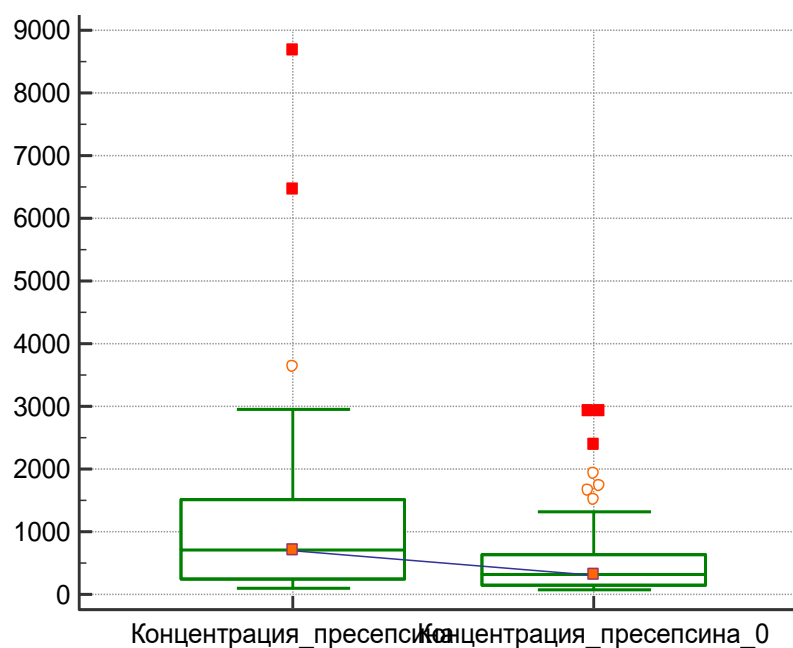


Рисунок 13. Концентрация пресепсина в группах пациентов с подтвержденной клиникой инфекционного процесса и без инфекционных осложнений.

Полученные данные свидетельствуют, что различия значений медиан концентраций пресепсина в группах пациентов с подтвержденной клиникой инфекционного процесса и без инфекционных осложнений - статистически достоверны ($p < 0,05$).

Нами были определены значения AUC ROC с определением площади под характеристической кривой cut off, чувствительность и специфичность теста на пресепсин, как биомаркера для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений, а также 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 32.

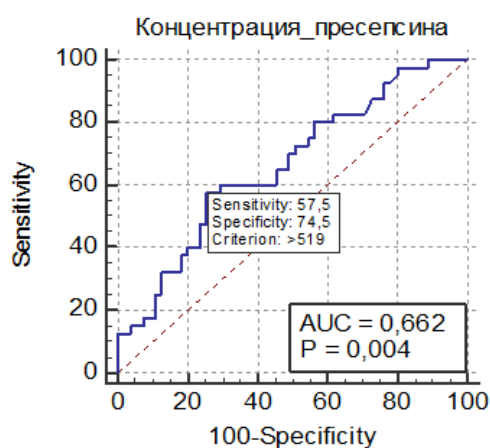
Таблица 32.

Характеристики пресепсина 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 (AUC ROC)	0,662	0,551	0,707

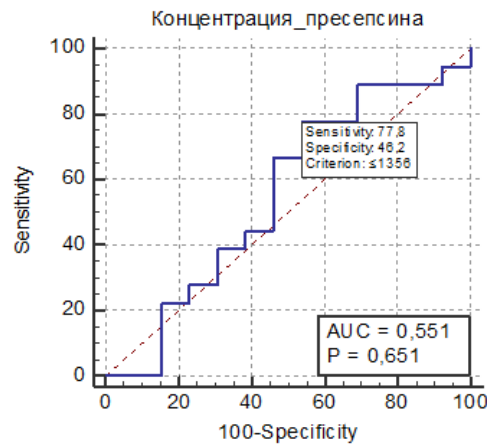
Уровень значимости P	0,0042	0,6509	0,0978
----------------------	--------	--------	--------

Установлено, что оптимальные пороговые значения для PSEP как биомаркера для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений; при поступлении > 519 пг/мл (57,5% чувствительности и 74,5% специфичности), через 48 - ≤ 1356 пг/мл (77,78% чувствительности и 46,2% специфичности), через 120 часов - ≤ 1423 пг/мл (85,7% чувствительности и 70,0% специфичности), ППЗ: 62,2; 66,7; 80,0 и ОПЗ: 70,7; 60,0; 77,8 - соответственно.



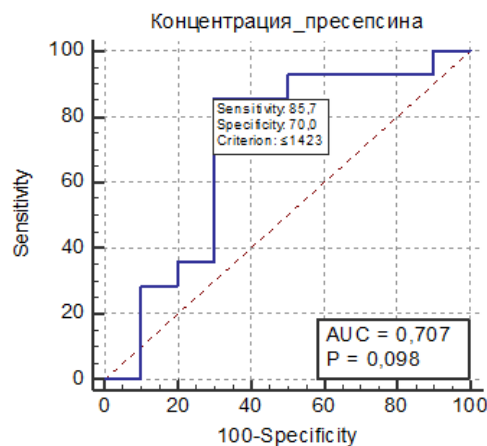
Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,662	0,057	0,004	0,557	0,756

Рисунок 14. Чувствительность и специфичность PSEP при поступлении 0-24 часа в ОРИТ для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений.



Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,551	0,060	0,206	0,470	0,677

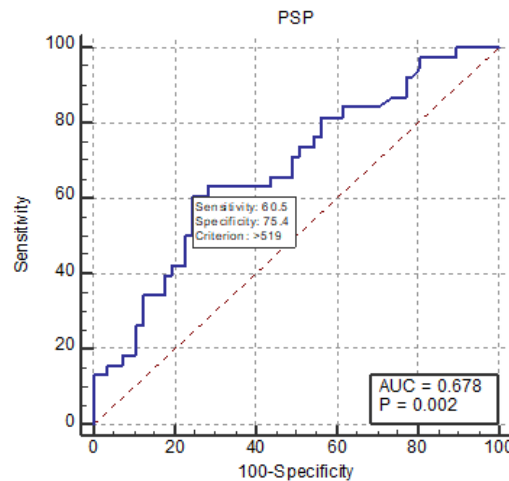
Рисунок 15. Чувствительность и специфичность PSEP через 48 часов поступления в ОРИТ, для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений.



Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,707	0,125	0,097	0,488	0,873

Рисунок 16. Чувствительность и специфичность PSEP через 120 часов поступления в ОРИТ, пг/мл для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений.

Были определены значения чувствительности и специфичности пресепсина при использовании рекомендованного производителем Cut off уровня в 337 пг/мл для дискриминации между здоровыми лицами и пациентами с сепсисом и ССВР при поступлении в ОРИТ. С использованием этого значения получены следующие диагностические характеристики теста: чувствительность – 66%, специфичность 54%, положительная прогностическая значимость – 49%, отрицательная прогностическая значимость – 70%. Проведенный ROC-анализ для дискриминации между пациентами с сепсисом и прочими пациентами, поступившими в реанимационном отделении графически представлен на Рисунке 17, чувствительность и специфичность теста на пресепсин для диагностики сепсиса при различных значениях Cut-off в Таблице 33.



Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,707	0,125	0,097	0,574	0,770

Рисунок 17. ROC-анализ для дискриминации между пациентами с сепсисом и прочими пациентами.

Чувствительность и специфичность пресепсина для диагностики сепсиса при различных значениях Cut-off

Критерий	Чувствительность	95% CI	Специфичность	95% CI
>308	65,79	48,6-80,4	50,88	37,3-64,4
>350	65,79	48,6-80,4	56,14	42,4-69,3
>373	63,16	46,0-78,2	56,14	42,4-69,3
>488	63,16	46,0-78,2	71,93	58,5-83,0
>499	60,53	43,4-76,0	71,93	58,5-83,0
<u>>519</u>	<u>60,53</u>	<u>43,4-76,0</u>	<u>75,44</u>	<u>62,2-85,9</u>
>703	50	33,4-66,6	75,44	62,2-85,9
>726	50	33,4-66,6	77,19	64,2-87,3
>774	42,11	26,3-59,2	77,19	64,2-87,3
>919	42,11	26,3-59,2	80,7	68,1-90,0

Установлено, что оптимальные пороговые значения для PSEP как биомаркера для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений максимальная площадь под кривой AUC ROC достигается при отрезном cut off уровне > 519 пг/мл, чувствительность 60,5%, специфичность 75,4%.

3.2.3. Исследование диагностических характеристик проадреномедулина у пациентов, поступивших в ОРИТ с признаками сепсиса и тяжелых инфекций

Полиорганная недостаточность является одной из основных проблем пациентов с сепсисом и ССВР. Согласно данным проведенных ранее исследований [319, 322] предполагается, что концентрация среднерегионального проадреномедулина отражает риск развития ПОН, а наблюдение за концентрацией MR-proADM крови в динамике, значительно увеличивает точность в оценке риска инфекционных процессов у пациентов ОРИТ. В нашем ретроспективном исследовании была проведена оценка концентрации MR-proADM в группах пациентов с подтвержденной клиникой инфекционного процесса и без инфекционных осложнений. Концентрация данного биомаркера в крови измеряли в динамике: при поступлении 0-24 часа, через 48 и 120 часов. Данные медианных значений MR-proADM в динамике представлены в Таблице 34.

Таблица 34.

Медианные значения, межквартильные диапазоны (25-й и 75-й процентиля) MR-proADM при поступлении 0-24 часа, через 48 и 120 часов 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).

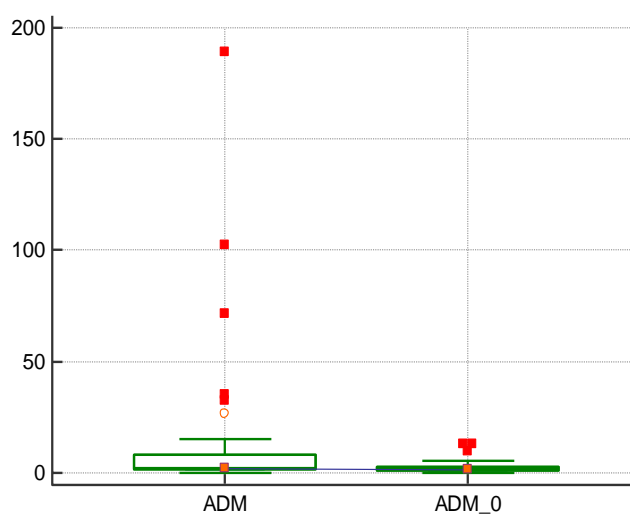


Рисунок 18. Концентрация MR-proADM в группах пациентов с подтвержденной клиникой инфекционного процесса и без инфекционных осложнений.

Нами были 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

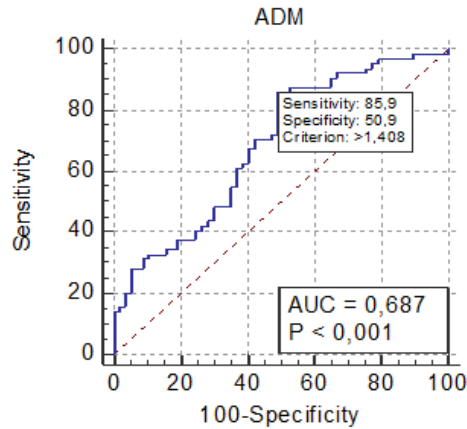
при выбранном Cut off. Характеристики MR-proADM, как маркера риска развития инфекционных осложнений у пациентов, поступивших в ОРИТ с подозрением на сепсис и ССВР представлены в Таблице 35.

Таблица 35.

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

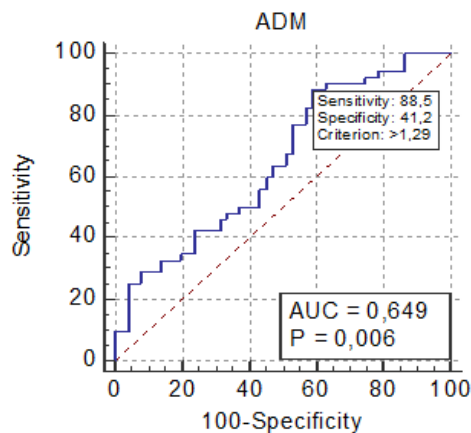
MR-proADM	0-24 часа	48 часов	120 часов
Cut off нмоль/л	> 1,408	> 1,29	> 1,524
Чувствительность	86,0	88,5	89,1
Специфичность	50,9	41,2	45,2
Положительная прогностическая значимость	66,3	60,5	70,7
Отрицательная прогностическая значимость	76,3	77,8	73,7
Площадь под кривой (AUC ROC)	0,662	0,649	0,676
Уровень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

Установлено, что оптимальные пороговые значения для MR-proADM как биомаркера для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений; при поступлении > 1,408 нмоль/л (86,0% чувствительности и 50,9% специфичности), через 48 - > 1,29 нмоль/л (88,5% чувствительности и 41,2% специфичности), через 120 часов - > 1,524 нмоль/л (89,1% чувствительности и 45,2% специфичности), ППЗ: 66,3; 60,5; 70,7и ОПЗ: 76,3; 77,8; 73,7-соответственно.



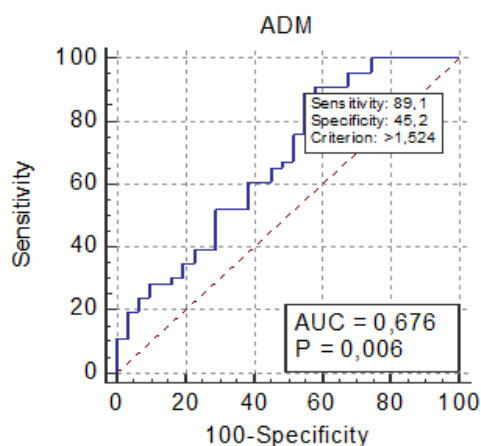
Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,707	0,125	0,097	0,596	0,768

Рисунок 19. Чувствительность и специфичность MR-proADM при поступлении 0-24 часа в ОРИТ для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений.



Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,707	0,125	0,097	0,549	0,741

Рисунок 20. Чувствительность и специфичность MR-proADM при поступлении 48 часов в ОРИТ, для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений.



Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,707	0,125	0,097	0,560	0,778

Рисунок 21. Чувствительность и специфичность MR-proADM при поступлении 120 часов в ОРИТ, для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений.

3.2.4. Исследование прогностического значения лабораторных маркеров сепсиса и ПОН у пациентов ОРИТ

3.2.4.1. Изучение корреляции лабораторных маркеров ССВР и ПОН

На первом этапе исследования оценивались корреляции между биомаркерами: прокальцитонином (PCT) и проадреномедуллином (MR-proADM) с другими лабораторными маркерами системного воспаления и полиорганной дисфункции: креатинином, лактатом, С-реактивным белком, количеством лейкоцитов, тромбоцитов, нейтрофилов.

На втором этапе в той же выборке пациентов изучали характеристики прокальцитонина, проадреномедулина и их клиренса для диагностики сепсиса и для прогноза неблагоприятного исхода.

Всего анализировали биологический материал от 127 пациентов, поступивших в реанимационные отделения стационара с подозрением на сепсис и

ССВР. Пациенты были разделены на две группы в зависимости от исхода заболевания (с благоприятным исходом/ с неблагоприятным исходом). Корреляция лабораторных маркеров (PCT, MR-proADM, креатинин, лактат, CRP, количество лейкоцитов, тромбоцитов, нейтрофилов) оценивалась как в целом, так и в составе групп.

Для оценки взаимосвязи был выбран расчет коэффициента корреляции Спирмена (ρ), так как распределение маркеров не является Гауссовым. Для оценки нормальности распределения использовали тест Колмогорова-Смирнова. Значения коэффициента корреляции Спирмена (ρ) для пар биомаркеров представлены в Таблице 36. Пары биомаркеров, для которых $\rho > 0.5$ - выделены.

Таблица 36.

Значения коэффициента корреляции Спирмена для пар биологических маркеров

Биомаркеры	Вся выборка	С благоприятным исходом	С неблагоприятным исходом
PCT/MR-proADM	<u>0.55</u>	<u>0.69</u>	0.38
MR-proADM/креатинин	<u>0.55</u>	<u>0.63</u>	0.41
MR-proADM/лактат	<u>0.71</u>	0.44	<u>0.56</u>
MR-proADM/тромбоциты	<u>-0.72</u>	-0.09	<u>-0.70</u>
PCT/креатинин	0.47	<u>0.52</u>	0.36
PCT/тромбоциты	<u>-0.57</u>	-0.37	<u>-0.63</u>
MR-proADM/лейкоциты	-0.20	-0.18	-0.18
MR-proADM/Neu%	0.02	0.44	-0.07
MR-proADM/Neu	-0.12	0.21	-0.13
PCT/лейкоциты	0.06	-0.09	0.09
PCT/Neu%	0.12	0.13	0.12
PCT/Neu	0.14	0.11	0.14
PCT/CRP	0.08	0.06	0.05

PCТ/лактат	0.24	0.20	0.16
------------	------	------	------

Значимые результаты корреляции лабораторных маркеров (коэффициент корреляции $> 0,5$) были получены для PCТ/MR-proADM, PCТ/креатинин, MR-proADM/креатинин, MR-proADM/лактат, MR-proADM/тромбоциты, PCТ/тромбоциты. При этом следует отметить, что для показателя тромбоцитов наблюдалась отрицательная корреляция как с уровнем прокальцитонина, так и с уровнем проадренномедулина.

Наиболее значимая корреляция наблюдалась в группе пациентов с благоприятным исходом для PCТ/MR-proADM, в группе пациентов с неблагоприятным исходом - MR-proADM/тромбоциты. Корреляционные диаграммы представлены на Рисунок 22 и Рисунок 23 соответственно.

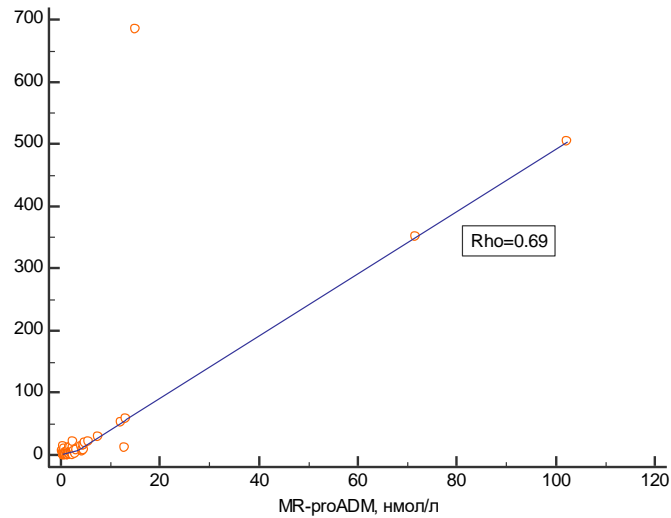


Рисунок 22. Корреляции лабораторных маркеров PCT/MR-proADM в группе пациентов с благоприятным исходом.

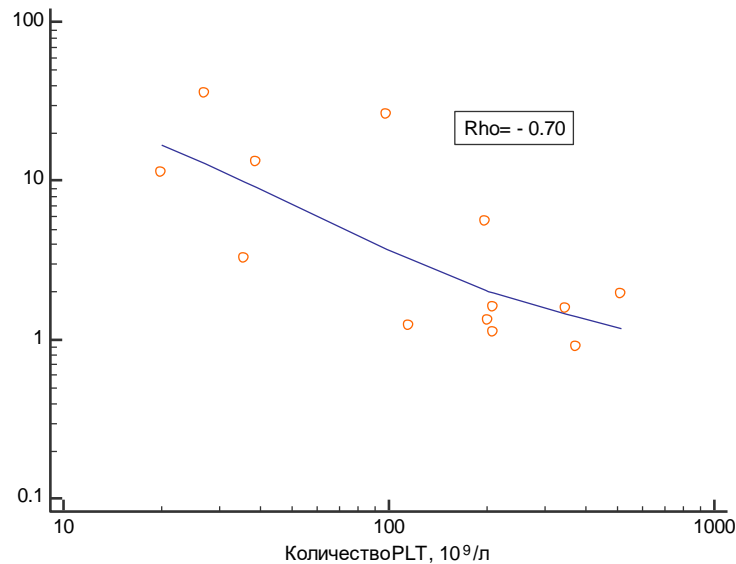


Рисунок 23. Корреляции лабораторных маркеров MR-proADM/тромбоциты в группе пациентов с неблагоприятным исходом.

Полученные нами данные могут представлять интерес при формировании диагностических панелей лабораторных маркеров для обследования пациентов, поступающих в отделения интенсивной терапии с подозрением на сепсис, ССВР и тяжелые инфекции.

3.2.4.2. Лабораторные маркеры ССВР и ПОН для оценки прогноза неблагоприятного исхода

Рутинные лабораторные маркеры, применяемые для диагностики сепсиса и ССВР не всегда являются специфичными, но при этом предоставляют важную информацию о пациенте (состоянии и функции систем организма, помогают выявить дисфункцию органов). Поэтому в исследовании нами оценивалась концентрация не только признанных биомаркеров септического состояния (PCT, CRP и MR-proADM), но и показателей креатинина (CREA), лактата (Lac), общего билирубина (TBIL), количества лейкоцитов (LEU), нейтрофилов (абсолютного числа - NEU и в процентах - NEU%), тромбоцитов (PLT).

Кроме этого, был определен референсный интервал для прокальцитонина и проадреномедулина. Распределение обоих маркеров не является Гауссовым. После проверки на выбросы референсные интервалы (Non-parametric percentile method (CLSI C28-A3)) составили 0,03–0,65 нг/мл для PCT и 0,2–0,55 нмоль/л для MR-proADM, медиана 0,14 нг/мл и 0,4 нмоль/л соответственно.

При сопоставлении медианных значений концентраций, исследуемых биомаркеров в стратифицированных группах пациентов (с благоприятным исходом/с неблагоприятным исходом) 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 (Манн-Уитни тест) представлены в Таблице 27.

Таблица 37.

Медианные значения, межквартильные диапазоны (25-й и 75-й процентиля) при поступлении, через 24 часа и 120 часов в стратифицированных группах и p по критерию Манна-Уитни (n.s. – различия не достоверны (non significant))

Биомаркер	Пациенты с благоприятным исходом	Пациенты с неблагоприятным исходом (28 дней)	p 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	1,7 [1,4-2,2]	3,1 [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	2,1 [1,7-2,6]	2,1 [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]	11,5 [2,20-39,24]	<u>0,021 (< 0,05)</u>
MR-proADM нмоль/л	1,4 [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</u> (< 0,05)
Лактат ммоль/л	1,6 [1,4-2,4]	1,9 [1,1-3,48]	0,862 (n.s.)
CRP нг/мл	47,7 [18,9-119,8]	203 [134,5-211,3]	<u>0,027</u> (< 0,05)

Обращает на себя внимание, что в данной выборке пациентов на 1 сутки пребывания в ОРИТ не было достоверных различий в группах для PCT, 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.

Синтез MR-proADM и PCT, опосредован через экспрессию генов семейства кальцитонина (CALC), которая происходит под действием провоспалительных цитокинов и липополисахаридов. В ответ на бактериальные эндотоксины уровень PCT быстро возрастает в течение 3–4 ч с достижением пика к 6–24 часам после инфицирования и остается высоким на протяжении 24–48 часов. Период полувыведения PCT составляет около 24 часов [259]. Адренomedуллин обладает коротким периодом полураспада (22 минуты) в циркулирующей крови, быстро разрушается протеазами и формирует комплексы с циркулирующим фактором комплемента H. MR-proADM отщепляется от предшественника молекулы ADM, соотношение MR-proADM и ADM составляет 1:1. Как и для прокальцитонина под действием эндотоксинов максимум концентрации MR-proADM достигается через 6 часов [196, 197].

3.2.4.3. Использование PSEP как лабораторного маркера для прогноза неблагоприятного исхода при сепсисе

Для оценки эффективности использования лабораторного маркера пресепсин у пациентов, поступивших в реанимационном отделении для изучения прогноза исхода заболевания все больные были стратифицированы на две группы: пациенты с неблагоприятным исходом до 28 дней в ОРИТ ($n = 28$) и пациенты с благоприятным исходом ($n = 67$). Медианные значения маркера при поступлении и межквартильный размах в группах составили 831,5 [307.0-1760.0] пг/мл и 304 [140.5-736.7], достоверность различий по критерию Манн-Уитни $p = 0.0020$ ($p < 0,05$) Концентрации маркера PSEP у пациентов с благоприятным исходом и пациентов с неблагоприятным исходом представлены на рисунке 24.

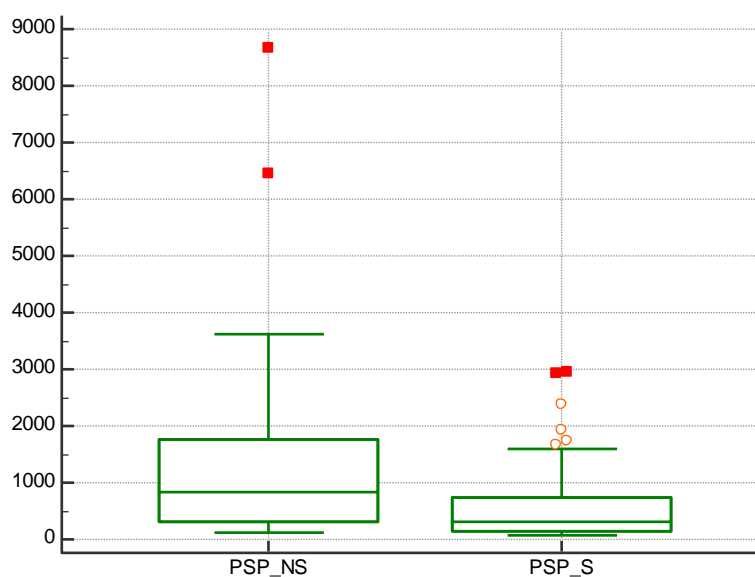
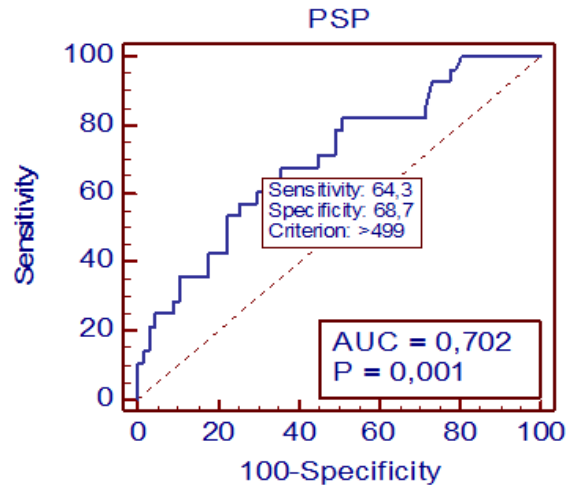


Рисунок 24. Концентрация маркера PSEP у пациентов с благоприятным исходом и пациентов с неблагоприятным исходом.

Нами были определены значения AUC ROC анализа с определением площади под характеристической кривой, чувствительность и специфичность концентрации PSEP, как биомаркера для стратификации пациентов по исходам, данные представлены на Рисунке 25. Отметим, что максимальная площадь под

кривой (AUC ROC) достигается при отрезном cut off уровне > 499 пг/мл, чувствительность и специфичность теста составила 64,3% и 68,7% соответственно. Чувствительность и специфичность теста на PSEP для прогноза неблагоприятного исхода при различных значениях cut-off представлены в Таблице 38.



Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,702	0,058	0,0006	0,599	0,791

Рисунок 25. ROC-анализ использования теста на PSEP для стратификации пациентов по исходам.

Таблица 38.

Чувствительность и специфичность теста на PSEP для прогноза неблагоприятного исхода при различных значениях cut-off

Критерий	Чувствительность,%	95% CI	Специфичность,%	95% CI
>350	71,43	51,3-86,8	55,22	42,6-67,4
>373	67,86	47,6-84,1	55,22	42,6-67,4
>464	67,86	47,6-84,1	64,18	51,5-75,5

>481	64,29	44,1-81,4	64,18	51,5-75,5
<u>>499</u>	<u>64,29</u>	<u>44,1-81,4</u>	<u>68,66</u>	<u>56,2-79,4</u>
>506	60,71	40,6-78,5	68,66	56,2-79,4
>519	60,71	40,6-78,5	70,15	57,7-80,7
>610	57,14	37,2-75,5	70,15	57,7-80,7
>703	57,14	37,2-75,5	74,63	62,5-84,5

Для оценки эффективности антибиотикотерапии при помощи теста на PSEP использовали расчет клиренса пресепсина в группе септических пациентов ($n = 21$), для которых были изучены данные в динамике (Таблица 39).

Таблица 39.

Клиренс пресепсина для оценки эффективности антибиотикотерапии

	Клиренс пресепсина,%		
	Через 24 часа	Через 48 часов	Через 120 часов
	Терапия эффективна		
Кол-во пациентов	11	8	7
Медиана	24 [(-12)-48]	29 [4-74]	72 [(-11)-90]
	Терапия неэффективна		
Кол-во пациентов	10	10	8
Медиана	(-42,5) [(-129)-9]	(-8) [(-288)-47]	(-9,5) [(-222)-29]
Критерий Манн-Уитни	<u>$p = 0,011 (< 0,05)$</u>	$p = 0,155 (> 0,05)$	<u>$p = 0,021 (< 0,05)$</u>

Несмотря на то, что для клиренса PSEP на 1 сутки (24 часа) и 5 суток (120 часов) выявлена достоверность различия между группами, результаты следует интерпретировать с осторожностью, в связи с малым объемом выборки.

Концентрация PSEP, в крови у пациентов при поступлении в отделения интенсивной терапии с подозрением на сепсис и ССВР, достоверно отличается как в группах септических и несептических пациентов, так и в группе пациентов с благоприятным исходом и в группе пациентов с неблагоприятным исходом. Но в группах септических и несептических пациентов при наблюдении в динамике (на 1, 2 и 5 сутки) не получено достоверных различий в концентрации данного лабораторного маркера. Оценка возможности использования расчета клиренса PSEP для контроля антибиотикотерапии выявила достоверное различие между эффективной и неэффективной терапией на 1 сутки (24 часа) и 5 суток (120 часов), но результаты следует интерпретировать с осторожностью, в связи с малым объемом выборки. Это, косвенно, подтверждается отсутствием достоверных различий на 2 сутки (48 часов). Суммируя вышеизложенное можно высказать предположение, что использование теста на PSEP как прогностического маркера сепсиса не выявило дополнительных преимуществ по сравнению с другими маркерами септических состояний (PCT, MR-proADM, CRP).

3.2.4.4. Использование теста на PCT для оценки прогноза риска развития инфекционных осложнений у пациентов ОРИТ поступивших с подозрением на ОКС

В данном исследовании нами была изучена возможность использования теста на PCT как лабораторного маркера прогноза развития инфекционных осложнений у пациентов, поступивших в ОРИТ с подозрением на острый коронарный синдром (ОКС), во время последующей госпитализации. При поступлении всем включенным в выборку пациентам помимо стандартного обследования измерялся уровень PCT. В анализируемую группу вошли пациенты

при значении теста на РСТ < 10,0 нг/мл. Пациенты, у которых были отмечены клинические и лабораторные признаки ССВР (повышение температуры тела, тахикардия, тахипное, лейкоцитоз, повышение биохимических маркеров) и была микробиологически или клинически доказанная инфекция, были определены в группу с подтвержденной клиникой инфекционного процесса (n = 62), остальные пациенты отнесены в группу без клиники инфекционного процесса (n = 92).

Значения медианных значений прокальцитонина, межквартильных диапазонов (25-ый процентиль и 75 процентиль) и критерии сравнения Манна-Уитни (Mann-Whitney) в стратифицированных группах представлены в Таблице 40.

Таблица 40.

Значения медиан, межквартильных диапазонов (25 процентиль и 75 процентиль) концентрации прокальцитонина и тест Манна-Уитни в группах

	С подтвержденной клиникой инфекционного процесса (n = 62)	Без клиники инфекционного процесса (n = 92)	Манн-Уитни тест
При поступлении в ОРИТ			
РСТ нг/мл	1,38 [0,43-4,04]	0,14 [0,08-0,29]	<u>p < 0,0001</u>

На рисунке 26 представлена концентрация прокальцитонина в группах пациентов с подтвержденной клиникой инфекционного процесса и без инфекционных осложнений.

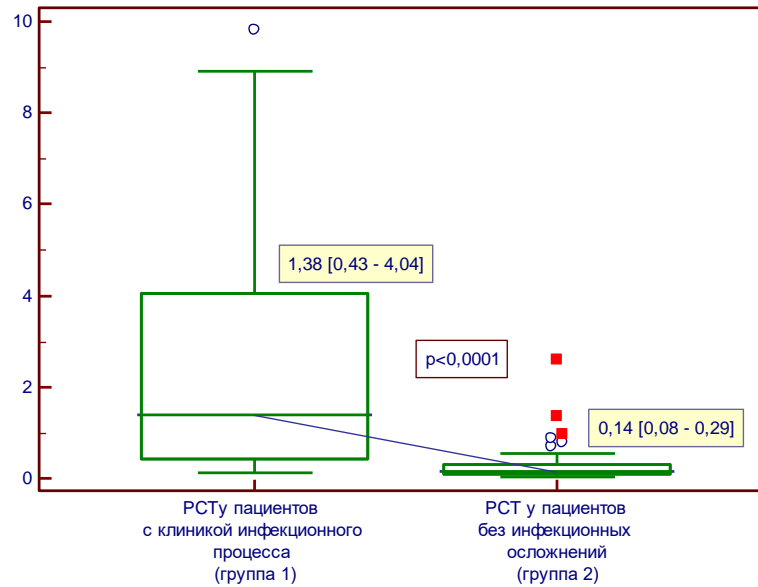


Рисунок 26. Концентрация теста на PCT в группах пациентов с подтвержденной клиникой инфекционного процесса и без инфекционных осложнений.

Полученные данные свидетельствуют, что различия значений медиан концентраций прокальцитонина у пациентов с инфекционными осложнениями и без инфекционных осложнений статистически достоверны ($p < 0,0001$).

Так же нами были определены значения AUC ROC анализа с определением площади под характеристической кривой cut off, чувствительность и специфичность PCT как прогностического маркера для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений, а также определена ППЗ и ОПЗ теста при выбранном cut off, данные показаны на рисунке 27. Характеристики прокальцитонина как прогностического маркера риска развития инфекционных осложнений представлены в Таблице 41.

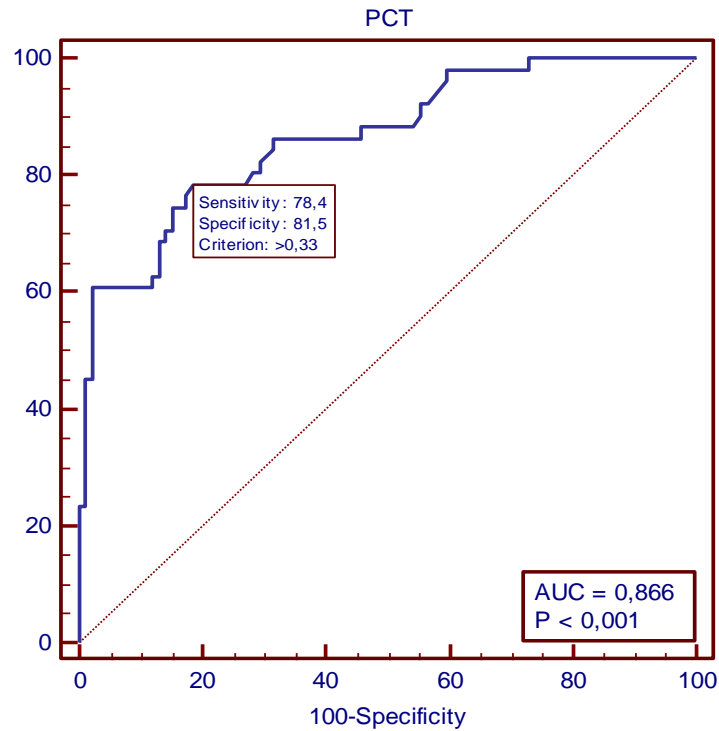


Рисунок 27. Чувствительность и специфичность cut off > 0.33 нг/мл для выявления пациентов с риском развития инфекционных осложнений.

Таблица 41.

Характеристики прокальцитонина как прогностического маркера риска развития инфекционных осложнений

PCT нг/мл	
Cut off	>0,33
Чувствительность	78,4
Специфичность	81,5
Положительная прогностическая значимость	68,9
Отрицательная прогностическая значимость	87,1
Площадь под кривой (AUC ROC)	0,866
Уровень значимости P	<u>< 0,0001</u>

Следует отметить, что cut off теста на PCT для стратификации пациентов по полученным значениям значению ниже, чем рекомендованные референсные интервалы для здоровой популяции (< 0.5 нг/мл). Вероятной причиной увеличения значения теста на PCT у пациентов при поступлении в отделение может являться скрытая инфекция или нарушение регуляции иммунного ответа. Значение теста на PCT при поступлении более $0,33$ нг/мл с достаточной чувствительностью (78,4%) и специфичностью (81,5%) позволяет стратифицировать пациентов с ОКС по риску развития инфекционных осложнений в отделении интенсивной терапии.

3.2.4.5. Клиренс лабораторных маркеров как чувствительный показатель прогноза заболеваний

Рассчитан клиренс лабораторных маркеров CRP, Лактат, PCT, MR-proADM и PSEP, для пациентов ((с благоприятным исходом и не благоприятным исходом (28 дней))):

- Через 24 часа (1 сутки)
- Через 120 часов (5 суток)

По данным литературы, клиренс лабораторных маркеров сепсиса и ССВР может являться более чувствительным показателем для прогноза исхода заболевания [312, 330,]. Надо отметить, что вопросы использования клиренса маркера прокальцитонина при различных патологиях обсуждаются в весомом количестве исследований (более 150 работ по данным PubMed), то информации по использованию клиренса проадренomedулина весьма незначительно (найденно в PubMed 8 работ).

В нашем исследовании были проведены расчеты клиренсов для лабораторных маркеров PCT и MR-proADM в динамике через 24 и 120 часов и оценена достоверность различий в группах (Таблица 42).

Клиренс PCT и клиренс MR-proADM (медианные значения, межквартильные диапазоны (25-й и 75-й процентиля)) через 24 и 120 часов в стратифицированных группах и *p* по критерию Манн-Уитни

Клиренс (%)	С благоприятным исходом	С неблагоприятным исходом (28 дней)	<i>p</i> по критерию Манн-Уитни
Через 24 часа (1 сутки)			
PCT	(+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 суток)			
PCT	(+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. Похожие результаты были получены F. Valenzuela-Sánchez et al. [381]. Графики различий по значению клиренса MR-proADM в стратифицированных группах представлено на Рисунке 27.

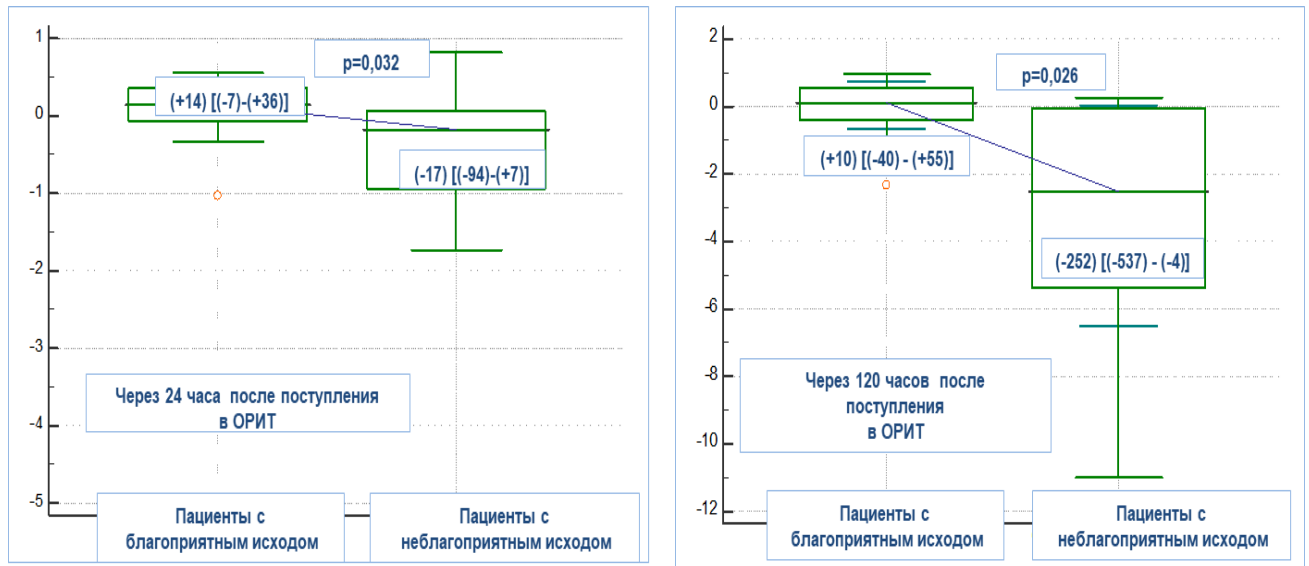


Рисунок 28. Клиренс MR-proADM (медианные значения, межквартильные диапазоны (25-й и 75-й процентиля), минимальное и максимальное значение по выборке) у пациентов с благоприятным исходом и неблагоприятным исходом септических пациентов через 24 часа и на 5 день от поступления в реанимационные отделения по данной выборке.

Для тех лабораторных показателей, у которых были выявлены достоверные различия в группах, методом ROC – анализа мы определили пороги принятия решений cut off применимо к прогнозу исхода заболевания с максимальной чувствительностью и специфичностью тестов. Данные по определяемым порогам принятия решений, чувствительность и специфичность тестов, а также площадь под кривой AUC ROC представлены в Таблице 43.

Пороги принятия решений, их чувствительность и специфичность, площадь под кривой AUC ROC

	Cut off	Чувствительность	Специфичность	Площадь под кривой (AUC ROC)	Уровень значимости (p)
При поступлении в ОРИТ					
MR-proADM нмоль/л	>0,8309	35	92	0,661	0,0089
Креатинин, мкмоль/л	>110	63	69	0,647	0,0043
Лактат, ммоль/л	>2.9	53	93	0,697	0,0071
Через 24 часа (1 сутки)					
<u>Клиренс PCT%</u>	<u>≥ (-43)</u>	<u>43</u>	<u>84</u>	<u>0,673</u>	<u>0,0197</u>
<u>Клиренс MR-proADM%</u>	<u>≥ (-17)</u>	<u>53</u>	<u>89</u>	<u>0,719</u>	<u>0,0234</u>
Через 120 часов (5 сутки)					
PCT нг/мл	>13,73	50	100	0,736	0,0126
MR-proADM нмоль/л	>1,487	100	60	0,856	< 0.0001
Креатинин мкмоль/л	>74	93	60	0,757	0,0221
CRP нг/мл	>80	100	73	0,855	0,0004
<u>Клиренс PCT%</u>	<u>≥ (-16)</u>	<u>64</u>	<u>85</u>	<u>0,761</u>	<u>0,0035</u>
<u>Клиренс MR-proADM%</u>	<u>≥ (-458)</u>	<u>50</u>	<u>100</u>	<u>0,813</u>	<u>0,0027</u>

Следует отметить, достаточно низкую чувствительность большинства исследуемых нами лабораторных показателей при выбранных значениях cut-off для стратификации пациентов по исходам заболеваний. Исключения составил маркер MR-proADM и CRP на 5 сутки и для этих же маркеров отмечена максимальная площадь под характеристической кривой AUC ROC. cut off для оценки клиренса MR-proADM через 120 часов отражает значимое увеличение концентрации среднерегионального проадреномедулина у не выживших пациентов (увеличение почти в 5 раз). Полученные в нашем исследовании значения cut off являются предварительными. Для использования полученных данных о пороговых значениях, исследуемых биомаркеров в клинической практике необходимы дополнительные исследования и формирование консенсуса по алгоритмам принятия решений с учетом данных лабораторных показателей.

Настоящее исследование показало важность расчета клиренса PCT и клиренса MR-proADM, увеличивающее диагностическую ценность этих маркеров, и, несомненно, может быть значимо для определения риска неблагоприятного исхода пациентов ОРИТ. Клиренс PCT и клиренс MR-proADM может являться ранним прогностическим маркером неблагоприятного исхода для больных, находящихся в ОРИТ. Необходимо проведение крупного многоцентрового исследования с участием большего числа пациентов для полного изучения прогностической значимости расчетов клиренса PCT и клиренса MR-proADM.

3.2.5. 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 (Манн-Уитни тест) в исследуемых группах сравнения представлены в таблицах 44 и 45 соответственно.

Анализ изменения биомаркеров у пациентов ОРИТ с клиникой инфекционного процесса (без установленного сепсиса и с установленным сепсисом) в трех контрольных точках представлен в Таблице 44.

Таблица 44.

Медианные значения, межквартильные диапазоны (25-й и 75-й процентиля) при поступлении, через 24 часа и 120 часов и р по критерию Манна-Уитни в группах без установленного сепсиса (группа 1) и с установленным сепсисом (группа 2) (n.s. – различия не достоверны (non significant))

Биомаркер	Группа 1 (n = 63)	Группа 2 (n = 64)	р по критерию 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>
РСТ, нг/мл	2,23 [0,60-6,67]	5,84 [2,41-34,68]	<u>0,0006 (< 0,05)</u>
MR-proADM, нмоль/л	1,49 [0,91-2,82]	2,22 [1,54-7,97]	<u>0,0005 (< 0,05)</u>
PSEP, пг/мл	310,50 [141,00-622,50]	703,00 [254,25-1522,25]	<u>0,0067 (< 0,05)</u>
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.)
РСТ, 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]	0,0090 (< 0,05)
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]	0,0091 (< 0,05)
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).

Анализ изменения биомаркеров у пациентов ОРИТ с установленным сепсисом (SOFA \leq 2) и тяжелым сепсисом (SOFA > 2) в трех контрольных точках представлен в Таблице 45.

Таблица 45.

Медианные значения, межквартильные диапазоны (25-й и 75-й процентиля) при поступлении, через 24 часа и 120 часов и p по критерию Манна-Уитни в группах с установленным сепсисом ($SOFA \leq 2$) (группа 3) и с тяжелым сепсисом ($SOFA > 2$) (группа 4). (n.s. – различия не достоверны (non significant))

Биомаркер	Группа 3 (n = 27)	Группа 4 (n = 37)	p по критерию 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.)
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</u> (< 0,05)
MR-proADM, нмоль/л	1,66[1,54- 2,73]	3,78[2,17- 12,37]	<u>0,0003</u> (< 0,05)
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 только для PCT, MR-proADM, PSEP, и количества лейкоцитов (в зависимости от дня нахождения в отделении интенсивной терапии).

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 46 и для дифференциальной диагностики сепсиса и тяжелого сепсиса в группах 3 и 4 (Таблица 47).

Таблица 46.

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

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.)

Таблица 47.

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

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.)

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. 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 нг/мл; средние значения AUROC (в диапазоне 0,6-0,7) – для концентрации MR-proADM, PSEP и лейкоцитов при поступлении (cut off > 1,408 нг/мл, > 519

пг/мл и $> 12.9 \cdot 10^9$ соответственно); для концентрации PCT и MR-proADM через 48 часов (cut off $> 9,238$ нг/мл и $> 1,29$ нг/мл соответственно); только для концентрации MR-proADM на 5 сутки при использовании cut off $> 1,524$ нг/мл.

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 $> 3,42$ нг/мл и > 1.86 нг/мл; для концентрации PCT, MR-proADM и PSEP через 48 часов (cut off > 4.48 нг/мл, > 2.2 нг/мл и > 749 пг/мл соответственно); для концентрации PCT, MR-proADM и PSEP на 5 сутки (cut off > 2.0 нг/мл, > 1.9 нг/мл и > 525 пг/мл соответственно).

В нашем исследовании изучались маркеры, которые наиболее широко используются в клинической практике, но даже они не позволяют однозначно дифференцировать сепсис от других причин синдрома системного воспалительного ответа, прогнозировать исход и осложнения в развитии дисфункции органов. 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 следующие лабораторные тесты: прокальцитонин, среднерегиональный проадреномедуллин, пресепсин и количество лейкоцитов как позволяющие диагностировать септическое состояние хотя бы в одной из контрольных точек. После анализа литературных данных [37, 116, 298] к этому перечню был добавлен CRP, как доступный лабораторный маркер, широко используемый в клинической практике и имеющий большую доказательную базу по интерпретации его результатов при обследовании

пациентов с подозрением на синдром системного воспалительного ответа. Было определено, что исследуемые лабораторные маркеры независимо связаны с диагнозом. 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 48.

Таблица 48.

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 49) 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.

При определении комбинации маркеров так же учитывалась доступность этих исследований в практическом здравоохранении.

Таблица 49.

Параметры бальной оценки биомаркеров крови у пациентов ОРИТ в критическом состоянии 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 50) и для дифференциальной диагностики сепсиса и тяжелого сепсиса в группах 3 и 4 (данные в Таблице 51).

Таблица 50.

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 (Приложение 4).

Таблица 51.

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

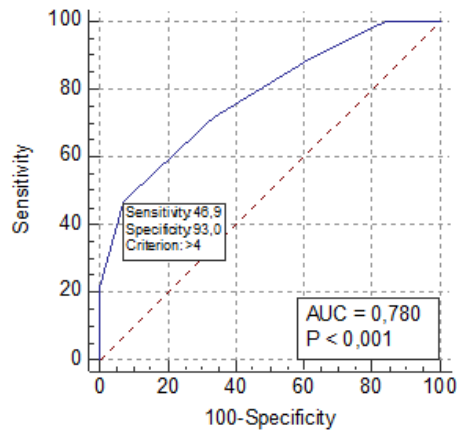
Модель	Cut off	Se (%)	Sp (%)	LR+	LR-	AUROC	Уровень значимости(p)
При поступлении 0-24 часа в ОРИТ							
Для применения	>4	64,86	77,78	2,92	0,45	0,780	<u>< 0.0001</u>
Модель PCL	>3	56,76	70,37	1,92	0,61	0,683	<u>0.0055</u>
Модель ACL	≤1	27,03	88,89	2,43	0,82	0,553	0.625 (n.s.)
Модель PsCL	>2	37,84	70,37	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 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 (Приложение 5).

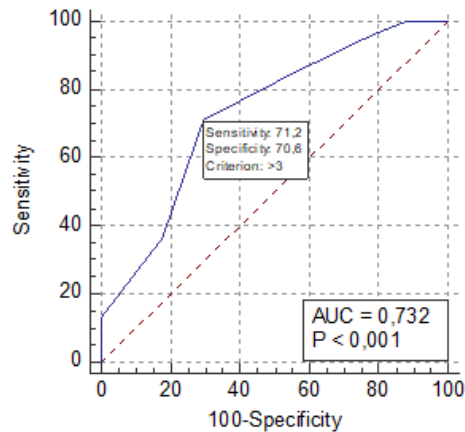
Для диагностики сепсиса у пациентов, госпитализированных в ОРИТ с клиникой инфекционного процесса, все изучаемые модели комбинации биомаркеров показали высокую диагностическую эффективность, при оценке состояния больных при поступлении и через 48 часов пребывания в ОРИТ (площадь под кривой AUROC более 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 28-33 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, 48 часов и 120 часов от поступления в ОРИТ.



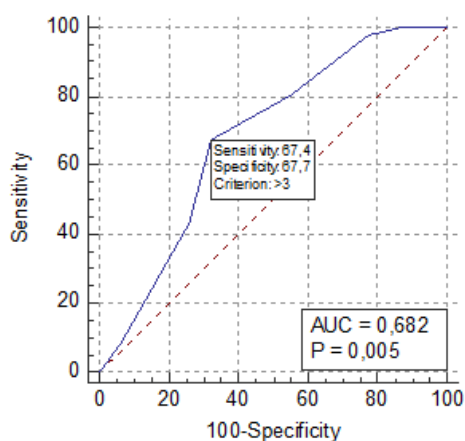
Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,780	0,039	<0,0001	0,696	0,850

Рисунок 29. Характеристические ROC кривые модели PAPsL для диагностики сепсиса у пациентов ОРИТ с клиникой инфекционного процесса при 0-24 поступления в ОРИТ.



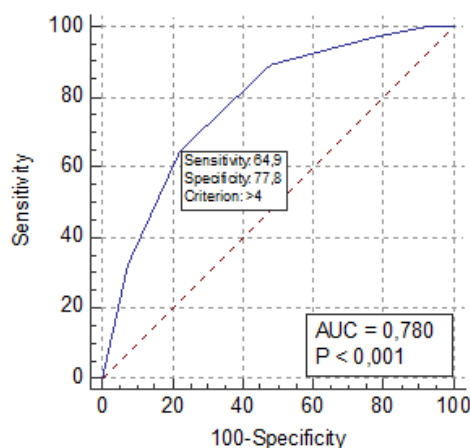
Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,732	0,049	<0,0001	0,636	0,815

Рисунок 30. Характеристические ROC кривые модели PAPsL для диагностики сепсиса у пациентов ОРИТ с клиникой инфекционного процесса через 48 часов от поступления в ОРИТ.



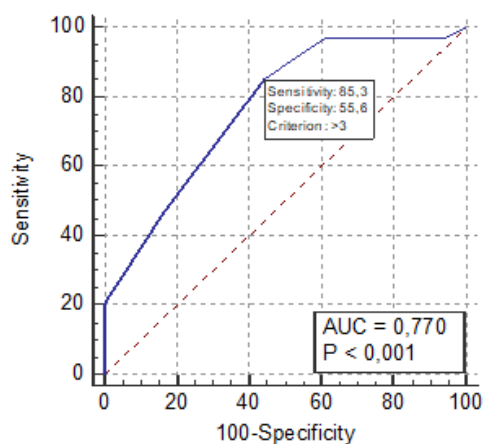
Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,682	0,064	<0,0001	0,566	0,784

Рисунок 31. Характеристические ROC кривые модели PAPsL для диагностики сепсиса у пациентов ОРИТ с клиникой инфекционного процесса через 120 часов от поступления в ОРИТ.



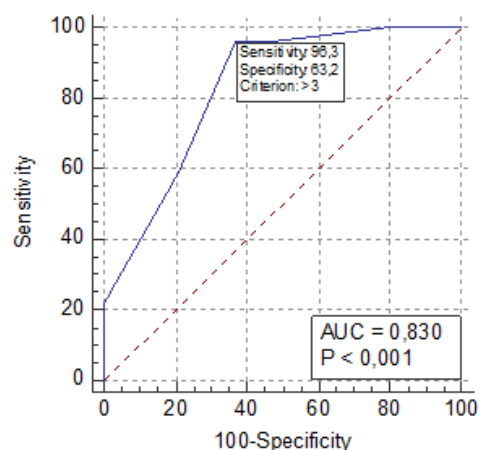
Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,780	0,058	<0,0001	0,659	0,874

Рисунок 32. Характеристические ROC кривые модели PAPsL для дифференциально диагностики сепсиса ($SOFA \leq 2$) и тяжелого сепсиса ($SOFA > 2$) у пациентов ОРИТ при 0-24 часа поступления в ОРИТ.



Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,770	0,067	0,0001	0,633	0,876

Рисунок 33. Характеристические ROC кривые модели PAPsL для дифференциально диагностики сепсиса ($SOFA \leq 2$) и тяжелого сепсиса ($SOFA > 2$) у пациентов ОРИТ через 48 часов от поступления в ОРИТ.



Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,830	0,061	<0,0001	0,691	0,925

Рисунок 34. Характеристические ROC кривые модели PAPsL для дифференциально диагностики сепсиса ($SOFA \leq 2$) и тяжелого сепсиса ($SOFA > 2$) у пациентов ОРИТ 120 часов поступления в ОРИТ.

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

3.2.6. Разработка алгоритма комплексной клинико-лабораторной диагностики сепсиса и тяжелых инфекций для пациентов, поступающих в ОРИТ

Как описано ранее в обзоре литературы, 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. Проблема состоит в том, что концентрации большинства маркерных молекул значительно повышаются не только при развитии септического процесса, но и при развитии любого острого воспалительного заболевания, после травмы или обширного хирургического вмешательства у больных, не имевших септических осложнений в более поздние сроки. 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 проведенного 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 клинико-лабораторный диагностический алгоритм для ранней диагностики сепсиса и ССВР, для мониторинга течения и максимально быстрой коррекции интенсивной терапии

пациентов ОРИТ. Предлагаемый алгоритм представлен в Приложении 3.

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. 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.

По результатам проведенного исследования, предлагаемый алгоритм клиничко-лабораторной диагностики ССВО и сепсиса для пациентов ОРИТ базируется на трех основных и последовательных этапах скрининга: 1) микробиологические исследования; 2) молекулярно – генетические исследования; 3) иммунохимические исследования.

Пациенту с подозрением на инфекцию поступающему в ОРИТ из приемного и/или профильного отделения, врачом отделения интенсивной терапии проводится оценка прогнозирующего течения патологического процесса, угрозы развития органной дисфункции, сепсиса и неблагоприятного исхода, на основании шкал SOFA/qSOFA. При показателе qSOFA/SOFA >2 , при высокой вероятности бактериальной инфекции и наличии неспецифических признаков ССВР, пациента следует рассматривать как находящегося в группе риска по развитию септических осложнений.

При поступлении пациента в ОРИТ, ему выполняется взятие крови на комплексное лабораторное обследование: общий анализ крови, биохимия крови, тест на PCT. Основываясь на имеющихся данных, тест на PCT $< 0,5$ нг/мл, бактериальная инфекция маловероятна, результат теста на PCT $\geq 0,5$ нг/мл, можно рассматривать как высокую вероятность присутствия бактериальной инфекции.

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 21. 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.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Лабораторная диагностика сепсиса представляет одну из наиболее актуальных проблем современной медицины в мире. При развитии сепсиса в условиях многопрофильного стационара, особенно в ОРИТ, можно говорить о том, что причиной чаще всего являются больничные, полирезистентные штаммы микроорганизмов. В нашей работе, мы видели необходимость разработать подходы к активному выявлению больных с таким диагнозом на ранних стадиях. 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 терапии.

Алгоритм клинико-лабораторной диагностики ССВО для пациентов ОРИТ по своей структуре, состоит из трех последовательных этапов скрининга: микробиологических, молекулярно-генетических и иммунохимических исследований.

Пациент с подозрением на инфекцию поступает в ОРИТ из приемного или профильного отделения. Врачом специалистом, на этапе неотложной помощи, у пациента с подозрением на инфекцию, проводится оценка прогнозирования угрозы развития органной дисфункции, сепсиса и неблагоприятного исхода, на основании шкал qSOFA/SOFA. Данные шкалы служат тем методом оценки, который с убедительной долей вероятности, позволяет врачу предположить диагноз сепсис, ССВО при наличии очага инфекции и наличие органной дисфункции.

В настоящем исследовании из 127 (100%) пациентов, тяжесть состояния, с развитием вероятной органной недостаточности которых оценивалась по шкале SOFA, из них 37 (29,1%) определялось значение по шкале $SOFA > 2$ и 90 (70,9%) пациентов значение по шкале $SOFA \leq 2$. Данный показатель использовался для

начальной клинической оценки. При показателе значения по шкале SOFA > 2 или при высокой вероятности бактериальной инфекции, при наличии неспецифических признаков ССВР, пациента следует рассматривать как находящегося в группе риска по развитию септических осложнений.

В предлагаемом алгоритме клинико-лабораторной диагностики сепсиса, в качестве лабораторного маркера, целесообразно использовать высокочувствительный тест на РСТ, который с высокой долей чувствительности и специфичности позволяет выполнять диагностику бактериальной инфекции и оценивать эффективность проводимых лечебных мероприятий. И поэтому следующим шагом в предлагаемом алгоритме клинико-лабораторной диагностики сепсиса при высокой вероятности наличия у пациента бактериальной инфекции, в комплексное лабораторно-диагностическое обследование включен высокочувствительный тест определение концентрации РСТ в крови. Диагностический лабораторный маркер, предоставляет важную информацию о вероятности наличия бактериальной инфекции, нормализации состояния пациента, обладает высоким потенциалом для улучшения клинической оценки пациентов, помощи врачам в принятии значимых клинических решений относительно назначения/отмены АБП и возможного улучшения результатов лечения. Определение уровня концентрации РСТ в крови помогает отличить заболевания бактериальной природы от вирусных, а также возможность снижения назначения АБП и раннего прекращения антибактериальной терапии.

Результат значения теста на РСТ предоставляет ту информацию, которая влияет на решения о проведении дополнительных лабораторных исследований. Основываясь на имеющихся данных, когда тест на РСТ $< 0,5$ нг/мл, то бактериальная инфекция маловероятна, и выполняются доступные лабораторные исследования крови, необходимые для оценки наличия органной дисфункции по шкале SOFA (лактат, креатинин, билирубин, глюкоза). Если при исследовании результат теста на РСТ $50,5$ нг/мл можно предполагать высокую вероятность

бактериальной инфекции, следовательно, переходить к следующему шагу предлагаемого алгоритма клинико-лабораторной диагностики сепсиса и ССВР.

Для эффективного выполнения алгоритма важна корректная диагностика инфекции. В работе, использовали классический микробиологический метод, который является ключевым звеном эпидемиологического мониторинга. Для создания эффективной системы микробиологического мониторинга и обеспечения контроля над инфекциями в ОРИТ и других отделениях стационара ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой», была разработана схема лабораторного мониторинга (Приложение 2). Согласно Национальной концепции профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи основным требованием при оказании качественной медицинской помощи в медицинской организации, является эпидемиологическая безопасность организации лечебно-диагностического процесса. Важно отметить, что приоритетная роль профилактики инфекций отводится микробиологическому мониторингу, в задачи которого входит выявление госпитальных штаммов микроорганизмов, наблюдение их изменчивости и постоянное отслеживание внутри учреждения с эпидемиологическим анализом его результатов. Схема лабораторного мониторинга предназначалась для оценки, соблюдения правил преаналитического этапа, стандартизации лабораторных методов, используемых в лаборатории микробиологии, внешний и внутренний контроль качества микробиологических исследований, консультация врачей специалистов по вопросам АБТ.

Разработанная схема представила собой одну из главных составляющих инфекционного контроля и наблюдения в динамике за распространением инфекций внутри медицинской организации, особенно вызванных резистентными штаммами микроорганизмов и изменчивостью микробного пейзажа в конкретных отделениях.

Особое внимание при создании схемы микробиологического мониторинга инфекций в лаборатории клинической микробиологии мы уделяли оптимизации лабораторных процессов, рациональному использованию ресурсов, грамотной

организации диагностического процесса, применению новых технологий. Были определены составляющие микробиологического мониторинга: использование единых правил подготовки пациента к сбору биологического материала, стандартизация методов выделения и идентификации возбудителей, стандартизация методов определения чувствительности микроорганизмов и интерпретации полученных результатов в соответствии с актуальными клиническими рекомендациями, сбор, обработка и анализ данных с использованием лабораторных информационных систем, использование полученной информации для внедрения практических мероприятий.

Схема организации эпидемиологического мониторинга инфекций была включена в программу повышения квалификации для врачей-специалистов. Разработанная в итоге проделанной работы профессиональная программа повышения квалификации «Микробиологические методы лабораторной диагностики и эпидемиологический мониторинг в отделениях ОРИТ» объемом - 36 академических часов, утверждена ученым советом ФГБУ «ЦГМА» Управления делами президента Российской Федерации (протокол №6 от 13.12.2018 г.).

Одним из важных этапов обеспечения контроля над инфекцией в ОРИТ является микробиологический мониторинг-анализ микробного пейзажа отделения реанимации и интенсивной терапии и отделений стационара, главной задачей которого являлось обнаружение значимых патогенов для возможности быстрой и правильной лабораторной диагностики пациентов с сепсисом, ССВР и тяжелыми инфекциями. По результатам бактериальных посевов, полученных от 1116 пациентов ОРИТ, нами был определен спектр выделяющихся микроорганизмов, который подробно описан в разделе 3.2. Важной задачей было определить встречаемость микроорганизмов группы ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.*).

Классические микробиологические методы позволяют выявить рост той или иной жизнеспособной культуры в питательной среде, зачастую не всегда

отражая полную этиологию септического процесса [6]. В исследовании, на основании изучения микробного пейзажа ОРИТ была сформирована диагностическая панель для ускоренной идентификации возбудителей инфекций кровотока, нозокомиальной пневмонии методом ПЦР-РВ (Таблицы 21 и 25). Причем, данную панель для выявления возбудителей инфекций, можно модифицировать при обнаружении новых значимых патогенов, установленных при анализе микробного пейзажа ОРИТ. Применение молекулярно-биологического метода лабораторной диагностики, позволило идентифицировать большинство клинически значимых патогенов в положительных гемокультурах, определять специфические гены резистентности, ассоциированные с инфекциями кровотока существенно сокращая время получения результатов лабораторного обследования.

С целью обеспечения своевременной эскалации или деэскалации терапии, а также для улучшения клинического результата при подозрении на развитие бактериемии или сепсиса, обработку культур крови для проведения дальнейших лабораторных исследований, необходимо проводить быстро и эффективно. Для выполнения метода гемокультивирования в данном исследовании использовали автоматический бактериологический анализатор «BD BACTEC 9050», для посева крови - флаконы с питательными средами для выявления аэробов и анаэробов. Сделан вывод об оптимальном для эффективной микробиологической диагностики инфекций кровотока, алгоритме одновременного применения не менее 2-х флаконов для культивирования, в том числе для аэробов и анаэробов. Такой подход позволяет выявлять случаи нарушения правил сбора биологического материала на преаналитическом этапе лабораторных исследований. Среднее время выявления «положительных» флаконов по результатам данной работы составило 19 часов для грамотрицательной микрофлоры, 22 часа для грамположительной микрофлоры, 43 часа для грибов. Особенности работы многопрофильного стационара, требования к преаналитическому этапу, высокая стоимость пребывания пациента в ОРИТ,

определяют необходимость выполнения микробиологических исследований крови в круглосуточном режиме, семь дней в неделю.

Для сокращения влияния временного фактора на готовность результатов, сокращение времени получения результатов до 4-6 часов, предлагается сочетание метода гемокультивирования с применением молекулярно-генетических исследований, использование метода ПЦР-РВ, с применением разработанной нами панели для выявления бактериальных патогенов и маркеров резистентности молекулярно-генетическими методами, метод ПЦР позволяет обнаружить бактериальную или грибковую ДНК при ее минимальных количествах в образце и сжатые сроки. Кроме того, определяя генетический код, возможно выявление резистентности выделяемого микроорганизма к действию конкретных антибактериальных средств. Также при ПЦР-диагностике возможно получение данных о возбудителе в условиях антибактериальной терапии и расширение спектра диагностируемых инфекций по сравнению с классическими культуральными методами исследования. На основании полученных нами результатов для метода ПЦР-РВ были рассчитаны операционные параметры выявления бактериемии и определены: Диагностическая чувствительность составила - 93%; Диагностическая специфичность - 88%; Предсказательная ценность положительного результата - 89%; Предсказательная ценность отрицательного результата - 93%. В работе установлено, что назначение терапии по результатам ПЦР-диагностики в реальном времени сопровождалось более ранним уменьшением выраженности синдрома системного воспалительного ответа, оцененного по предыдущему шагу предлагаемого алгоритма – определение уровня прокальцитонина.

Для исключения негативного влияния временного фактора на скорость получения результатов в лаборатории экспресс диагностики, было организовано круглосуточное выполнение микробиологических исследований крови (24 часа, 7 дней в неделю). При наличии роста во флаконе незамедлительно проводится окрашивание мазка по методу Грама, приготовленного из «положительной»

гемокультуры. Далее в плановой лаборатории из флаконов выполняли, пересев на плотные питательные среды, получали чистую культуру, проводя видовую идентификацию выделенной микрофлоры, определяли чувствительность к антибактериальным и/или антимикотическим препаратам. Параллельно кровь отбирали для экстракции нуклеиновых кислот и ПЦР-диагностики маркеров резистентности (генов *tesA*, металло- β -лактамаз групп VIM, IMP и NDM, карбапенемаз групп KPC и OXA-48). Таким образом, предварительный ответ на основе окрашивания по Граму и результаты определения генетических маркеров резистентности микроорганизмов, клиницисты получали в день регистрации роста гемокультуры в анализаторе (на 1-2 сутки от начала исследования), время до выдачи окончательного результата в среднем сокращается на 1-2 суток. Использование ПЦР-диагностики в режиме реального времени позволяет проводить этиотропную терапию практически с момента поступления больного в стационар.

Поиск специфичных лабораторных маркеров для ранней постановки диагноза сепсиса и ССВР, для прогноза развития ПОН и других осложнений, для неблагоприятного исхода заболевания остается актуальной задачей многих научных исследований во всем мире. По данным литературы и результатам настоящей работы, используемые в клинической практике методы (измерение температуры тела, клинический анализ крови, определение CRP и др. не предоставляют возможности с высокой эффективностью проводить диагностику и прогнозировать развитие инфекционных осложнений у пациентов ОРИТ.

На сегодняшний день не идентифицировано ни одного «идеального» лабораторного маркера, объединяющего максимальную чувствительность и специфичность для точной и ранней диагностики сепсиса. При том, имеется значительное количество работ по применению теста на PCT. Повышенные уровни PCT в крови обнаружены у пациентов с сепсисом и информативны для идентификации инфекции бактериальной природы [132, 197]. В клинической практике оптимальные значения теста на прокальцитонин используют для начала

и прекращения АБТ. В 2019 году был опубликован консенсус экспертов, где ведущие специалисты в мире, предложили алгоритм использования теста на РСТ при назначении/отмене АБП для снижения побочных эффектов от терапии [335]. Полученные в настоящем исследовании результаты свидетельствуют о том, что применение результатов теста на РСТ, способствовало более раннему прекращению приема антибиотиков, сокращая продолжительность лечения почти на 2 дня (Среднее значение 7,762 дня – обследуемая группа, 9.627 – контрольная). По литературным данным показатели теста на MR-proADM связаны с величиной ПОН и, следовательно, тяжестью состояния пациента [381]. По мнению авторов, целесообразно включить тест на MR-proADM в панель биомаркеров, необходимых для диагностики пациентов с сепсисом и ССВР поступивших в ОРИТ. В настоящем исследовании мы получили похожие результаты при исследовании теста на MR-proADM в динамике (0-24, 48 и 120 часов). Различия значений медиан концентраций MR-proADM в группах пациентов с подтвержденной клиникой инфекционного процесса/без инфекционных осложнений достоверно различаются ($p < 0,05$). Чувствительность и специфичность теста на MR-proADM: 85,94; 88,46; 89,13 и 50,88; 41,18; 45,16 соответственно. Значение cut off определенное в настоящем исследовании у пациента ОРИТ, сопоставимо с работами Valenzuela-Sánchez F. et al. [381].

В настоящее время, использование в клинической практике расчет клиренса РСТ при различных патологиях обсуждаются в большом количестве работ, однако, информация по использованию клиренса MR-proADM весьма ограничена. В настоящем исследовании показатели клиренса РСТ и клиренса MR-proADM через 24 и 120 часов, были достоверно выше в группе пациентов с благоприятным исходом. Это же было отмечено в работе Valenzuela-Sánchez F. et al. [383], где показано, что снижение концентрации MR-proADM для септических пациентов с благоприятным и неблагоприятным исходом через 48 часов и на 5 день от поступления в отделение интенсивной терапии достоверно различается. Через 48 часов и на 5-й день у пациентов с благоприятным исходом определен

большой клиренс MR-proAD. Интересно, что данные по клиренсу PCT через 24 часа разнятся. Так при сопоставимой с нашей выборкой пациентов не было показано достоверных различий клиренса PCT для пациентов с благоприятным и неблагоприятным исходом – 24,7% [(-48,2) – 45,0] и (-60,3)% [(-423,2) – 54,6], $p = 0,11$ соответственно. Достоверно различались только значения клиренса PCT через 48 часов от поступления – 45,8% [(-4,5) – 70,2] и (-54,5)% [(-369,0) – 53,7], $p = 0,02$ соответственно [250]. В этой же работе Mat Nor M. V. et al. не было выявлено различий в концентрации PCT при поступлении в зависимости от исхода – 5,8 нг/мл (0,8–20,6) и 18,5 нг/мл (1,1–77,2), $p = 0,11$ соответственно для септических пациентов с благоприятным и неблагоприятным исходами, что согласуется с нашими результатами.

Таким образом, при мониторинге клинического состояния пациента MR-proADM может быть важным прогностическим лабораторным маркером, стратифицирующий риск неблагоприятного исхода у пациентов с сепсисом и ССВР. Исходные уровни MR-proADM помогают выявлять наличие инфекционного процесса у пациентов с синдромом системного воспалительного ответа и органной дисфункцией. Уровни MR-proADM и его клиренс на 5-е сутки после поступления были наиболее эффективными лабораторными маркерами для определения риска неблагоприятного исхода у пациентов с тяжелым сепсисом, поступивших в ОРИТ. Как известно, у длительно болеющих тяжелых септических пациентов возможна нормализация значений PCT при сохраняющейся тяжести состояния, и для прогноза исхода заболевания, тест на MR-proADM представляется более эффективным лабораторным маркером.

Невозможность существования единственного диагностического биомаркера предполагает комплексный подход к использованию лабораторных тестов и разработки мультимаркерных алгоритмов клинической лабораторной диагностики. Комбинация лабораторных маркеров, может быть более эффективной в диагностике и прогнозировании сепсиса и ССВР, предполагая их включение в диагностический алгоритм. В работе Angeletti S. et al. [52],

оценивали считаемое измерение PCT, MR-proADM и цитокинов у пациентов с сепсисом. Комбинированная оценка PCT, MR-proADM и TNF- α показала лучшую кривую ROC в ранней диагностике сепсиса. В настоящем исследовании, для комбинации панелей лабораторных маркеров, нами были выбраны тесты, наиболее используемые в клинической практике. Поскольку каждый лабораторный маркер имеет ограниченную чувствительность и специфичность, мы сформировали оптимальные комбинации диагностических и прогностических лабораторных маркеров для исследования клинической эффективности в дифференциальной диагностике сепсиса и ССВР.

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.

Разработанный алгоритм ранней диагностики сепсиса у пациентов, госпитализированных в ОРИТ, внедрен в клиническую практику центра анестезиологии-реаниматологии ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой» Управления делами Президента Российской Федерации и лабораториях лабораторного отдела ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России.

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, ССВО 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-проадренomedуллин, пресепсин и С-реактивный белок.
4. Расчет клиренсов прокальцитонина и MR-проадренomedуллина 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, MR-проадренomedуллина, 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, PSP 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-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 ССВО. Применение новых подходов к лабораторной диагностике бактериальной инфекции, сепсиса и ССВО 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 ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андрюков Б. Г. и др. Антимикробные стратегии нейтрофилов при инфекционной патологии //Клиническая лабораторная диагностика. – 2016. – Т. 61. – №. 12. – С. 825-833.
2. Астафьева М. Н. и др. Использование шкалы qSOFA в диагностике сепсиса. Результаты российского многоцентрового исследования РИСЭС // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2018. – Т. 15. – № 4. – С. 14-22.
3. Багненко С. Ф. и др. Сепсис: классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение. – 2017.
4. Бархатова Н.А., Привалов В.А. Сепсис в хирургии. Учебное пособие. Челябинск. – 2010. – С.75.
5. Белобородов В. Б. и др. Сепсис в начале XXI века. Классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение. Патолого-анатомическая диагностика. – 2006. – С.176.
6. Боронина Л.Г. Саматова Е.В. Верификация бактериемии и сепсиса у детей первого года жизни // Проблемы медицины в современных условиях. – 2017. – С. 65-68.
7. Бубнова Н. А., Сидоренко С.В., Шляпников С.А. и др. Клинические рекомендации по диагностике и лечению тяжелого сепсиса и септического шока в лечебно-профилактических организациях Санкт-Петербурга. – 2016. – С. 96.
8. Винник Ю. С., Миллер С. В., Онзуль Е. В. Объективная оценка тяжести больных острым панкреатитом с помощью прогностических шкал //Сибирское медицинское обозрение. – 2010. – Т. 66. – №. 6. – С. 13-18.
9. Гельфанд Б. Р. и др. Сепсис в начале XXI века. Классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение. Патолого-анатомическая диагностика. – 2004.
10. Гельфанд Б. Р., Проценко Д. Н., Гельфанд Е. Б. Сепсис: клинико-патофизиологическая концепция, диагностика и интенсивная терапия //Хирургия. – 2017. – Т. 7. – №. 1. – С. 8-14.

11. Голуб И. Е., Сорокина Л. В., Нетесин Е. С. Сепсис: определение, диагностическая концепция, патогенез и интенсивная терапия: Учебное пособие //Иркутск: ИГМУ. – 2015.
12. Гольц М. Л., Фазылов В. Х. Клинико-диагностические аспекты сепсиса как системной воспалительной реакции в инфекционной патологии //Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. – 2016. – №. 2 (15). – С. 90-95.
13. Гюлазян Н. М. и др. Липополисахариды/эндотоксины грамотрицательных бактерий: роль в развитии интоксикации //Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2014. – №. 2. – С. 11-16.
14. Давыдовский П.Н. Проблемы причинности в медицине. Москва. – 1962.
15. Дмитриева Н. В., Петухова И. Н., Громова Е. Г. Сепсис: избранные вопросы диагностики и лечения //Москва: ИД «АБВпресс. – 2018.
16. Дон Е. С. и др. Биомаркеры в медицине: поиск, выбор, изучение и валидация //Клиническая лабораторная диагностика. – 2017. – Т. 62. – №. 1. – С. 52-59.
17. Звягин А. А., Демидова В. С., Смирнов Г. В. Биологические маркеры в диагностике и лечении сепсиса (обзор литературы) //Раны и раневые инфекции. Журнал имени профессора БМ Костючёнка. – 2016. – №. 2. – С. 19-23.
18. Карсанов А. М. и др. Сепсис (четверть века поисков). – 2017. – С. 196.
19. Киров М.Ю., Кузьков В.В. Сепсис: механизмы, классификация, диагностика, терапия. В кн.: Анестезиология и интенсивная терапия: 21 взгляд на проблемы XXI века. – 2011. – С. 265-299.
20. Козлов В. К. Иммунопатогенез и цитокиноterapia хирургического сепсиса. – 2002.
21. Козлов В. К., Винницкий Л. И. Дисфункция иммунной системы в патогенезе сепсиса //Общая реаниматология. – 2005. – Т. 1. – №. 4. – С. 65-76.
22. Койчубеков Б. К., Сорокина М. А., Мхитарян К. Э. Определение размера выборки при планировании научного исследования //Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. – №. 4. – С. 71-74.

23. Кузьменков А. Ю. и др. AMRmap: Интернет-платформа мониторинга антибиотикорезистентности //Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2017. – Т. 19. – №. 2. – С. 84-90.
24. Кулабухов В. В., Руднов В. А. Анализ соблюдения современной стратегии по ведению пациентов с сепсисом и профилактике инфекций на этапе интенсивной терапии. Результаты многоцентрового исследования //Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2015. – Т. 12. – №. 2. – С. 7-13.
25. Лабинская А. С. и др. Руководство по медицинской микробиологии. Книга I. – 2008. – С. 1080.
26. Лабинская А. С. и др. Руководство по медицинской микробиологии. Книга II. – 2008. – С. 1152.
27. Ланг Т. А., Сесик М. Описание статистики в медицине. Руководство для авторов, редакторов и рецензентов //М.: Практическая медицина. – 2011. – Т. 477.
28. Меньшиков В. В. и др. Методики клинических лабораторных исследований. – 2009.
29. Мороз В. В. и др. Сепсис: клинико-патофизиологические аспекты интенсивной терапии. – 2004.
30. Назаров П. Г. Пентраксины в реакциях врожденного и приобретенного иммунитета, организации матрикса, фертильности //Медицинский академический журнал. – 2010. – Т. 10. – №. 4. – С. 107-124.
31. Национальный стандарт РФ ГОСТ Р 53022.3-2008 «Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов» (утв. приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии РФ от 18 декабря 2008 г. N 557-ст).
32. Павлушкина Л. В. и др. Биомаркеры в клинической практике //Поликлиника. – 2013. – №. 4-1. – С. 10-14.

33. Пасечник И. Н. и др. Абдоминальный сепсис и окислительный стресс //Хирургия. – 2015. – Т. 12. – С. 18-23.
34. Пасечник И. Н. и др. Сепсис: дефиниции новые-проблемы старые //Кремлевская медицина. Клинический вестник. – 2017. – №. 4-2. – С. 170-177.
35. Патерностер Д., Наги А. Иммуномодуляция, иммуностимуляция и экстракорпоральная гемокоррекция при сепсисе: возможности применения данных технологий в кардиохирургии //Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2019. – Т. 16. – №. 2. – С. 96-106.
36. Пустовалов А. А. и др. Сравнение этиологических методов диагностики внебольничной пневмонии в клинической практике //Терапевтический архив. – 2012. – Т. 84. – №. 4. – С. 11-16.
37. Руднов В. А. Клинические рекомендации по диагностике и лечению тяжелого сепсиса и септического шока в лечебно-профилактических организациях Санкт-Петербурга //Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2016. – Т. 13. – №. 5. – С. 88-94.
38. Руднов В. А., Кулабухов В. В. Сепсис-3: обновленные ключевые положения, потенциальные проблемы и дальнейшие практические шаги //Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2016. – Т. 13. – №. 4. – С. 4-11.
39. Садвакас А. С. Современные концепции идеальных биомаркеров в медицине //Современная медицина: актуальные вопросы. – 2014. – №. 31. – С. 99-104.
40. Сунг-Йон Чо, Юнг-Хун Чой Биомаркеры сепсиса инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2015. – С. 45-55.
41. Сайфуллин Р. Ф., Синявкин Д. О. Лабораторные биомаркеры сепсиса //и инфекционные болезни. – 2019. – Т. 24. – №. 3. – С. 146.
42. Черешнева М. В., Черешнев В. А. Иммунологические механизмы локального воспаления //Медицинская иммунология. – 2011. – Т. 13. – №. 6. – С. 557-568.

43. Федеральная электронная медицинская библиотека (ФЭМБ). URL: http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/0001426607S/HTML/.
44. Феськов А. Э., Соколов А. С., Солошенко С. В. Новый гемостатический бинт на основе естественного биополимерахитозана //Медицина неотложных состояний. – 2017. – №. 2 (81). – С. 95-98.
45. Al Shuaibi M. et al. Pro-adrenomedullin as a novel biomarker for predicting infections and response to antimicrobials in febrile patients with hematologic malignancies //Clinical Infectious Diseases. – 2013. – Т. 56. – №. 7. – С. 943-950.
46. Ali F. T. et al. Presepsin is an early monitoring biomarker for predicting clinical outcome in patients with sepsis //Clinica Chimica Acta. – 2016. – Т. 460. – С. 93-101.
47. Procalcitonin: between evidence and critical issues //Clinica Chimica Acta. – 2019. – Т. 496. – С. 7-12.
48. Alvarez-Lerma F. Modification of empiric antibiotic treatment in patients with pneumonia acquired in the intensive care unit //Intensive care medicine. – 1996. – Т. 22. – №. 5. – С. 387-394.
49. Andaluz-Ojeda D. et al. Sustained value of proadrenomedullin as mortality predictor in severe sepsis //Journal of Infection. – 2015. – V. 71. – №. 1. – P. 136-139.
50. Andaluz-Ojeda D. et al. Superior accuracy of mid-regional proadrenomedullin for mortality prediction in sepsis with varying levels of illness severity //Annals of intensive care. – 2017. – V. 7. – №. 1. – P. 1-8.
51. Angeletti S. et al. Procalcitonin and mid-regional pro-adrenomedullin test combination in sepsis diagnosis //Clinical chemistry and laboratory medicine. – 2013. – V. 51. – №. 5. – P. 1059-1067.
52. Angeletti S. et al. Procalcitonin, MR-proadrenomedullin, and cytokines measurement in sepsis diagnosis: advantages from test combination //Disease markers. – 2015. – V. 2015.
53. Angus D. C. et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care //Critical care medicine. – 2001. – V. 29. – №. 7. – P. 1303-1310.

54. Angus D. C., Van der Poll T. Severe sepsis and septic shock //N Engl J Med. – 2013. – V. 369. – P. 840-851.
55. Annane D., Bellissant E., Cavaillon J. M. Septic shock //The Lancet. – 2005. – V. 365. – №. 9453. – P. 63-78.
56. Assicot M. et al. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection //The Lancet. – 1993. – V. 341. – №. 8844. – P. 515-518.
57. Aygun F. Procalcitonin value is an early prognostic factor related to mortality in admission to pediatric intensive care unit //Critical Care Research and Practice. – 2018. – V. 2018.
58. Backes Y. et al. Usefulness of suPAR as a biological marker in patients with systemic inflammation or infection: a systematic review //Intensive care medicine. – 2012. – V. 38. – №. 9. – P. 1418-1428.
59. Bäckhed F. et al. Structural requirements for TLR4-mediated LPS signalling: a biological role for LPS modifications //Microbes and infection. – 2003. – V. 5. – №. 12. – P. 1057-1063.
60. Bansal T. et al. C-reactive protein (CRP) and its association with periodontal disease: a brief review //Journal of clinical and diagnostic research: JCDR. – 2014. – V. 8. – №. 7. – P. ZE21.
61. Bai Y. et al. NF- κ B increases LPS-mediated procalcitonin production in human hepatocytes //Scientific reports. – 2018. – V. 8. – №. 1. – P. 1-9.
62. Barassi A., Pallotti F., d'Eril G. V. M. Biological variation of procalcitonin in healthy individuals //Clinical chemistry. – 2004. – V. 50. – №. 10. – P. 1878-1878.
63. Bas S. et al. CD14 is an acute-phase protein //The Journal of Immunology. – 2004. – V. 172. – №. 7. – P. 4470-4479.
64. Becker K. L. et al. Procalcitonin and the calcitonin gene family of peptides in inflammation, infection, and sepsis: a journey from calcitonin back to its precursors //The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2004. – V. 89. – №. 4. – P. 1512-1525.

65. Becker K. L., Snider R., Nylen E. S. Procalcitonin assay in systemic inflammation, infection, and sepsis: clinical utility and limitations //Critical care medicine. – 2008. – V. 36. – №. 3. – P. 941-952.
66. Bele N. et al. Diagnostic accuracy of procalcitonin in critically ill immunocompromised patients //BMC Infectious Diseases. – 2011. – V. 11. – №. 1. – P. 1-8.
67. Bell D. et al. Endothelium-derived intermedin/adrenomedullin-2 protects human ventricular cardiomyocytes from ischaemia-reoxygenation injury predominantly via the AM1 receptor //Peptides. – 2016. – V. 76. – P. 1-13.
68. Beltowski J., Jamroz A. Adrenomedullin—what do we know 10 years since its discovery? //Pol. J. Pharmacol. – 2004. – V. 56. – P. 5-27.
69. Biron B. M., Ayala A., Lomas-Neira J. L. Biomarkers for sepsis: what is and what might be? //Biomarker insights. – 2015. – V. 10. – P. BMI. S29519.
70. Bhargav Kiran G., Narayanan M. Biomarkers for sepsis: a review article //International Journal of Recent Scientific Research. – 2019. – V. 10. – P. 31162-31166.
71. Biasucci L. M. et al. Clinical use of C-reactive protein for the prognostic stratification of patients with ischemic heart disease //Italian Heart Journal. – 2001. – V. 2. – P. 164-171.
72. Biomarkers Definitions Working Group et al. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework //Clinical pharmacology & therapeutics. – 2001. – V. 69. – №. 3. – P. 89-95.
73. Blasi F., Carmeliet P. uPAR: a versatile signalling orchestrator //Nature reviews Molecular cell biology. – 2002. – V. 3. – №. 12. – P. 932-943.
74. Cultures IV C. B. Baron, EJ. Ed. – 2005.
75. Bloom C. I. et al. Transcriptional blood signatures distinguish pulmonary tuberculosis, pulmonary sarcoidosis, pneumonias and lung cancers //PloS one. – 2013. – V. 8. – №. 8. – P. e70630.

76. Bone R. C. Toward an epidemiology and natural history of SIRS (systemic inflammatory response syndrome) //Jama. – 1992. – V. 268. – №. 24. – P. 3452-3455.
77. Bone R. C. et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis //Chest. – 1992. – V. 101. – №. 6. – P. 1644-1655.
78. Boomer J. S. et al. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure //Jama. – 2011. – V. 306. – №. 23. – P. 2594-2605.
79. Bosco M. C. et al. Hypoxia modulates the gene expression profile of immunoregulatory receptors in human mature dendritic cells: identification of TREM-1 as a novel hypoxic marker in vitro and in vivo //Blood, The Journal of the American Society of Hematology. – 2011. – V. 117. – №. 9. – P. 2625-2639.
80. Bottazzi B. et al. An integrated view of humoral innate immunity: pentraxins as a paradigm //Annual review of immunology. – 2009. – V. 28. – P. 157-183.
81. Bouchon A., Dietrich J., Colonna M. Cutting edge: inflammatory responses can be triggered by TREM-1, a novel receptor expressed on neutrophils and monocytes //The Journal of Immunology. – 2000. – V. 164. – №. 10. – P. 4991-4995.
82. Brain S. D., Grant A. D. Vascular actions of calcitonin gene-related peptide and adrenomedullin //Physiological reviews. – 2004. – V. 84. – №. 3. – P. 903-934.
83. Brinkmann V. et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria //science. – 2004. – V. 303. – №. 5663. – P. 1532-1535.
84. Brinkmann V., Zychlinsky A. Beneficial suicide: why neutrophils die to make NETs //Nature Reviews Microbiology. – 2007. – V. 5. – №. 8. – P. 577-582.
85. Brinkmann V., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps: is immunity the second function of chromatin? //Journal of cell biology. – 2012. – V. 198. – №. 5. – P. 773-783.
86. Broder G., Weil M. H. Excess lactate: an index of reversibility of shock in human patients //Science. – 1964. – V. 143. – №. 3613. – P. 1457-1459.
87. Brun-Buisson C. et al. EPISEPSIS: a reappraisal of the epidemiology and outcome of severe sepsis in French intensive care units //Intensive care medicine. – 2004. – V. 30. – P. 580-588.

88. Bucova M. et al. Inflammatory marker sTREM-1 reflects the clinical stage and respiratory tract obstruction in allergic asthma bronchiale patients and correlates with number of neutrophils //Mediators of inflammation. – 2012. – V. 2012.
89. Carpio R. et al. Utility of presepsin (sCD14-ST) as a diagnostic and prognostic marker of sepsis in the emergency department //Clinica chimica acta. – 2015. – V. 450. – P. 169-175.
90. Fernández C. et al. Prognostic value of lactate clearance in the first 6 hours of intensive medicine course //Medicina Intensiva. – 2009. – V. 33. – №. 4. – P. 166-170.
91. Cabral L. et al. The use of procalcitonin (PCT) for diagnosis of sepsis in burn patients: a meta-analysis //PLoS One. – 2016. – V. 11. – №. 12. – P. e0168475.
92. Calfee C. S. Opening the Debate on the new sepsis definition. Precision medicine: An opportunity to improve outcomes of patients with sepsis //American journal of respiratory and critical care medicine. – 2016. – V. 194. – №. 2. – P. 137-139.
93. Caterino J. M. et al. Bacteremic elder emergency department patients: procalcitonin and white count //Academic emergency medicine. – 2004. – V. 11. – №. 4. – P. 393-396.
94. Chaudhry H. et al. Role of cytokines as a double-edged sword in sepsis //In vivo. – 2013. – V. 27. – №. 6. – P. 669-684.
95. Charles P. E. et al. Procalcitonin kinetics within the first days of sepsis: relationship with the appropriateness of antibiotic therapy and the outcome //Critical Care. – 2009. – V. 13. – №. 2. – P. 1-11.
96. Charles P. E. et al. Mr-Proadm elevation upon ICU admission predicts the outcome of septic patients and is correlated with upcoming fluid overload //Shock: Injury, Inflammation, and Sepsis: Laboratory and Clinical Approaches. – 2017. – V. 48. – №. 4. – P. 418-426.
97. Cheng S. C. et al. Broad defects in the energy metabolism of leukocytes underlie immunoparalysis in sepsis //Nature immunology. – 2016. – V. 17. – №. 4. – P. 406-413.

98. Chenevier-Gobeaux C. et al. Presepsin (sCD14-ST), an innate immune response marker in sepsis //Clinica chimica acta. – 2015. – V. 450. – P. 97-103.
99. Faix J. D. Biomarkers of sepsis //Critical reviews in clinical laboratory sciences. – 2013. – V. 50. – №. 1. – P. 23-36.
100. Christ-Crain M. et al. Effect of procalcitonin-guided treatment on antibiotic use and outcome in lower respiratory tract infections: cluster-randomised, single-blinded intervention trial //The Lancet. – 2004. – V. 363. – №. 9409. – P. 600-607.
101. Christ-Crain M. et al. Procalcitonin in bacterial infections-hype, hope, more or less? //Swiss medical weekly. – 2005. – V. 135. – №. 31-32. – P. 451-460.
102. Christ-Crain M. et al. Procalcitonin guidance of antibiotic therapy in community-acquired pneumonia: a randomized trial //American journal of respiratory and critical care medicine. – 2006. – V. 174. – №. 1. – P. 84-93.
103. Christ-Crain M. et al. Mid-regional pro-adrenomedullin as a prognostic marker in sepsis: an observational study //Critical care. – 2005. – V. 9. – №. 6. – P. 1-9.
104. Cisek K. et al. The application of multi-omics and systems biology to identify therapeutic targets in chronic kidney disease //Nephrology Dialysis Transplantation. – 2016. – V. 31. – №. 12. – P. 2003-2011.
105. Claridge J. A. et al. Persistent occult hypoperfusion is associated with a significant increase in infection rate and mortality in major trauma patients //Journal of Trauma and Acute Care Surgery. – 2000. – V. 48. – №. 1. – P. 8.
106. Cleland D. A., Eranki A. P. Procalcitonin //StatPearls – 2021.
107. Cockerill III F. R. et al. Optimal testing parameters for blood cultures //Clinical infectious diseases. – 2004. – V. 38. – №. 12. – P. 1724-1730.
108. Cohen J. et al. Sepsis: a roadmap for future research //The Lancet infectious diseases. – 2015. – V. 15. – №. 5. – P. 581-614.
109. Cohen J., Abraham E. Microbiologic Findings and Correlations with Serum Tumor Necrosis Factor— α in Patients with Severe Sepsis and Septic Shock //The Journal of infectious diseases. – 1999. – V. 180. – №. 1. – P. 116-121.

110. Coudroy R. et al. Modulation by polymyxin-B hemoperfusion of inflammatory response related to severe peritonitis //Shock. – 2017. – V. 47. – №. 1. – P. 93-99.
111. Courtais C. et al. Proadrenomedullin, a useful tool for risk stratification in high Pneumonia Severity Index score community acquired pneumonia //The American journal of emergency medicine. – 2013. – V. 31. – №. 1. – P. 215-221.
112. D'Amore J. A. et al. The ESP (Early Sepsis Prophylaxis) Study: Can Implementation of a Basic Sepsis Bundle Reduce Mortality? A Three-Year Sepsis Research Registry Experience //Annals of Emergency Medicine. – 2013. – V. 62. – №. 4. – P. S3-S4.
113. Davenport E. E. et al. Genomic landscape of the individual host response and outcomes in sepsis: a prospective cohort study //The Lancet Respiratory Medicine. – 2016. – V. 4. – №. 4. – P. 259-271.
114. Davies J. Procalcitonin //Journal of clinical pathology. – 2015. – V. 68. – №. 9. – P. 675-679.
115. De Guadiana Romualdo L. G. et al. Diagnostic accuracy of presepsin (soluble CD14 subtype) for prediction of bacteremia in patients with systemic inflammatory response syndrome in the Emergency Department //Clinical biochemistry. – 2014. – V. 47. – №. 7-8. – P. 505-508.
116. De Guadiana Romualdo L. G. et al. Diagnostic accuracy of presepsin (sCD14-ST) as a biomarker of infection and sepsis in the emergency department //Clinica Chimica Acta. – 2017. – V. 464. – P. 6-11.
117. De Jong E. et al. Efficacy and safety of procalcitonin guidance in reducing the duration of antibiotic treatment in critically ill patients: a randomised, controlled, open-label trial //The Lancet Infectious Diseases. – 2016. – V. 16. – №. 7. – P. 819-827.
118. De Kruif M. D. et al. Additional value of procalcitonin for diagnosis of infection in patients with fever at the emergency department //Critical care medicine. – 2010. – V. 38. – №. 2. – P. 457-463.

119. Enguix A. et al. Mid-regional pro-adrenomedullin as prognostic biomarker in septic shock // *Minerva Anestesiologica*. – 2016. – V. 82. – №. 7. – P. 760-766.
120. Deliberato R. O. et al. Clinical and economic impact of procalcitonin to shorten antimicrobial therapy in septic patients with proven bacterial infection in an intensive care setting // *Diagnostic microbiology and infectious disease*. – 2013. – V. 76. – №. 3. – P. 266-271.
121. Dellinger R. P. et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012 // *Intensive care medicine*. – 2013. – V. 39. – №. 2. – P. 165-228.
122. Dellinger R. P. et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. // *Crit Care Med*. – 2008. – V. 36. – P. 296-327.
123. Dellinger R. R., Levy M. M., Rhodes A. et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2012. // *Crit Care Med*. – 2008. – V. 41. – P. 580-637.
124. Denstaedt S. J., Singer B. H., Standiford T. J. Sepsis and nosocomial infection: patient characteristics, mechanisms, and modulation // *Frontiers in Immunology*. – 2018. – V. 9. – P. 2446.
125. Angus D. C. et al. A framework for the development and interpretation of different sepsis definitions and clinical criteria // *Critical care medicine*. – 2016. – V. 44. – №. 3. – P. e113.
126. Döcke W. D. et al. Immunoparalysis in sepsis-from phenomenon to treatment strategies // *Transplantationsmedizin*. – 1997. – V. 9. – P. 55-65.
127. Donadello K. et al. suPAR as a prognostic biomarker in sepsis // *BMC medicine*. – 2012. – V. 10. – №. 1. – P. 1-9.
128. Dunser M. W. et al. Global Intensive Care Working Group of European Society of Intensive Care Medicine Recommendations for sepsis management in resource-limited settings // *Intensive Care Med*. – 2012. – V. 38. – №. Suppl 4. – P. 557-74.

129. Dziarski R., Gupta D. Role of MD-2 in TLR2-and TLR4-mediated recognition of Gram-negative and Gram-positive bacteria and activation of chemokine genes //Journal of endotoxin research. – 2000. – V. 6. – №. 5. – P. 401-405.
130. Dziarski R. Recognition of bacterial peptidoglycan by the innate immune system //Cellular and Molecular Life Sciences CMLS. – 2003. – V. 60. – №. 9. – P. 1793-1804.
131. Enguix-Armada A. et al. Usefulness of several biomarkers in the management of septic patients: C-reactive protein, procalcitonin, presepsin and mid-regional pro-adrenomedullin //Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). – 2016. – V. 54. – №. 1. – P. 163-168.
132. Esposito S. et al. Genetic polymorphisms and sepsis in premature neonates //PloS one. – 2014. – V. 9. – №. 7. – P. e101248.
133. Pinu F. R. et al. Systems biology and multi-omics integration: viewpoints from the metabolomics research community //Metabolites. – 2019. – V. 9. – №. 4. – P. 76.
134. Fiedler U. et al. Angiopoietin-2 sensitizes endothelial cells to TNF- α and has a crucial role in the induction of inflammation //Nature medicine. – 2006. – V. 12. – №. 2. – P. 235-239.
135. Rabello Filho R. et al. Blood lactate levels cutoff and mortality prediction in sepsis—time for a reappraisal? A retrospective cohort study //Shock (Augusta, Ga.). – 2016. – V. 46. – №. 5. – P. 480.
136. Fink M. P., Warren H. S. Strategies to improve drug development for sepsis //Nature reviews Drug discovery. – 2014. – V. 13. – №. 10. – P. 741-758.
137. Finfer S. et al. Adult-population incidence of severe sepsis in Australian and New Zealand intensive care units //Intensive care medicine. – 2004. – V. 30. – №. 4. – P. 589-596.
138. Fraser J. et al. Superantigens—powerful modifiers of the immune system //Molecular medicine today. – 2000. – V. 6. – №. 3. – P. 125-132.
139. Freund Y. et al. French Society of Emergency Medicine Collaborators Group. Prognostic accuracy of sepsis-3 criteria for in-hospital mortality among patients with

suspected infection presenting to the emergency department //Jama. – 2017. – V. 317. – №. 3. – P. 301-308.

140. Fung A. W. S. et al. The role of procalcitonin in diagnosis of sepsis and antibiotic stewardship: opportunities and challenges //Clinical chemistry. – 2017. – V. 63. – №. 9. – P. 1436-1441.

141. Gadsby N. J. et al. Development of two real-time multiplex PCR assays for the detection and quantification of eight key bacterial pathogens in lower respiratory tract infections //Clin Microbiol Infect. – 2015. – V. 3. – P. 4.

142. Garazzino S., Altieri E., Denina M. The role of pro-Adrenomedullin as a marker of severe bacterial infection in children: a review //Reports. – 2019. – V. 2. – №. 3. – P. 17.

143. Garcia-Alvarez M., Marik P., Bellomo R. Sepsis-associated hyperlactatemia //Critical care. – 2014. – V. 18. – №. 5. – P. 1-11.

144. Garnacho-Montero J. et al. De-escalation of empirical therapy is associated with lower mortality in patients with severe sepsis and septic shock //Intensive care medicine. – 2014. – V. 40. – №. 1. – P. 32-40.

145. Geven C., Kox M., Pickkers P. Adrenomedullin and adrenomedullin-targeted therapy as treatment strategies relevant for sepsis //Frontiers in Immunology. – 2018. – V. 9. – P. 292.

146. Giamarellos-Bourboulis E. J. et al. Procalcitonin as an early indicator of outcome in sepsis: a prospective observational study //Journal of Hospital Infection. – 2011. – V. 77. – №. 1. – P. 58-63.

147. Gilchrist M. et al. Systems biology approaches identify ATF3 as a negative regulator of Toll-like receptor 4 //Nature. – 2006. – V. 441. – №. 7090. – P. 173-178.

148. Gibot S. et al. Time-course of sTREM (soluble triggering receptor expressed on myeloid cells)-1, procalcitonin, and C-reactive protein plasma concentrations during sepsis //Critical care medicine. – 2005. – V. 33. – №. 4. – P. 792-796.

149. Gibot S. et al. Combination biomarkers to diagnose sepsis in the critically ill patient //American journal of respiratory and critical care medicine. – 2012. – V. 186. – №. 1. – P. 65-71.
150. Godnic M. et al. Diagnostic and prognostic value of sCD14-ST—presepsin for patients admitted to hospital intensive care unit (ICU) //Wiener klinische Wochenschrift. – 2015. – V. 127. – №. 13. – P. 521-527.
151. González-Castillo J., Candel F. J., Julián-Jiménez A. Antibióticos y el factor tiempo en la infección en urgencias //Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. – 2013. – V. 31. – №. 3. – P. 173-180.
152. Gomes R. N. et al. Calcitonin gene-related peptide inhibits local acute inflammation and protects mice against lethal endotoxemia //Shock. – 2005. – V. 24. – №. 6. – P. 590-594.
153. Gotts J. E., Matthay M. A. Sepsis: pathophysiology and clinical management //Bmj. – 2016. – V. 353.
154. Green J. P. et al. Serum lactate is a better predictor of short-term mortality when stratified by C-reactive protein in adult emergency department patients hospitalized for a suspected infection //Annals of emergency medicine. – 2011. – V. 57. – №. 3. – P. 291-295.
155. Guignant C. et al. Persistent high level of circulating midregional-proadrenomedullin and increased risk of nosocomial infections after septic shock //Journal of Trauma and Acute Care Surgery. – 2012. – V. 72. – №. 1. – P. 293-296.
156. Gullo A., Bianco N., Berlot G. Management of severe sepsis and septic shock: challenges and recommendations //Critical care clinics. – 2006. – V. 22. – №. 3. – P. 489-501.
157. Gumusel B. et al. Adrenotensin: an ADM gene product with the opposite effects of ADM //Life sciences. – 1995. – V. 57. – №. 8. – P. PL87-PL90.
158. Hagemann M., Hess W. R. Systems and synthetic biology for the biotechnological application of cyanobacteria //Current opinion in biotechnology. – 2018. – V. 49. – P. 94-99.

159. Harbarth S. et al. Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis //American journal of respiratory and critical care medicine. – 2001. – V. 164. – №. 3. – P. 396-402.
160. Hatzistilianou M. Diagnostic and prognostic role of procalcitonin in infections //The Scientific World Journal. – 2010. – V. 10. – P. 1941-1946.
161. Haupt T. H. et al. Plasma suPAR levels are associated with mortality, admission time, and Charlson Comorbidity Index in the acutely admitted medical patient: a prospective observational study //Critical care. – 2012. – V. 16. – №. 4. – P. 1-9.
162. Herberg J. A. et al. Transcriptomic profiling in childhood H1N1/09 influenza reveals reduced expression of protein synthesis genes //The Journal of infectious diseases. – 2013. – V. 208. – №. 10. – P. 1664-1668.
163. Herget-Rosenthal S. et al. Procalcitonin for accurate detection of infection in haemodialysis //Nephrology Dialysis Transplantation. – 2001. – V. 16. – №. 5. – P. 975-979.
164. Heyland D. K. et al. Procalcitonin for reduced antibiotic exposure in the critical care setting: a systematic review and an economic evaluation //Critical care medicine. – 2011. – V. 39. – №. 7. – P. 1792-1799.
165. Hoeboer S. H. et al. The diagnostic accuracy of procalcitonin for bacteraemia: a systematic review and meta-analysis //Clinical Microbiology and Infection. – 2015. – V. 21. – №. 5. – P. 474-481.
166. Hussein A. et al. Impact of cytokine genetic polymorphisms on the risk of renal parenchymal infection in children //Journal of Pediatric Urology. – 2017. – V. 13. – №. 6. – P. 593. e1-593. e10.
167. Hinson J. P., Kapas S., Smith D. M. Adrenomedullin, a multifunctional regulatory peptide //Endocrine reviews. – 2000. – V. 21. – №. 2. – P. 138-167.
168. Hinz J. et al. The FER rs4957796 TT genotype is associated with unfavorable 90-day survival in Caucasian patients with severe ARDS due to pneumonia //Scientific reports. – 2017. – V. 7. – №. 1. – P. 1-8.

169. Hirata Y, Hayakawa H, Suzuki Y, Suzuki E, Ikenouchi H, Kohmoto O, Kimura K, Kitamura K, Eto T, Kangawa K, Matsuo H, and Omata M //Mechanisms of adrenomedullin-induced vasodilation in the rat kidney. *Hypertension*. – 1995. – V. 25. – P. 790-795.
170. Hirata Y. et al. Increased circulating adrenomedullin, a novel vasodilatory peptide, in sepsis //The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 1996. – V. 81. – №. 4. – P. 1449-1453.
171. Hoesel B., Schmid J. The complexity of NF- κ B signaling in inflammation and cancer //Mol. Cancer. – 2013. – V. 12. – P. 86.
172. Hotchkiss R. S., Karl I. E: The pathophysiology and treatment of sepsis //N Engl J Med. – 2003. – V. 348. – P. 138-150.
173. Hu X. et al. Gene expression profiles in febrile children with defined viral and bacterial infection //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2013. – V. 110. – №. 31. – P. 12792-12797.
174. Hull J., Thomson A., Kwiatkowski D. Association of respiratory syncytial virus bronchiolitis with the interleukin 8 gene region in UK families //Thorax. – 2000. – V. 55. – №. 12. – P. 1023-1027.
175. Icardi M. et al. CD64 index provides simple and predictive testing for detection and monitoring of sepsis and bacterial infection in hospital patients //Journal of Clinical Microbiology. – 2009. – V. 47. – №. 12. – P. 3914-3919.
176. Ishimitsu T. et al. Genomic structure of human adrenomedullin gene //Biochemical and biophysical research communications. – 1994. – V. 203. – №. 1. – P. 631-639.
177. Ishiyama Y, Kitamura K, Ichiki Y, Nakamura S, Kida O, Kangawa K, Eto T //Hemodynamic effects of a novel hypotensive peptide, human adrenomedullin, in rats. *Eur J Pharmacol*. – 1993. – V. 241. – P. 271-273.
178. Inoue S. et al. Reduction of immunocompetent T cells followed by prolonged lymphopenia in severe sepsis in the elderly //Critical care medicine. – 2013. – V. 41. – №. 3. – P. 810-819.

179. Jacinto R. et al. Lipopolysaccharide-and lipoteichoic acid-induced tolerance and cross-tolerance: distinct alterations in IL-1 receptor-associated kinase //The Journal of Immunology. – 2002. – V. 168. – №. 12. – P. 6136-6141.
180. Jacobs J. W. et al. Calcitonin messenger RNA encodes multiple polypeptides in a single precursor //Science. – 1981. – V. 213. – №. 4506. – P. 457-459.
181. Jensen J. U. et al. Procalcitonin increase in early identification of critically ill patients at high risk of mortality //Critical care medicine. – 2006. – V. 34. – №. 10. – P. 2596-2602.
182. Jensen J. U. et al. Procalcitonin And Survival Study (PASS) Group. Procalcitonin-guided interventions against infections to increase early appropriate antibiotics and improve survival in the intensive care unit: a randomized trial //Crit Care Med. – 2011. – V. 39. – №. 9. – P. 2048-2058.
183. Jansen T. C. et al. Early lactate-guided therapy in intensive care unit patients: a multicenter, open-label, randomized controlled trial //American journal of respiratory and critical care medicine. – 2010. – V. 182. – №. 6. – P. 752-761.
184. Jeppesen J. B. et al. Lactate metabolism in chronic liver disease //Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation. – 2013. – V. 73. – №. 4. – P. 293-299.
185. Jerala R. Structural biology of the LPS recognition //International Journal of Medical Microbiology. – 2007. – V. 297. – №. 5. – P. 353-363.
186. Jones A. E. et al. Editor's Capsule Summary //Annals of Emergency Medicine. – 2007. – V. 1. – №. 50. – P. 34-41.
187. Julián-Jiménez A. Biomarcadores de infección en urgencias:¿ cuáles pueden ser útiles //Emergencias. – 2012. – V. 24. – №. 5. – P. 343-5.
188. Julián-Jiménez A., Candel-González F. J., del Castillo J. G. Utilidad de los biomarcadores de inflamación e infección en los servicios de urgencias //Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. – 2014. – V. 32. – №. 3. – P. 177-190.

189. Karlsson S. et al. Predictive value of procalcitonin decrease in patients with severe sepsis: a prospective observational study //Critical Care. – 2010. – V. 14. – №. 6. – P. 1-10.
190. Kato J., Kitamura K. Bench-to-bedside pharmacology of adrenomedullin //European journal of pharmacology. – 2015. – V. 764. – P. 140-148.
191. Kaukonen K. M. et al. Systemic inflammatory response syndrome criteria in defining severe sepsis //New England Journal of Medicine. – 2015. – V. 372. – №. 17. – P. 1629-1638.
192. Kim M. H. et al. Utility of procalcitonin as an early diagnostic marker of bacteremia in patients with acute fever //Yonsei medical journal. – 2011. – V. 52. – №. 2. – P. 276-281.
193. Kim H. S. et al. Procalcitonin levels within 48 hours after burn injury as a prognostic factor //Annals of Clinical & Laboratory Science. – 2012. – V. 42. – №. 1. – P. 57-64.
194. Kita T., Suzuki Y., Kitamura K. Hemodynamic and hormonal effects of exogenous adrenomedullin administration in humans and relationship to insulin resistance //Hypertension Research. – 2010. – V. 33. – №. 4. – P. 314-319.
195. Kitamura K. et al. Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma //Biochemical and biophysical research communications. – 1993. – V. 192. – №. 2. – P. 553-560.
196. Kitamura K. et al. Identification and hypotensive activity of proadrenomedullin N-terminal 20 peptide (PAMP) //FEBS letters. – 1994. – V. 351. – №. 1. – P. 35-37.
197. Kitamura K. et al. The intermediate form of glycine-extended adrenomedullin is the major circulating molecular form in human plasma //Biochemical and biophysical research communications. – 1998. – V. 244. – №. 2. – P. 551-555.
198. Kitamura K., Kangawa K., Eto T. Adrenomedullin and PAMP: discovery, structures, and cardiovascular functions //Microscopy research and technique. – 2002. – V. 57. – №. 1. – P. 3-13.

199. Klouche K. et al. Diagnostic and prognostic value of soluble CD14 subtype (Presepsin) for sepsis and community-acquired pneumonia in ICU patients //Annals of intensive care. – 2016. – V. 6. – №. 1. – P. 1-11.
200. Koch A. et al. Circulating soluble urokinase plasminogen activator receptor is stably elevated during the first week of treatment in the intensive care unit and predicts mortality in critically ill patients //Critical care. – 2011. – V. 15. – №. 1. – P. 1-14.
201. Kofoed K. et al. Use of plasma C-reactive protein, procalcitonin, neutrophils, macrophage migration inhibitory factor, soluble urokinase-type plasminogen activator receptor, and soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in combination to diagnose infections: a prospective study //Critical care. – 2007. – V. 11. – №. 2. – P. 1-10.
202. Kollef M. H. et al. Inadequate antimicrobial treatment of infections: a risk factor for hospital mortality among critically ill patients //Chest. – 1999. – V. 115. – №. 2. – P. 462-474.
203. Kruse O., Grunnet N., Barfod C. Blood lactate as a predictor for in-hospital mortality in patients admitted acutely to hospital: a systematic review //Scandinavian journal of trauma, resuscitation and emergency medicine. – 2011. – V. 19. – №. 1. – P. 1-12.
204. Kubo A. et al. Production of adrenomedullin in macrophage cell line and peritoneal macrophage //Journal of Biological Chemistry. – 1998. – V. 273. – №. 27. – P. 16730-16738.
205. Kuwasako K. et al. Shared and separate functions of the RAMP-based adrenomedullin receptors //Peptides. – 2011. – V. 32. – №. 7. – P. 1540-1550.
206. Kweon O. J. et al. Usefulness of presepsin (sCD14 subtype) measurements as a new marker for the diagnosis and prediction of disease severity of sepsis in the Korean population //Journal of Critical Care. – 2014. – V. 29. – №. 6. – P. 965-970.
207. Lai C. C. et al. Diagnostic value of procalcitonin for bacterial infection in elderly patients in the emergency department //Journal of the American Geriatrics Society. – 2010. – V. 58. – №. 3. – P. 518-522.

208. Lai C. C. et al. Diagnostic performance of procalcitonin for bacteremia in patients with bacterial infection at the emergency department //Journal of Infection. – 2010. – V. 61. – №. 6. – P. 512-515.
209. Lai N. A., Kruger P. The predictive ability of a weighted systemic inflammatory response syndrome score for microbiologically confirmed infection in hospitalised patients with suspected sepsis //Critical Care and Resuscitation. – 2011. – V. 13. – №. 3. – P. 146-150.
210. Lainchbury J. G. et al. Hemodynamic, hormonal, and renal effects of short-term adrenomedullin infusion in healthy volunteers //The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2000. – V. 85. – №. 3. – P. 1016-1020.
211. Lamy B. et al. How to optimize the use of blood cultures for the diagnosis of bloodstream infections? A state-of-the art //Frontiers in microbiology. – 2016. – V. 7. – P. 697.
212. Linscheid P. et al. Autocrine/paracrine role of inflammation-mediated calcitonin gene-related peptide and adrenomedullin expression in human adipose tissue //Endocrinology. – 2005. – V. 146. – №. 6. – P. 2699-2708.
213. Laude-Sharp M. et al. Dissociation between the interleukin 1-inducing capacity and Limulus reactivity of lipopolysaccharides from gram-negative bacteria //Cytokine. – 1990. – V. 2. – №. 4. – P. 253-258.
214. Lavrentieva A. et al. PCT as a diagnostic and prognostic tool in burn patients. Whether time course has a role in monitoring sepsis treatment //Burns. – 2012. – V. 38. – №. 3. – P. 356-363.
215. Le Moullec J. M. et al. The complete sequence of human preprocalcitonin //FEBS letters. – 1984. – V. 167. – №. 1. – P. 93-97.
216. Lee S. M., An W. S. New clinical criteria for septic shock: serum lactate level as new emerging vital sign //Journal of thoracic disease. – 2016. – V. 8. – №. 7. – P. 1388.

217. Leli C. et al. Diagnostic accuracy of presepsin (sCD14-ST) and procalcitonin for prediction of bacteraemia and bacterial DNAemia in patients with suspected sepsis //Journal of medical microbiology. – 2016. – V. 65. – №. 8. – P. 713-719.
218. León C. et al. Documento de consenso (SEMES-SEMICYUC). Recomendaciones del manejo diagnóstico-terapéutico inicial y multidisciplinario de la sepsis grave en los Servicios de Urgencias Hospitalarios //Med Intensiva. – 2007. – V. 31. – P. 375-387
219. Lever A., Mackenzie I. Sepsis: definition, epidemiology, and diagnosis //Bmj. – 2007. – V. 335. – №. 7625. – P. 879-883.
220. Levy M. M. et al. 2001 sccm/esicm/accp/ats/sis international sepsis definitions conference //Intensive care medicine. – 2003. – V. 29. – №. 4. – P. 530-538.
221. Levy M. M., Evans L. E., Rhodes A. The surviving sepsis campaign bundle: 2018 update //Intensive care medicine. – 2018. – V. 44. – №. 6. – P. 925-928.
222. Lewis L. K. et al. Degradation of human adrenomedullin (1-52) by plasma membrane enzymes and identification of metabolites //Peptides. – 1997. – V. 18. – №. 5. – P. 733-739.
223. Lewis L. K. et al. Adrenomedullin (1–52) measured in human plasma by radioimmunoassay: plasma concentration, adsorption, and storage //Clinical chemistry. – 1998. – V. 44. – №. 3. – P. 571-577.
224. Li C. H. et al. Procalcitonin as a biomarker for bacterial infections in patients with liver cirrhosis in the emergency department //Academic Emergency Medicine. – 2011. – V. 18. – №. 2. – P. 121-126.
225. Li Q. et al. Assessment of adrenomedullin and proadrenomedullin as predictors of mortality in septic patients: A systematic review and meta-analysis //Medicina intensiva. – 2018. – V. 42. – №. 7. – P. 416-424.
226. Liesenfeld O. et al. Molecular diagnosis of sepsis: New aspects and recent developments //European journal of microbiology and immunology. – 2014. – V. 4. – №. 1. – P. 1-25.

227. Lippi G., Sanchis-Gomar F. Procalcitonin in inflammatory bowel disease: Drawbacks and opportunities //World journal of gastroenterology. – 2017. – V. 23. – №. 47. – P. 8283.
228. Lisy O. et al. Neutral endopeptidase inhibition potentiates the natriuretic actions of adrenomedullin //American Journal of Physiology-Renal Physiology. – 1998. – V. 275. – №. 3. – P. F410-F414.
229. Liu B. et al. Diagnostic value and prognostic evaluation of Presepsin for sepsis in an emergency department //Critical care. – 2013. – V. 17. – №. 5. – P. 1-12.
230. Liu D. et al. Prognostic value of mid-regional pro-adrenomedullin (MR-proADM) in patients with community-acquired pneumonia: a systematic review and meta-analysis //BMC infectious diseases. – 2016. – V. 16. – №. 1. – P. 1-11.
231. Liu V. et al. Hospital deaths in patients with sepsis from 2 independent cohorts //Jama. – 2014. – V. 312. – №. 1. – P. 90-92.
232. Liu Y. et al. Biomarkers for diagnosis of sepsis in patients with systemic inflammatory response syndrome: a systematic review and meta-analysis //Springerplus. – 2016. – V. 5. – №. 1. – P. 1-10.
233. Liu Z. et al. Prognostic accuracy of the serum lactate level, the SOFA score and the qSOFA score for mortality among adults with Sepsis //Scandinavian journal of trauma, resuscitation and emergency medicine. – 2019. – V. 27. – №. 1. – P. 1-10.
234. Long B., Koyfman A. Ready for prime time? Biomarkers in sepsis //Emergency Medicine Clinics. – 2017. – V. 35. – №. 1. – P. 109-122.
235. Lukaszewicz A. C. et al. Monocytic HLA-DR expression in intensive care patients: interest for prognosis and secondary infection prediction //Critical care medicine. – 2009. – V. 37. – №. 10. – P. 2746-2752.
236. Lundberg O. H. M. et al. Adrenomedullin and endothelin-1 are associated with myocardial injury and death in septic shock patients //Critical Care. – 2016. – V. 20. – №. 1. – P. 1-11.
237. Luzzani A. et al. Comparison of procalcitonin and C-reactive protein as markers of sepsis //Critical care medicine. – 2003. – V. 31. – №. 6. – P. 1737-1741.

238. Madenci Ö. Ç. et al. Evaluation of soluble CD14 subtype (presepsin) in burn sepsis //Burns. – 2014. – V. 40. – №. 4. – P. 664-669.
239. Magadia R. R., Weinstein M. P. Laboratory diagnosis of bacteremia and fungemia //Infectious Disease Clinics. – 2001. – V. 15. – №. 4. – P. 1009-1024.
240. Mansur A. et al. Primary bacteraemia is associated with a higher mortality risk compared with pulmonary and intra-abdominal infections in patients with sepsis: a prospective observational cohort study //BMJ open. – 2015. – V. 5. – №. 1. – P. e006616.
241. Mantovani A. et al. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity //Nature reviews immunology. – 2011. – V. 11. – №. 8. – P. 519-531.
242. Marc E. et al. Procalcitonin and viral meningitis: reduction of unnecessary antibiotics by measurement during an outbreak //Archives de Pediatrie: Organe Officiel de la Societe Francaise de Pediatrie. – 2002. – V. 9. – №. 4. – P. 358-364.
243. Marnell L., Mold C., Du Clos T. W. C-reactive protein: ligands, receptors and role in inflammation //Clinical immunology. – 2005. – V. 117. – №. 2. – P. 104-111.
244. Marshall J., Tania R. Terminology and conceptual challenges // In: Sepsis and multiple organ dysfunctions: a multidisciplinary approach. – W.B. Saunders. – 2002. – P. 12–18.
245. Marshall J. C., Reinhart K. International sepsis forum. Biomarkers of sepsis //Crit Care Med. – 2009. – V. 37. – №. 7. – P. 2290-8.
246. Martí L. et al. Respuesta inflamatoria en pacientes ancianos con bacteriemia //Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. – 2008. – V. 26. – №. 3. – P. 146-149.
247. Martin G. S. et al. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000 //New England Journal of Medicine. – 2003. – V. 348. – №. 16. – P. 1546-1554.

248. Martínez A. et al. Matrix metalloproteinase-2 cleavage of adrenomedullin produces a vasoconstrictor out of a vasodilator //Biochemical journal. – 2004. – V. 383. – №. 3. – P. 413-418.
249. Masson S. et al. Circulating presepsin (soluble CD14 subtype) as a marker of host response in patients with severe sepsis or septic shock: data from the multicenter, randomized ALBIOS trial //Intensive Care Medicine. – 2015. – V. 41. – №. 1. – P. 12-20.
250. Mat Nor M. B., Md Ralib A. Procalcitonin clearance for early prediction of survival in critically ill patients with severe sepsis //Critical care research and practice. – 2014. – V. 2014.
251. Matwiyoff G. N. et al. Immune regulation of procalcitonin: a biomarker and mediator of infection //Inflammation Research. – 2012. – V. 61. – №. 5. – P. 401-409.
252. McHugh L. et al. A molecular host response assay to discriminate between sepsis and infection-negative systemic inflammation in critically ill patients: discovery and validation in independent cohorts //PLoS medicine. – 2015. – V. 12. – №. 12. – P. e1001916.
253. McLatchie L. M. et al. RAMPs regulate the transport and ligand specificity of the calcitonin-receptor-like receptor //Nature. – 1998. – V. 393. – №. 6683. – P. 333-339.
254. Meeran K. et al. Circulating adrenomedullin does not regulate systemic blood pressure but increases plasma prolactin after intravenous infusion in humans: a pharmacokinetic study //The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 1997. – V. 82. – №. 1. – P. 95-100.
255. Meeran K. et al. The adrenomedullin receptor acts as clearance receptor in pulmonary circulation //Biochemical and biophysical research communications. – 2002. – V. 294. – №. 2. – P. 315-318.
256. Meisner M. et al. The natural elimination rate of procalcitonin in patients with normal and impaired renal function //Intensive care medicine. – 2000. – V. 26. – №. 2. – P. S212-S216.

257. Meisner M. P. A new innovative infection parameter. Biochemical and clinical aspects //Stuttgard: Georq. Tieme. Verqlad. – 2000. – P. 196.
258. Meisner M. et al. The plasma elimination rate and urinary secretion of procalcitonin in patients with normal and impaired renal function //European journal of anaesthesiology. – 2001. – V. 18. – №. 2. – P. 79-87.
259. Meisner M. Pathobiochemistry and clinical use of procalcitonin //Clinica chimica acta. – 2002. – V. 323. – №. 1-2. – P. 17-29.
260. Meisner M., Adina H., Schmidt J. Correlation of procalcitonin and C-reactive protein to inflammation, complications, and outcome during the intensive care unit course of multiple-trauma patients //Critical care. – 2005. – V. 10. – №. 1. – P. 1-10.
261. Mellhammar L. et al. Sepsis incidence: a population-based study //Open forum infectious diseases. – Oxford University Press, 2016. – V. 3. – №. 4.
262. Memar M. Y. et al. Immunologic biomarkers for diagnostic of early-onset neonatal sepsis //The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine. – 2019. – V. 32. – №. 1. – P. 143-153.
263. Memar M. Y., Baghi H. B. Presepsin: A promising biomarker for the detection of bacterial infections //Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2019. – V. 111. – P. 649-656.
264. Meng F. S. et al. Serum procalcitonin at the time of admission to the ICU as a predictor of short-term mortality //Clinical biochemistry. – 2009. – V. 42. – №. 10-11. – P. 1025-1031.
265. Miguel D. et al. Cord blood plasma reference intervals for potential sepsis markers: pro-adrenomedullin, pro-endothelin, and pro-atrial natriuretic peptide //Clinical biochemistry. – 2011. – V. 44. – №. 4. – P. 337-341.
266. Mikkelsen M. E. et al. Serum lactate is associated with mortality in severe sepsis independent of organ failure and shock //Critical care medicine. – 2009. – V. 37. – №. 5. – P. 1670-1677.
267. Mócsai A. Diverse novel functions of neutrophils in immunity, inflammation, and beyond //Journal of Experimental Medicine. – 2013. – V. 210. – №. 7. – P. 1283-1299.

268. Monastero R. N., Pentylala S. Cytokines as biomarkers and their respective clinical cutoff levels //International journal of inflammation. – 2017. – V. 2017.
269. Monneret G. et al. Calcitonin gene related peptide and N-procalcitonin modulate CD11b upregulation in lipopolysaccharide activated monocytes and neutrophils //Intensive care medicine. – 2003. – V. 29. – №. 6. – P. 923-928.
270. Moya F., Nieto A., R- Candela L. R. Calcitonin biosynthesis: evidence for a precursor //European journal of biochemistry. – 1975. – V. 55. – №. 2. – P. 407-413.
271. Müller B. et al. Ubiquitous expression of the calcitonin-i gene in multiple tissues in response to sepsis //The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2001. – V. 86. – №. 1. – P. 396-404.
272. Müller F. et al. Procalcitonin levels predict bacteremia in patients with community-acquired pneumonia: a prospective cohort trial //Chest. – 2010. – V. 138. – №. 1. – P. 121-129.
273. Munford R. S. Sensing gram-negative bacterial lipopolysaccharides: a human disease determinant? //Infection and immunity. – 2008. – V. 76. – №. 2. – P. 454-465.
274. Murray P. R., Masur H. Current approaches to the diagnosis of bacterial and fungal bloodstream infections for the ICU //Critical care medicine. – 2012. – V. 40. – №. 12. – P. 3277.
275. Nagatomo Y. et al. Proadrenomedullin N-terminal 20 peptide is rapidly cleaved by neutral endopeptidase //Biochemical and biophysical research communications. – 1996. – V. 223. – №. 3. – P. 539-543.
276. Nagaya N. et al. Haemodynamic and hormonal effects of adrenomedullin in patients with pulmonary hypertension //Heart. – 2000. – V. 84. – №. 6. – P. 653-658.
277. Nakamura K. et al. Vasodilative effect of adrenomedullin in isolated arteries of the dog //The Japanese Journal of Pharmacology. – 1995. – V. 67. – №. 3. – P. 259-262.
278. Nakamura M. et al. Potent and long-lasting vasodilatory effects of adrenomedullin in humans: comparisons between normal subjects and patients with chronic heart failure //Circulation. – 1997. – V. 95. – №. 5. – P. 1214-1221.

279. Nakamura Y. et al. Usefulness of presepsin in the diagnosis of sepsis in patients with or without acute kidney injury //BMC anesthesiology. – 2014. – V. 14. – №. 1. – P. 1-7.
280. Neefjes J. et al. Towards a systems understanding of MHC class I and MHC class II antigen presentation //Nature reviews immunology. – 2011. – V. 11. – №. 12. – P. 823-836.
281. Nichol A. D. et al. Relative hyperlactatemia and hospital mortality in critically ill patients: a retrospective multi-centre study //Critical care. – 2010. – V. 14. – №. 1. – P. 1-9.
282. Noah T. L. et al. Nasal cytokine production in viral acute upper respiratory infection of childhood //Journal of Infectious Diseases. – 1995. – V. 171. – №. 3. – P. 584-592.
283. Nobre V. et al. Use of procalcitonin to shorten antibiotic treatment duration in septic patients: a randomized trial //American journal of respiratory and critical care medicine. – 2008. – V. 177. – №. 5. – P. 498-505.
284. Nuki C. et al. Vasodilator effect of adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide receptors in rat mesenteric vascular beds //Biochemical and biophysical research communications. – 1993. – V. 196. – №. 1. – P. 245-251.
285. O'Grady N. P. et al. Guidelines for evaluation of new fever in critically ill adult patients: 2008 update from the American College of Critical Care Medicine and the Infectious Diseases Society of America //Critical care medicine. – 2008. – V. 36. – №. 4. – P. 1330-1349.
286. Okorie O. N., Dellinger P. Lactate: biomarker and potential therapeutic target //Critical care clinics. – 2011. – V. 27. – №. 2. – P. 299-326.
287. Önal U. et al. Mid-regional pro-adrenomedullin (MR-proADM) as a biomarker for sepsis and septic shock: narrative review //Healthcare. – MDPI, 2018. – V. 6. – №. 3. – P. 110.

288. Opal S. M. et al. Relationship between plasma levels of lipopolysaccharide (LPS) and LPS-binding protein in patients with severe sepsis and septic shock //The Journal of infectious diseases. – 1999. – V. 180. – №. 5. – P. 1584-1589.
289. Opota O. et al. Blood culture-based diagnosis of bacteraemia: state of the art //Clinical Microbiology and Infection. – 2015. – V. 21. – №. 4. – P. 313-322.
290. Park B. S., Lee J. O. Recognition of lipopolysaccharide pattern by TLR4 complexes //Experimental & molecular medicine. – 2013. – V. 45. – №. 12. – P. e66-e66.
291. Parkes D. G., May C. N. Direct cardiac and vascular actions of adrenomedullin in conscious sheep //British journal of pharmacology. – 1997. – V. 120. – №. 6. – P. 1179-1185.
292. Parnell G. et al. Aberrant cell cycle and apoptotic changes characterise severe influenza A infection—a meta-analysis of genomic signatures in circulating leukocytes //Plos one. – 2011. – V. 6. – №. 3. – P. e17186.
293. Passaglia P. et al. Pharmacological characterisation of the mechanisms underlying the relaxant effect of adrenomedullin in the rat carotid artery //Journal of Pharmacy and Pharmacology. – 2014. – V. 66. – №. 12. – P. 1734-1746.
294. Patrick M. Honore et al. Cytokine removal in human septic shock: where are we and where are we going? //Annals of intensive care. – 2019. – V. 9. – №. 1. – P. 1-13.
295. Payen D. M. et al. Early use of polymyxin B hemoperfusion in patients with septic shock due to peritonitis: a multicenter randomized control trial //Intensive care medicine. – 2015. – V. 41. – №. 6. – P. 975-984.
296. Perera P. Y. et al. CD11b/CD18 acts in concert with CD14 and Toll-like receptor (TLR) 4 to elicit full lipopolysaccharide and taxol-inducible gene expression //The Journal of Immunology. – 2001. – V. 166. – №. 1. – P. 574-581.
297. Pierrakos C., Vincent J. L. Sepsis biomarkers: a review //Critical care. – 2010. – V. 14. – №. 1. – P. 1-18.

298. Pinsky M. R. et al. Serum cytokine levels in human septic shock: relation to multiple-system organ failure and mortality //Chest. – 1993. – V. 103. – №. 2. – P. 565-575.
299. Pio R. et al. Complement factor H is a serum-binding protein for adrenomedullin, and the resulting complex modulates the bioactivities of both partners //Journal of Biological Chemistry. – 2001. – V. 276. – №. 15. – P. 12292-12300.
300. Ploug M. et al. Cellular receptor for urokinase plasminogen activator. Carboxyl-terminal processing and membrane anchoring by glycosyl-phosphatidylinositol //Journal of Biological Chemistry. – 1991. – V. 266. – №. 3. – P. 1926-1933.
301. Poddar B. et al. Procalcitonin kinetics as a prognostic marker in severe sepsis/septic shock //Indian journal of critical care medicine: peer-reviewed, official publication of Indian Society of Critical Care Medicine. – 2015. – V. 19. – №. 3. – P. 140.
302. Povoia P. et al. C-reactive protein as an indicator of sepsis //Intensive care medicine. – 1998. – V. 24. – №. 10. – P. 1052-1056
303. Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline. CLSI M-47A. – 2007.
304. Puskarich M. A. et al. Whole blood lactate kinetics in patients undergoing quantitative resuscitation for severe sepsis and septic shock //Chest. – 2013. – V. 143. – №. 6. – P. 1548-1553.
305. Qiu P. et al. The evolving experience with therapeutic TNF inhibition in sepsis: considering the potential influence of risk of death //Expert opinion on investigational drugs. – 2011. – V. 20. – №. 11. – P. 1555-1564.
306. Rademaker M. T. et al. Combined endopeptidase inhibition and adrenomedullin in sheep with experimental heart failure //Hypertension. – 2002. – V. 39. – №. 1. – P. 93-98.
307. Radford-Smith G., Jewell D. P. 10 Cytokines and inflammatory bowel disease //Baillière's clinical gastroenterology. – 1996. – V. 10. – №. 1. – P. 151-164.

308. Raith E. P. et al. Prognostic accuracy of the SOFA score, SIRS criteria, and qSOFA score for in-hospital mortality among adults with suspected infection admitted to the intensive care unit //Jama. – 2017. – V. 317. – №. 3. – P. 290-300.
309. Ramilo O. et al. Gene expression patterns in blood leukocytes discriminate patients with acute infections //Blood. – 2007. – V. 109. – №. 5. – P. 2066-2077.
310. Rautanen A. et al. Genome-wide association study of survival from sepsis due to pneumonia: an observational cohort study //The Lancet Respiratory Medicine. – 2015. – V. 3. – №. 1. – P. 53-60.
311. Reddy A. J. et al. Lactic acidosis: clinical implications and management strategies //Cleve Clin J Med. – 2015. – V. 82. – №. 9. – P. 615-624.
312. Reinhart K., Meisner M. Biomarkers in the critically ill patient: procalcitonin //Critical care clinics. – 2011. – V. 27. – №. 2. – P. 253-263.
313. Rello J. et al. Towards precision medicine in sepsis: a position paper from the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases //Clinical Microbiology and Infection. – 2018. – V. 24. – №. 12. – P. 1264-1272.
314. Ren H. et al. Serum procalcitonin as a diagnostic biomarker for sepsis in burned patients: a meta-analysis //Burns. – 2015. – V. 41. – №. 3. – P. 502-509.
315. Rey C. et al. Pro-adrenomedullin, pro-endothelin-1, procalcitonin, C-reactive protein and mortality risk in critically ill children: a prospective study //Critical care. – 2013. – V. 17. – №. 5. – P. 1-9.
316. Rhodes A. et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016 //Intensive care medicine. – 2017. – V. 43. – №. 3. – P. 304-377.
317. Rice L. B. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE //The Journal of infectious diseases. – 2008. – V. 197. – №. 8. – P. 1079-1081.
318. Riedel S. et al. Procalcitonin as a marker for the detection of bacteremia and sepsis in the emergency department //American journal of clinical pathology. – 2011. – V. 135. – №. 2. – P. 182-189.

319. Rivers E. P. et al. The influence of early hemodynamic optimization on biomarker patterns of severe sepsis and septic shock //Critical care medicine. – 2007. – V. 35. – №. 9. – P. 2016-2024.
320. Rodriguez W. et al. C-reactive protein-mediated suppression of nephrotoxic nephritis: role of macrophages, complement, and Fcγ receptors //The Journal of Immunology. – 2007. – V. 178. – №. 1. – P. 530-538.
321. Rosenqvist M. et al. Biomarkers to guide antibiotic timing and administration in infected patients presenting to the emergency department //Critical Care. – 2019. – V. 23. – №. 1. – P. 1-3.
322. Rossi F. et al. Adrenomedullin inhibits angiotensin II-induced contraction in human aortic smooth muscle cells //Regulatory peptides. – 2006. – V. 133. – №. 1-3. – P. 155-159.
323. Ruiz-Rodríguez J. C. et al. Usefulness of procalcitonin clearance as a prognostic biomarker in septic shock. A prospective pilot study //Medicina Intensiva (English Edition). – 2012. – V. 36. – №. 7. – P. 475-480.
324. Rullé S. et al. Adrenomedullin, a neuropeptide with immunoregulatory properties induces semi-mature tolerogenic dendritic cells //Immunology. – 2012. – V. 136. – №. 2. – P. 252-264.
325. Saeed S. et al. Epigenetic programming of monocyte-to-macrophage differentiation and trained innate immunity //science. – 2014. – V. 345. – №. 6204. – P. 1251086.
326. Sakr Y. et al. Lipopolysaccharide binding protein in a surgical intensive care unit: a marker of sepsis? //Critical care medicine. – 2008. – V. 36. – №. 7. – P. 2014-2022.
327. Samraj R. S., Zingarelli B., Wong H. R. Role of biomarkers in sepsis care //Shock (Augusta, Ga.). – 2013. – V. 40. – №. 5. – P. 358.
328. Sandquist M., Wong H. R. Biomarkers of sepsis and their potential value in diagnosis, prognosis and treatment //Expert review of clinical immunology. – 2014. – V. 10. – №. 10. – P. 1349-1356.

329. Sands K. E. et al. Academic medical center consortium sepsis project working group: epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers //JAMA. – 1997. – V. 278. – №. 3. – P. 234-240.
330. Sargentini V. et al. Presepsin as a potential marker for bacterial infection relapse in critical care patients. A preliminary study //Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). – 2015. – V. 53. – №. 4. – P. 567-573.
331. Schönauer R. et al. Fluorescently labeled adrenomedullin allows real-time monitoring of adrenomedullin receptor trafficking in living cells //Journal of Peptide Science. – 2015. – V. 21. – №. 12. – P. 905-912.
332. Schönauer R., Els-Heindl S., Beck-Sickinger A. G. Adrenomedullin—new perspectives of a potent peptide hormone //Journal of Peptide Science. – 2017. – V. 23. – №. 7-8. – P. 472-485.
333. Schuetz P. et al. Circulating precursor levels of endothelin-1 and adrenomedullin, two endothelium-derived, counteracting substances, in sepsis //Endothelium. – 2007. – V. 14. – №. 6. – P. 345-351.
334. Schuetz P., Mueller B. Biomarker-guided de-escalation of empirical therapy is associated with lower risk for adverse outcomes //Intensive Care Medicine. – 2014. – V. 40. – №. 1. – P. 141-141.
335. Schuetz P. et al. Overview of procalcitonin assays and procalcitonin-guided protocols for the management of patients with infections and sepsis //Expert review of molecular diagnostics. – 2017. – V. 17. – №. 6. – P. 593-601.
336. Schuetz P. et al. Biomarkers from distinct biological pathways improve early risk stratification in medical emergency patients: the multinational, prospective, observational TRIAGE study //Critical Care. – 2015. – V. 19. – №. 1. – P. 1-11.
337. Schuetz P. et al. Procalcitonin (PCT)-guided antibiotic stewardship: an international experts consensus on optimized clinical use //Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). – 2019. – V. 57. – №. 9. – P. 1308-1318.

338. Schulte B. et al. Detection of pneumonia associated pathogens using a prototype multiplexed pneumonia test in hospitalized patients with severe pneumonia //PLOS One. – 2014. – V. 9. – №. 11. – P. e110566.
339. Schüttrumpf S. et al. Utility of procalcitonin concentration in the evaluation of patients with malignant diseases and elevated C-reactive protein plasma concentrations //Clinical infectious diseases. – 2006. – V. 43. – №. 4. – P. 468-473.
340. Scicluna B. P. et al. A molecular biomarker to diagnose community-acquired pneumonia on intensive care unit admission //American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 2015. – V. 192. – №. 7. – P. 826-835.
341. Scicluna B. P. et al. Classification of patients with sepsis according to blood genomic endotype: a prospective cohort study //The Lancet Respiratory Medicine. – 2017. – V. 5. – №. 10. – P. 816-826.
342. Scott H. F. et al. The utility of early lactate testing in undifferentiated pediatric systemic inflammatory response syndrome //Academic emergency medicine. – 2012. – V. 19. – №. 11. – P. 1276-1280.
343. Scott H. F. et al. Association between early lactate levels and 30-day mortality in clinically suspected sepsis in children //JAMA pediatrics. – 2017. – V. 171. – №. 3. – P. 249-255.
344. Sekine N. et al. Adrenomedullin inhibits insulin exocytosis via pertussis toxin-sensitive G protein-coupled mechanism //American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. – 2006. – V. 291. – №. 1. – P. E9-E14.
345. Sexton P. M. et al. Procalcitonin has bioactivity at calcitonin receptor family complexes: potential mediator implications in sepsis //Critical care medicine. – 2008. – V. 36. – №. 5. – P. 1637-1640.
346. Seymour C. W. et al. Assessment of clinical criteria for sepsis: for the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3) //Jama. – 2016. – V. 315. – №. 8. – P. 762-774.

347. Seymour C. W. et al. Time to treatment and mortality during mandated emergency care for sepsis //New England Journal of Medicine. – 2017. – V. 376. – №. 23. – P. 2235-2244.
348. Shankar-Hari M. et al. Developing a new definition and assessing new clinical criteria for septic shock: for the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3) //Jama. – 2016. – V. 315. – №. 8. – P. 775-787.
349. Shapiro N. I. et al. Serum lactate as a predictor of mortality in emergency department patients with infection //Annals of emergency medicine. – 2005. – V. 45. – №. 5. – P. 524-528.
350. Singer M. et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) //Jama. – 2016. – V. 315. – №. 8. – P. 801-810.
351. Simon L. et al. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis //Clinical infectious diseases. – 2004. – V. 39. – №. 2. – P. 206-217.
352. Spoto S. et al. Procalcitonin and MR-proadrenomedullin combination with SOFA and qSOFA scores for sepsis diagnosis and prognosis: a diagnostic algorithm //Shock. – 2018. – V. 50. – №. 1. – P. 44-52.
353. Sprung C. L. et al. An evaluation of systemic inflammatory response syndrome signs in the Sepsis Occurrence In Acutely Ill Patients (SOAP) study //Intensive care medicine. – 2006. – V. 32. – №. 3. – P. 421-427.
354. Sridharan P., Chamberlain R. S. The efficacy of procalcitonin as a biomarker in the management of sepsis: slaying dragons or tilting at windmills? //Surgical infections. – 2013. – V. 14. – №. 6. – P. 489-511.
355. Stolz D. et al. Antibiotic treatment of exacerbations of COPD: a randomized, controlled trial comparing procalcitonin-guidance with standard therapy //Chest. – 2007. – V. 131. – №. 1. – P. 9-19.
356. Struck J. et al. Identification of an adrenomedullin precursor fragment in plasma of sepsis patients //Peptides. – 2004. – V. 25. – №. 8. – P. 1369-1372.

357. Stucker F. et al. Procalcitonin and infection in elderly patients //Journal of the American Geriatrics Society. – 2005. – V. 53. – №. 8. – P. 1392-1395.
358. Suarez N. M. et al. Superiority of transcriptional profiling over procalcitonin for distinguishing bacterial from viral lower respiratory tract infections in hospitalized adults //The Journal of infectious diseases. – 2015. – V. 212. – №. 2. – P. 213-222.
359. Suberviola B. et al. Valor pronóstico del aclaramiento de procalcitonina, PCR y leucocitos en el shock séptico //Medicina intensiva. – 2012. – V. 36. – №. 3. – P. 177-184.
360. Suberviola B. et al. Hospital mortality prognostication in sepsis using the new biomarkers suPAR and proADM in a single determination on ICU admission //Intensive care medicine. – 2013. – V. 39. – №. 11. – P. 1945-1952.
361. Sundquist T., Bessetti J. Identifying and preventing DNA contamination in a DNA-Typing Laboratory //Profiles in DNA. September. – 2005. – P. 11-13.
362. Takeda K., Kaisho T., Akira S. Toll-like receptors //Annual review of immunology. – 2003. – V. 21. – P. 335.
363. Takeuchi O., Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation //Cell. – 2010. – V. 140. – №. 6. – P. 805-820.
364. Tamaki K. et al. Diagnostic accuracy of serum procalcitonin concentrations for detecting systemic bacterial infection in patients with systemic autoimmune diseases //The Journal of rheumatology. – 2008. – V. 35. – №. 1. – P. 114-119.
365. Tan M. et al. The diagnostic accuracy of procalcitonin and C-reactive protein for sepsis: A systematic review and meta-analysis //Journal of cellular biochemistry. – 2019. – V. 120. – №. 4. – P. 5852-5859.
366. Tang B. M. P. et al. Accuracy of procalcitonin for sepsis diagnosis in critically ill patients: systematic review and meta-analysis //The Lancet infectious diseases. – 2007. – V. 7. – №. 3. – P. 210-217.
367. Tang D. et al. PAMP s and DAMP s: signal 0s that spur autophagy and immunity //Immunological reviews. – 2012. – V. 249. – №. 1. – P. 158-175.

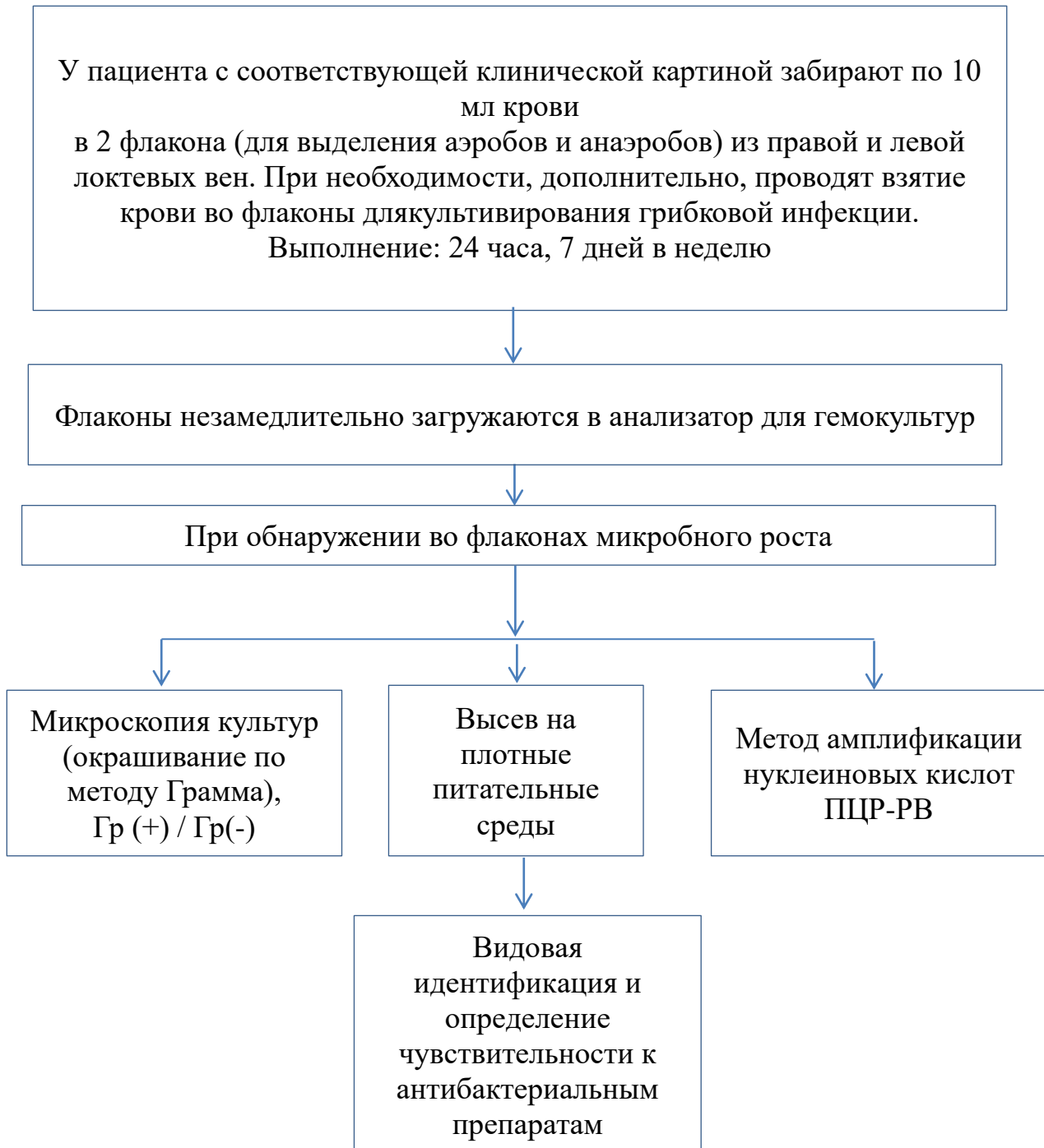
368. Thiele I. et al. A community-driven global reconstruction of human metabolism //Nature biotechnology. – 2013. – V. 31. – №. 5. – P. 419-425.
369. Tillett W. S., Francis Jr T. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus //The Journal of experimental medicine. – 1930. – V. 52. – №. 4. – P. 561.
370. Ton A. M. et al. Precision immunotherapy for sepsis //Frontiers in immunology. – 2018. – V. 9. – P. 1926.
371. Travaglino F. et al. Utility of Procalcitonin (PCT) and Mid regional pro-Adrenomedullin (MR-proADM) in risk stratification of critically ill febrile patients in Emergency Department (ED). A comparison with APACHE II score //BMC infectious diseases. – 2012. – V. 12. – №. 1. – P. 1-8.
372. Tsalik E. L. et al. Multiplex PCR to diagnose bloodstream infections in patients admitted from the emergency department with sepsis //Journal of clinical microbiology. – 2010. – V. 48. – №. 1. – P. 26-33.
373. Tsalik E. L. et al. Host gene expression classifiers diagnose acute respiratory illness etiology //Science translational medicine. – 2016. – V. 8. – №. 322. – P. 322ra11-322ra11.
374. Tsujimoto K. et al. Presepsin and procalcitonin as biomarkers of systemic bacterial infection in patients with rheumatoid arthritis //International journal of rheumatic diseases. – 2018. – V. 21. – №. 7. – P. 1406-1413.
375. Tsantes A. et al. The role of procalcitonin and IL-6 in discriminating between septic and non-septic causes of ALI/ARDS: a prospective observational study //Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. – 2013. – V. 51. – №. 7. – P. 1535-1542.
376. Tudela P. et al. Biomarcadores y sospecha de infección en los servicios de urgencias //Med. clín (Ed. impr.). – 2012. – P. 33-37.
377. Uhle F. et al. Pathogenic, immunologic, and clinical aspects of sepsis—update 2016 //Expert Review of Anti-Infective Therapy. – 2016. – V. 14. – №. 10. – P. 917-927.

378. Ulla M. et al. Diagnostic and prognostic value of presepsin in the management of sepsis in the emergency department: a multicenter prospective study //Critical care. – 2013. – V. 17. – №. 4. – P. 1-8.
379. Unuma K. et al. Presepsin: A potential superior diagnostic biomarker for the postmortem differentiation of sepsis based on the Sepsis-3 criteria //Forensic science international. – 2019. – V. 299. – P. 17-20.
380. Uusitalo-Seppälä R. et al. Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor in patients with suspected infection in the emergency room: a prospective cohort study //Journal of internal medicine. – 2012. – V. 272. – №. 3. – P. 247-256.
381. Valenzuela Sanchez F. et al. Diagnostic and prognostic usefulness of mid-regional pro-adrenomedullin levels in patients with severe sepsis //Intensive Care Medicine Experimental. – 2015. – V. 3. – №. 1. – P. 1-3.
382. Valenzuela-Sánchez F. et al. Personalized medicine in severe influenza //European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. – 2016. – V. 35. – №. 6. – P. 893-897.
383. Valenzuela-Sanchez F. et al. New role of biomarkers: mid-regional pro-adrenomedullin, the biomarker of organ failure //Annals of translational medicine. – 2016. – V. 4. – №. 17.
384. Van Engelen T. S. R. et al. Biomarkers in sepsis //Critical care clinics. – 2018. – V. 34. – №. 1. – P. 139-152.
385. Van der Poll T. et al. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets //Nature Reviews Immunology. – 2017. – V. 17. – №. 7. – P. 407-420.
386. Venet F. et al. Monitoring the immune response in sepsis: a rational approach to administration of immunoadjuvant therapies //Current opinion in immunology. – 2013. – V. 25. – №. 4. – P. 477-483.
387. Vandijck D. M. et al. Daily cost of antimicrobial therapy in patients with intensive care unit-acquired, laboratory-confirmed bloodstream infection //International journal of antimicrobial agents. – 2008. – V. 31. – №. 2. – P. 161-165.

388. Vijayan A. L. et al. Procalcitonin: a promising diagnostic marker for sepsis and antibiotic therapy //Journal of intensive care. – 2017. – V. 5. – №. 1. – P. 1-7.
389. Vincent J. L. et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. – 1996.
390. Vincent J. L. et al. on behalf of the “Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patient” investigators. High tidal volume and positive fluid balance are associated with worse outcome in acute lung injury //Chest. – 2005.
391. Vincent J. L., Donadello K., Schmit X. Biomarkers in the critically ill patient: C-reactive protein //Critical care clinics. – 2011. – V. 27. – №. 2. – P. 241-251.
392. Vincent J. L., Beumier M. Diagnostic and prognostic markers in sepsis //Expert review of anti-infective therapy. – 2013. – V. 11. – №. 3. – P. 265-275.
393. Vincent J. L. et al. Sepsis definitions: time for change //Lancet (London, England). – 2013. – V. 381. – №. 9868. – P. 774.
394. Vincent J. L., Mira J. P., Antonelli M. Sepsis: older and newer concepts //The Lancet Respiratory Medicine. – 2016. – V. 4. – №. 3. – P. 237-240.
395. Wacharasint P. et al. Normal-range blood lactate concentration in septic shock is prognostic and predictive //Shock. – 2012. – V. 38. – №. 1. – P. 4-10.
396. Wacker C. et al. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: a systematic review and meta-analysis //The Lancet infectious diseases. – 2013. – V. 13. – №. 5. – P. 426-435.
397. Walsh T. J. et al. Antimicrobial activity of adrenomedullin and its gene-related peptides //Clin Infect Dis. – 1998. V. 23. – P. 96.
398. Wang F. et al. Prognostic significance of serum procalcitonin in patients with burn sepsis //Zhonghua Shao Shang za zhi= Zhonghua Shaoshang Zazhi= Chinese Journal of Burns. – 2014. – V. 30. – №. 3. – P. 223-226.
399. Washimine H. et al. Immunoreactive proadrenomedullin N-terminal 20 peptide in human tissue, plasma and urine //Biochemical and biophysical research communications. – 1994. – V. 202. – №. 2. – P. 1081-1087.

400. Watkins H. A. et al. Identification of key residues involved in adrenomedullin binding to the AM1 receptor //British journal of pharmacology. – 2013. – V. 169. – №. 1. – P. 143-155.
401. Weber G. F., Swirski F. K. Immunopathogenesis of abdominal sepsis //Langenbeck's archives of surgery. – 2014. – V. 399. – №. 1. – P. 1-9.
402. Wei J. X. et al. Examination of the effect of procalcitonin on human leucocytes and the porcine isolated coronary artery //British journal of anaesthesia. – 2008. – V. 100. – №. 5. – P. 612-621.
403. Westwood M. et al. Procalcitonin testing to guide antibiotic therapy for the treatment of sepsis in intensive care settings and for suspected bacterial infection in emergency department settings: a systematic review and cost-effectiveness analysis //Health Technology Assessment. – 2015. – V. 19. – №. 96. – P. 3-236.
404. Whippy A. et al. Kaiser Permanente's performance improvement system, part 3: multisite improvements in care for patients with sepsis //The Joint Commission Journal on Quality and Patient Safety. – 2011. – V. 37. – №. 11. – P. 483-AP3.
405. Wong H. R. et al. Endotype transitions during the acute phase of pediatric septic shock reflect changing risk and treatment response //Critical ca
406. Wu Y. et al. C-reactive protein and inflammation: conformational changes affect function //Biological chemistry. – 2015. – V. 396. – №. 11. – P. 1181-1197.
407. Wu C. C. et al. Comparison of diagnostic accuracy in sepsis between presepsin, procalcitonin, and C-reactive protein: a systematic review and meta-analysis //Annals of intensive care. – 2017. – V. 7. – №. 1. – P. 1-16.
408. Wurfel M. M. et al. Toll-like receptor 1 polymorphisms affect innate immune responses and outcomes in sepsis //American journal of respiratory and critical care medicine. – 2008. – V. 178. – №. 7. – P. 710-720.
409. Yaegashi Y. et al. Evaluation of a newly identified soluble CD14 subtype as a marker for sepsis //Journal of Infection and Chemotherapy. – 2005. – V. 11. – №. 5. – P. 234-23

410. Yang Li . et al. Inter-individual variability and genetic influences on cytokine responses to bacteria and fungi //Nature medicine. – 2016. – V. 22. – №. 8. – P. 952-960.
411. Yoshimoto R. et al. Effects of adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide on contractions of the rat aorta and porcine coronary artery //British journal of pharmacology. – 1998. – V. 123. – №. 8. – P. 1645-1654.
412. Zweigner J. et al. High concentrations of lipopolysaccharide-binding protein in serum of patients with severe sepsis or septic shock inhibit the lipopolysaccharide response in human monocytes //Blood, The Journal of the American Society of Hematology. – 2001. – V. 98. – №. 13. – P. 3800-3808.

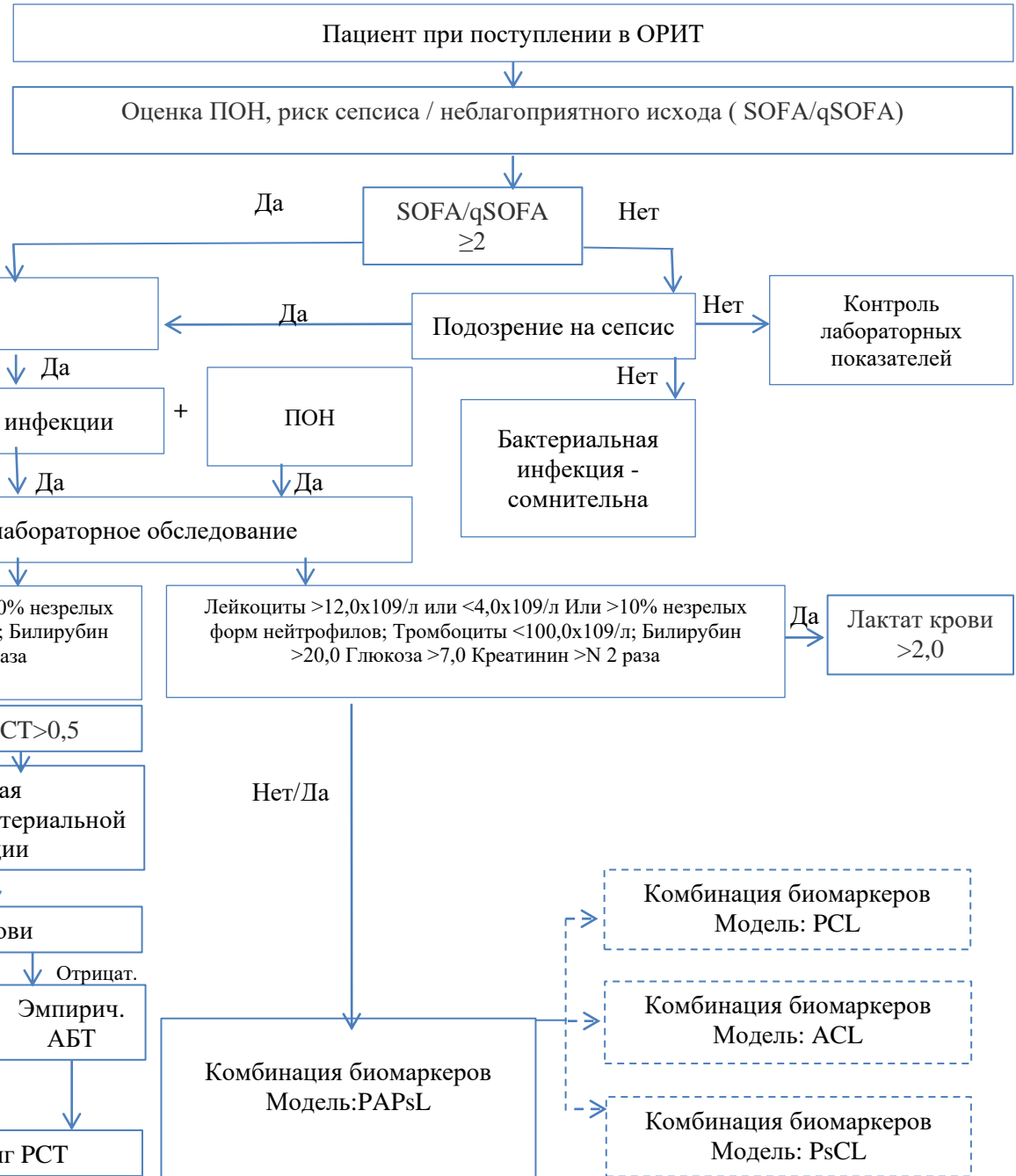
ПРИЛОЖЕНИЯ:**Приложение 1.****Алгоритм лабораторной диагностики инфекций кровотока**

Приложение 2.

Схема организации эпидемиологического мониторинга инфекций связанных с оказанием медицинской помощи



Приложение 3.



Лабораторные исследования

- Общий анализ крови
- Биохимия крови - ОРИТ
- РСТ
- Гемокультура
- ПЦР крови
- Комбинация биомаркеров

Приложение 4.

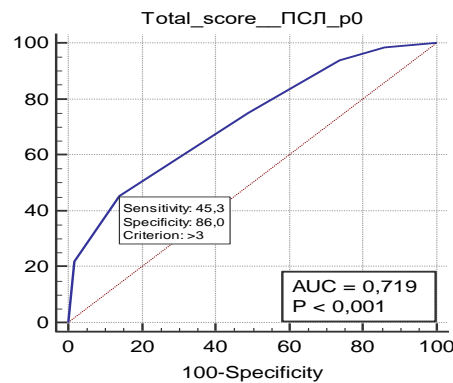
Оценка комбинации маркеров и выбор их пороговых значений с помощью ROC-кривых.

Исследуемая выборка пациентов ОРИТ: без установленного сепсиса / с установленным сепсисом и установленным сепсисом (SOFA \leq 2) /тяжелым сепсисом (SOFA > 2)

Данные представлены в динамике: 0-24 часа, 48 часов и 120 часов от поступления в ОРИТ:

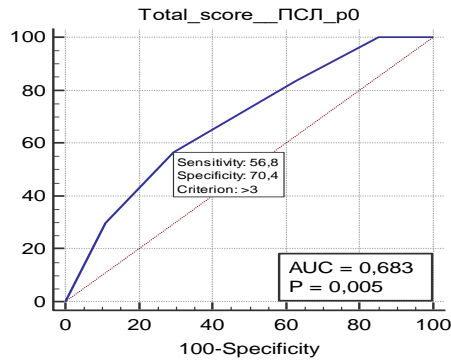
1. без установленного сепсиса / с установленным сепсисом
2. с установленным сепсисом (SOFA \leq 2) / с тяжелым сепсисом (SOFA > 2)

1. 0-24 часа поступления ОРИТ (без установленного сепсиса / с установленным сепсисом)



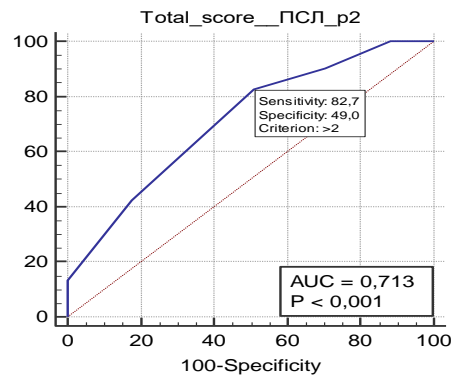
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
PCT ng/ml CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	0,719	0,044	<0,0001	0,630	0,797

2. 0-24 часа поступления ОРИТ (с установленным сепсисом (SOFA \leq 2) / с тяжелым сепсисом (SOFA $>$ 2))



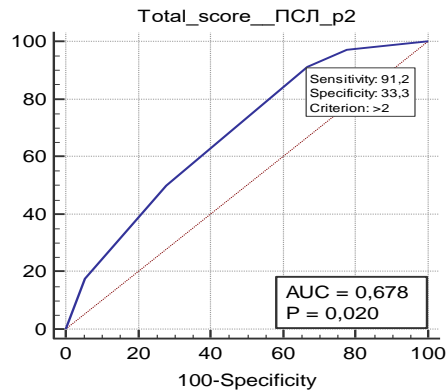
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
РСТ ng/ml CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	0,683	0,066	0,005	0,555	0,794

3. 48 часа от поступления ОРИТ (без установленного сепсиса / с установленным сепсисом)



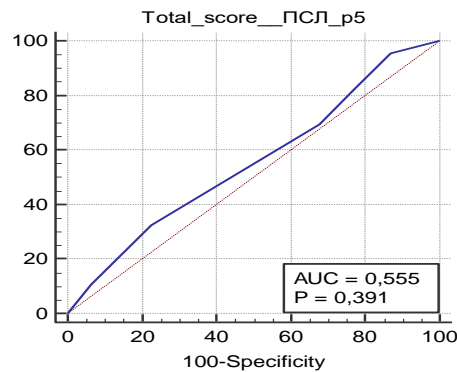
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
РСТ ng/ml CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	0,713	0,048	<0,0001	0,615	0,798

4. 48 часа от поступления ОРИТ (с установленным сепсисом (SOFA \leq 2) / с тяжелым сепсисом (SOFA $>$ 2))



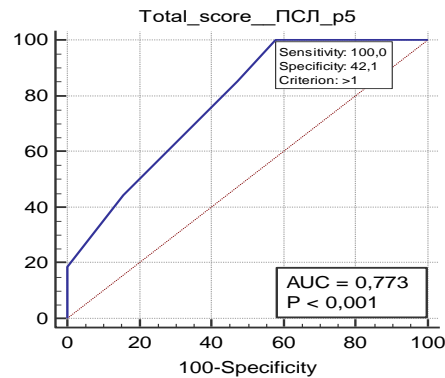
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
PCT ng/ml CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	0,678	0,077	0,0204	0,534	0,801

5. 120 часов поступления ОРИТ (без установленного сепсиса / с установленным сепсисом)



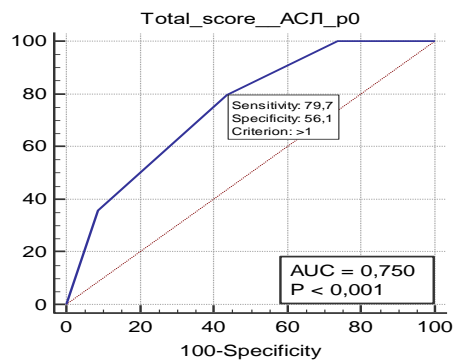
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
PCT ng/ml CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	0,555	0,065	0,391	0,438	0,669

6. 120 часов поступления ОРИТ (с установленным сепсисом (SOFA \leq 2) / с тяжелым сепсисом (SOFA $>$ 2))



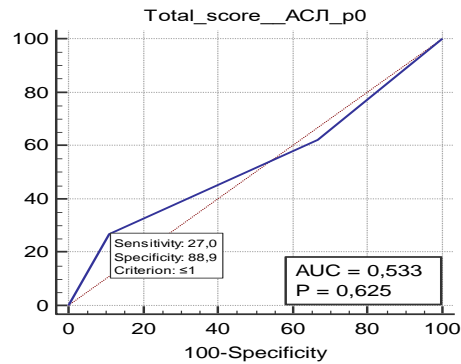
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
PCT ng/ml CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	0,773	0,077	0,0001	0,626	0,883

7. 0-24 часа поступления ОРИТ (без установленного сепсиса / с установленным сепсисом)



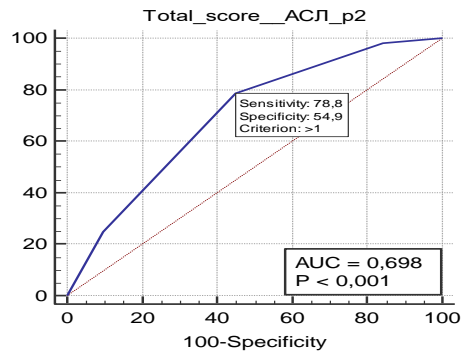
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
MR-proADM nmol/l CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	0,750	0,0414	<0,0001	0,663	0,824

8. 0-24 часа поступления ОРИТ (с установленным сепсисом (SOFA ≤ 2) / с тяжелым сепсисом (SOFA > 2))



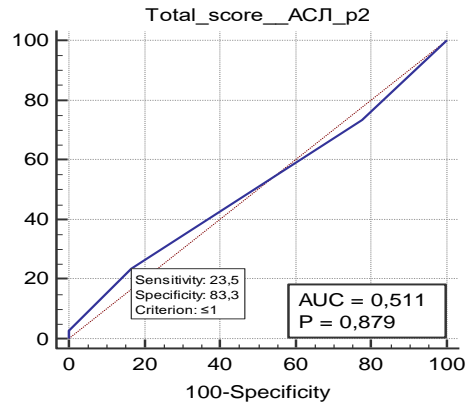
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
MR-proADM nmol/l CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	0,533	0,068	0,625	0,404	0,659

9. 48 часа от поступления ОРИТ (без установленного сепсиса / с установленным сепсисом)



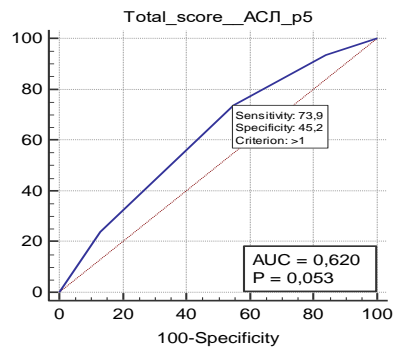
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
MR-proADM nmol/l CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	0,698	0,0482	<0,0001	0,599	0,784

10. 48 часа от поступления ОРИТ (с установленным сепсисом (SOFA \leq 2) / с тяжелым сепсисом (SOFA $>$ 2))



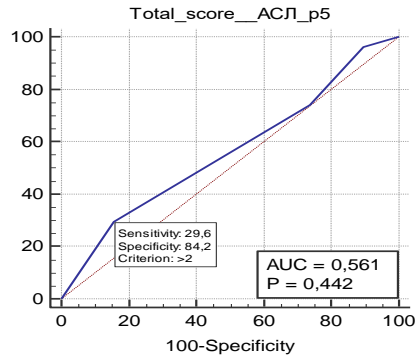
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
MR-proADM nmol/l CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	0,511	0,075	0,053	0,369	0,653

11. 120 часов от поступления ОРИТ (без установленного сепсиса / с установленным сепсисом)



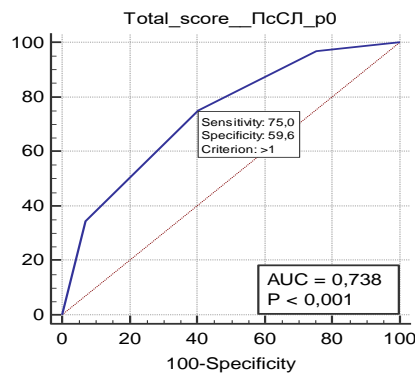
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
MR-proADM nmol/l CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	0,620	0,062	0,053	0,502	0,728

12. 120 часов поступления ОРИТ (с установленным сепсисом (SOFA \leq 2) / с тяжелым сепсисом (SOFA $>$ 2))



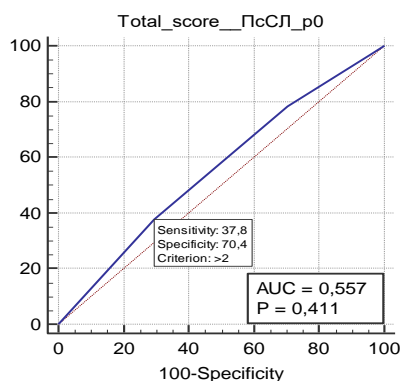
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
MR-proADM nmol/l CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	0,561	0,079	0,442	0,407	0,707

13. 0-24 часа поступления ОРИТ (без установленного сепсиса / с установленным сепсисом)



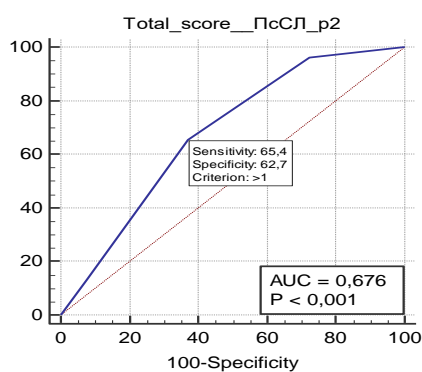
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
PRES pg/ml CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	0,738	0,042	<0,0001	0,650	0,813

14. 0-24 часа поступления ОРИТ (с установленным сепсисом (SOFA \leq 2) / с тяжелым сепсисом (SOFA $>$ 2))



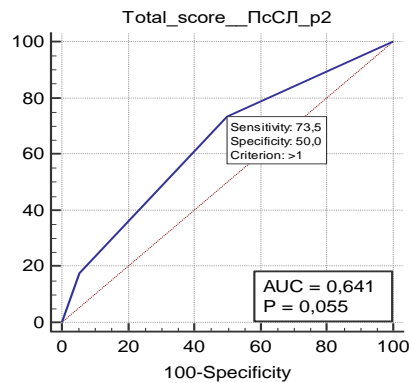
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
PRES pg/ml CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	0,557	0,069	0,411	0,427	0,681

15. 48 часа поступления ОРИТ (без установленного сепсиса / с установленным сепсисом)



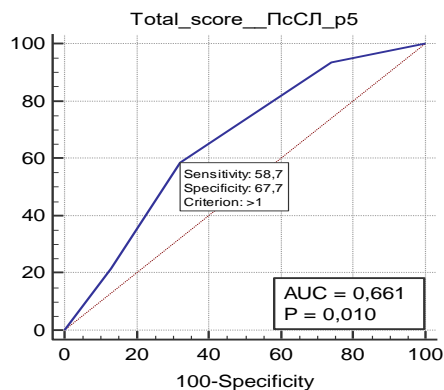
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
PRES pg/ml CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	0,676	0,050	0,001	0,576	0,764

16. 48 часа поступления ОРИТ (с установленным сепсисом (SOFA ≤ 2) / с тяжелым сепсисом (SOFA > 2))



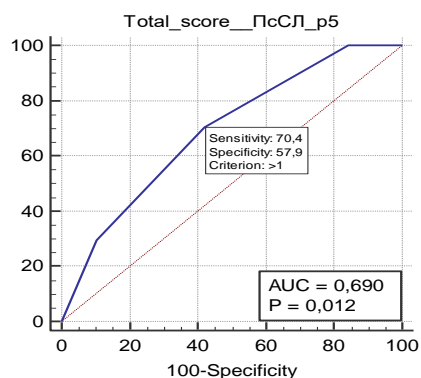
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
PRES pg/ml CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	0,641	0,074	0,055	0,496	0,770

17. 120 часов поступления ОРИТ (без установленного сепсиса / с установленным сепсисом)



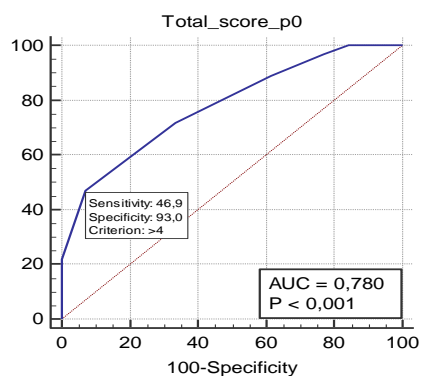
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
PRES pg/ml CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	0,661	0,062	0,01	0,544	0,765

18. 120 часов поступления ОРИТ (с установленным сепсисом (SOFA ≤ 2) / с тяжелым сепсисом (SOFA > 2))



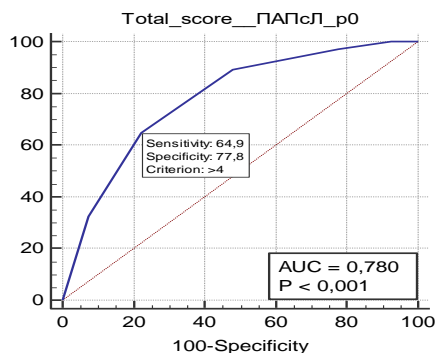
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
PRES pg/ml CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л)	0,690	0,076	0,012	0,537	0,818

19. 0-24 часов поступления ОРИТ (без установленного сепсиса / с установленным сепсисом)



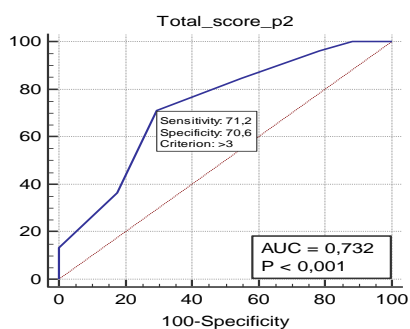
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
PRES pg/ml CRP ng/ml PCT ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л)	0,780	0,039	<0,0001	0,696	0,850

20. 0-24 часов поступления ОРИТ (с установленным сепсисом (SOFA \leq 2) / с тяжелым сепсисом (SOFA > 2))



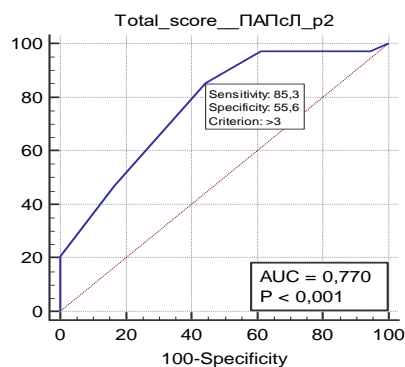
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знч.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
PRES pg/ml CRP ng/ml PCT ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л)	0,780	0,058	<0,0001	0,659	0,874

21. 48 часов поступления ОРИТ (без установленного сепсиса / с установленным сепсисом)



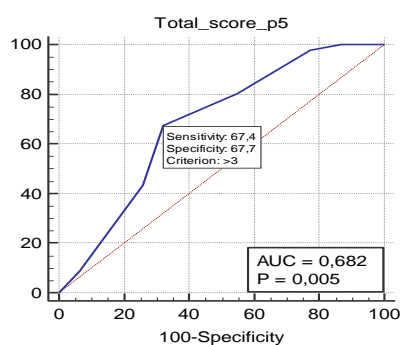
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знч.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
PRE-S pg/ml CRP ng/ml PCT ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л)	0,732	0,0485	<0,0001	0,636	0,815

22. 48 часов поступления ОРИТ (с установленным сепсисом (SOFA \leq 2) / с тяжелым сепсисом (SOFA $>$ 2))



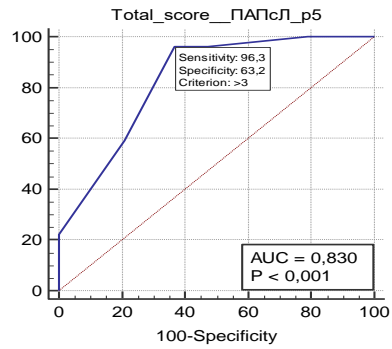
Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
PRES pg/ml CRP ng/ml PCT ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л)	0,770	0,067	<0,0001	0,633	0,876

23. 120 часов поступления ОРИТ (без установленного сепсиса / с установленным сепсисом)



Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
PRES pg/ml CRP ng/ml PCT ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л)	0,682	0,064	0,005	0,566	0,784

24. 120 часов поступления ОРИТ (с установленным сепсисом ($SOFA \leq 2$) / с тяжелым сепсисом ($SOFA > 2$))



Комбинации маркеров	Площадь	Стд. ошибка ^a	Асимптотическая Знач.. ^b	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
				Нижняя граница	Верхняя граница
PRES pg/ml ng/ml ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л) CRP PCT	0,830	0,061	<0,0001	0,691	0,925

Сводные таблицы по комбинациям лабораторных маркеров

Комбинации маркеров	Клиника инфекционного процесса(n=127)		Sensitivity	Specificity
При поступлении 0-24 часа в ОРИТ				
PCT ng/ml CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л)	Без сепсиса /локальная инфекция (n=62)	Сепсис (n=65)	45,31	85,96
	Сепсис SOFA<2 (n= 28)	Сепсис SOFA>2 (n=37)	56,76	70,37
Через 48 часов в ОРИТ				
PCT ng/ml CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л)	Без сепсиса /локальная инфекция	Сепсис	82,69	49,02
	Сепсис SOFA<2	Сепсис SOFA>2	91,18	33,33
Через 120 часов в ОРИТ				
PCT ng/ml CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л)	Без сепсиса /локальная инфекция	Сепсис	32,61	77,42
	Сепсис SOFA<2	Сепсис SOFA>2	100,00	42,11

Комбинации маркеров	Клиника инфекционного процесса(n=127)		Sensitivity	Specificity
При поступлении 0-24 часа в ОРИТ				
MR-proADM nmol/l CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	Без сепсиса /локальная инфекция (n=62)	Сепсис (n=65)	79,69	56,14
	Сепсис SOFA<2 (n= 28)	Сепсис SOFA>2 (n=37)	27,03	88,89
Через 48 часов в ОРИТ				
MR-proADM nmol/l CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	Без сепсиса /локальная инфекция	Сепсис	78,85	54,9
	Сепсис SOFA<2	Сепсис SOFA>2	23,53	83,33
Через 120 часов в ОРИТ				
MR-proADM nmol/l CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	Без сепсиса /локальная инфекция	Сепсис	73,91	45,16
	Сепсис SOFA<2	Сепсис SOFA>2	29,63	84,21

Комбинации маркеров	Клиника инфекционного процесса(n=127)		Sensitivity	Specificity
При поступлении 0-24 часа в ОРИТ				
PRES pg/ml CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	Без сепсиса /локальная инфекция (n=62)	Сепсис (n=65)	75,00	59,65
	Сепсис SOFA<2 (n= 28)	Сепсис SOFA>2 (n=37)	37,84	70,37
Через 48 часов в ОРИТ				
PRES pg/ml CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	Без сепсиса /локальная инфекция	Сепсис	65,38	62,75
	Сепсис SOFA<2	Сепсис SOFA>2	73,53	50,00
Через 120 часов в ОРИТ				
PRES pg/ml CRP ng/ml Лейкоциты*10 ⁹ /л	Без сепсиса /локальная инфекция	Сепсис	58,7	67,74
	Сепсис SOFA<2	Сепсис SOFA>2	70,37	57,89

Комбинации маркеров	Клиника инфекционного процесса(n=127)		Sensitivity	Specificity
При поступлении 0-24 часа в ОРИТ				
PCT ng/ml PRES pg/ml MR-proADM nmol/l Лейкоциты*10 ⁹ /л	Без сепсиса /локальная инфекция (n=62)	Сепсис (n=65)	46,88	92,98
	Сепсис SOFA<2 (n= 28)	Сепсис SOFA>2 (n=37)	64,86	77,78
Через 48 часов в ОРИТ				
PCT ng/ml PRES pg/ml MR-proADM nmol/l Лейкоциты*10 ⁹ /л	Без сепсиса /локальная инфекция	Сепсис	71,15	70,59
	Сепсис SOFA<2	Сепсис SOFA>2	85,29	55,56
Через 120 часов в ОРИТ				
PCT ng/ml PRES pg/ml MR-proADM nmol/l Лейкоциты*10 ⁹ /л	Без сепсиса /локальная инфекция	Сепсис	67,39	67,74
	Сепсис SOFA<2	Сепсис SOFA>2	96,3	63,16