

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 64.1.004.01 НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «МОСКОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМ. Г.Н. ГАБРИЧЕВСКОГО» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 06 октября 2022 г. № 3.

О присуждении Каргальцевой Наталье Михайловне, гражданке Российской Федерации, ученой степени доктора медицинских наук.

Диссертация «Современная культуромика – путь повышения эффективности микробиологической диагностики инфекции кровотока» по специальности 1.5.11. – микробиология (медицинские науки) принята к защите 03 марта 2022 г. протокол № 1 диссертационным советом 64.1.004.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 10). Диссертационный совет утвержден Приказом Министерства образования и науки РФ № 714/нк «О советах по защите докторских и кандидатских диссертаций» от 2 ноября 2012 г., приказ № 1577 / нк от 16.12.2016 част. изм., 791/нк от 09.12.2020 г. част. изм.

Соискатель Каргальцева Наталья Михайловна, 1945 года рождения. В 1969 году окончила Ленинградский санитарно-гигиенический медицинский институт по специальности «санитарно-гигиеническое дело», квалификация «врач». Диссертацию на соискание ученой степени кандидата медицинских наук «Этиология и современные принципы микробиологической диагностики бактериемии при инфекционном эндокардите» по специальности 03.00.07-микробиология защитила в 1994 году в специализированном совете Д 106.05.01, созданном на базе Научно-исследовательского института военной медицины МО РФ (диплом Ч № 464362). Каргальцева Наталья Михайловна работает научным сотрудником в лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Диссертация выполнена в лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора.

Научные консультанты: Кочеровец Владимир Иванович – доктор медицинских наук (03.00.07. – микробиология) профессор; Борисова Ольга Юрьевна - доктор медицинских наук (03.00.07. – микробиология) профессор, главный научный сотрудник, руководитель

лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора.

Официальные оппоненты: Афиногенов Геннадий Евгеньевич - доктор медицинских наук (03.00.07 – микробиология), профессор, профессор кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии факультета стоматологии и медицинских технологий Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», эксперт по клинической микробиологии городской клинико-экспертной комиссии Комитета по здравоохранению Санкт-Петербурга; Кветная Ася Степановна - доктор медицинских наук (03.00.07 – микробиология), профессор, ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней» Федерального медико-биологического агентства России; Чеботкевич Виталий Николаевич - доктор медицинских наук (03.00.07 – микробиология), профессор, руководитель лаборатории бактериологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» Федерального медико-биологического агентства России – дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Уфа) в своем положительном заключении, подписанном доктором медицинских наук, профессором, заведующим кафедрой микробиологии, вирусологии Туйгуновым Марселем Маратовичем, указала, что диссертация является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований, теоретических, научно-практических и патентных разработок решена актуальная проблема микробиологической диагностики инфекции кровотока путем создания системы микробиологического исследования крови и модели получения гемокультуры, применения принципов микробиологической культуромики, разработки экспресс-методов и молекулярно-генетических технологий.

Соискатель имеет по теме диссертации 38 опубликованных работ, из них 16 работ в рецензируемых журналах, 3 статьи – в других изданиях, 4 тезиса – в рецензируемых изданиях, 15 тезисов – в материалах конференций, получено 5 патентов на изобретения РФ, опубликовано 5 методических рекомендаций, 2 рационализаторских предложения, общий объем работ составляет 384 страницы с авторским вкладом 312 страниц.

Наиболее значимые работы: Каргальцева, Н.М. Микробиологическое представление инфекции кровотока / Н.М. Каргальцева // МВФ. Медицина. Фармация. – 2007. – № 1. – С. 30–36; Каргальцева, Н.М. Клинические и микробиологические особенности инфекции кровотока / Н.М. Каргальцева, А.Т. Бурбелло, В.И. Кочеровец, А.С. Федоренко // Профилактическая и клиническая медицина. – 2010. – Т. 35, № 2. – С. 145–148; Каргальцева, Н.М. Современный

взгляд на микробиологическое исследование крови / Н.М. Каргальцева // Инфекция в хирургии. – 2010. – Т. 8, № 3. – С. 19–22; Каргальцева, Н.М. Клинические маркеры инфекции кровотока у амбулаторных пациентов / Н.М. Каргальцева, О.Ю. Борисова, А.Ю. Миронов, В.А. Алешкин, В.И. Кочеровец, В.Л. Пастушенков, А.Б. Бутенко // Клиническая лабораторная диагностика. – 2016. – Т. 61, № 8. – С. 494–497; Каргальцева, Н.М. Метод получения гемокультуры при диагностике инфекции кровотока / Н.М. Каргальцева, В.И. Кочеровец, А.Ю. Миронов, О.Ю. Борисова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2020. – Т. 65, № 3. – С. 185–190; Каргальцева, Н.М. Сердечно-мозговые среды для гемокультур / Н.М. Каргальцева, В.И. Кочеровец, А.Ю. Миронов, О.Ю. Борисова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2020. – Т. 65, № 6. – С. 375–381.

На диссертацию и автореферат поступило положительных 9 отзывов от: 1) д.м.н., доцента Охупкиной В.Ю., старшего научного сотрудника научно-исследовательского отдела, к.б.н. Савиных А.В., заместителя начальника научно-исследовательского отдела филиала ФГБУ 48 ЦНИИ МО РФ; 2) д.м.н. Добрынина В.М., ведущего научного сотрудника 3 управления НИИЦ (МБЗ) ФГБУ ГНИИИВМ МО РФ; 3) д.м.н., профессора Бурбелло А.Г., врача клинического фармаколога отделения клинической фармакологии клиник ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова МЗ РФ, главного внештатного специалиста по клинической фармакологии Северо-Западного федерального округа МЗ РФ; 4) д.м.н., профессора Корольковой Т.Н., заведующей кафедрой косметологии ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова МЗ РФ; 5) д.м.н. Алешукиной А.В., заведующей лабораторией вирусологии, микробиологии и молекулярно-биологических методов исследования ФБУН РНИИМП Роспотребнадзора; 6) д.м.н., доцента Карповой Е.И., профессора кафедры кожных болезней и косметологии факультета дополнительного профессионального образования ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ; 7) д.м.н., профессора Белобородовой Н.В., главного научного сотрудника, руководителя лаборатории метаболизма при критических состояниях НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФГБУ ФНКЦРР; 8) д.м.н. Пхакадзе Т.Я., заведующей лабораторией микробиологии ФГБУ НМИЦТО им. Н.Н. Приорова МЗ РФ; 9) д.м.н. Кафтыревой Л.А., заведующей лабораторией кишечных инфекций, руководителя отдела микробиологии СПб НИИЭМ имени Пастера Роспотребнадзора. Во всех отзывах отмечен новый научно-практический и клинко-микробиологический подход к решению проблемы диагностики инфекции в кровотоке у терапевтических больных, разработана модель получения гемокультуры на основе принципов микробиологической культуромики. В трех отзывах представлены замечания: 1) д.м.н. Охупкина В.Ю. и к.б.н. Савиных А.В. отметили, что в работе неоднократно встречаются некорректные стилистические формулировки; в таблицах 10, 12, 14 родовое название многих микроорганизмов при первом упоминании сокращено до одной буквы; 2) д.м.н. Добрынин В.М. отметил, что первое и третье положения, выносимые на защиту, можно было бы объединить; 3) д.м.н. Кафтырева Л.А. обратила внимание: на неудачные термины (госпитальные / внегоспитальные больные, повышение температуры при инфекции кровотока; антимикробное лечение); не конкретизирован посев в разных газовых условиях; не указан вид используемой

крови животных; мелкие ошибки по количеству исследованных образцов; отмена приказа 535; рисунки электрофорезов выполнены некачественно (рисунки 7, 8, 9), не везде указаны контроли; не стандартизованы ПЦР-продукты; большая нагрузка ДНК; в таблицах 10 – 12 перечня видового состава названия рода сокращены до одной буквы; не обращено должного внимания на патогенез заболеваний и в перечень возбудителей ИК включены *Corynebacterium* spp, *Listeria* spp, *Salmonella enteritidis*, которые являются реальными и возможными возбудителями системных инфекционных заболеваний, способных к широкому эпидемическому распространению; при выделении штаммов сальмонелл необходимо ставить в известность госпитального эпидемиолога и переводить пациента в инфекционный стационар; некорректное обозначение сальмонеллы; ошибка в идентификации *Salmonella enteritidis*, которую можно проводить только с помощью серотипирования, MALDI-TOF для этих целей не используется; Д.м.н. Кафтырева Л.А. также в замечаниях подчеркивает, что врач бактериолог (медицинский микробиолог) / диссертант обязан проводить экспертную оценку полученных результатов и после этого выдавать врачам клиницистам результаты. Отмеченные недостатки и указанные замечания не носят принципиального характера, не снижают научной ценности и практической значимости выполненной большой работы.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации был обоснован поставленными задачами и целью исследования, компетентностью выбранных специалистов по данной проблеме в медицинской микробиологии.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: разработаны научная концепция в виде создания системы микробиологического исследования крови и новые методики обнаружения и выделения возбудителей из крови, не требующие наличия импортных автоматизированных гемокультуральных систем для лабораторий любого уровня. Предложены оригинальный подход к диагностике инфекции кровотока и экспрессные микробиологические исследования крови на основе использования лейкоцитарного слоя пробы крови. Доказана эффективность использования альтернативного метода и условий культивирования крови для практического применения в лабораториях страны. Разработаны сердечно-мозговые среды и доказана возможность их промышленного выпуска, а также соответствие критерию «промышленной применимости», что позволяет расширить список питательных сред промышленного производства в России. Введены: перспективность использования новых знаний по этиологической структуре возбудителей инфекции кровотока при терапевтической патологии для практического применения в разработках эмпирической антимикробной терапии, интегральные оценки диагностической значимости полученных гемокультур.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что полученные результаты доказали эффективность применения разработанной универсальной модели получения гемокультуры и информативность клинико-микробиологической системы исследования крови, новую информацию о механизмах инфекции кровотока при соматических заболеваниях и культивирования возбудителей в искусственных условиях роста, что позволяет расширить

научно-практический потенциал микробиологических лабораторий по проблеме выделения возбудителей из крови. Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс микроскопических, бактериологических, масс-спектрометрических, молекулярно-генетических, клинико-лабораторных, статистических методов исследования и методов доказательной медицины. Изложены в рамках диссертационной работы доказательства применения модифицированного культивирования, что позволило диагностировать инфекцию кровотока у терапевтических пациентов в 41,3%, применения лейкоцитарного слоя пробы крови - в 48%, метод визуализации микроорганизмов в крови - до 75,4% случаев. Раскрыта сущность предложенной теории микробиологического исследования крови - использование лейкоцитарного слоя пробы крови, как концентрат всех микроорганизмов, находящихся в данной пробе крови. Изучены патогенетические связи инфекции кровотока с терапевтическими заболеваниями как причина осложнения у госпитальных и амбулаторных больных, причинно-следственные связи с полиморбидностью, возрастом и гендерными характеристиками обследуемых пациентов. Проведена модернизация технологии индикации и выделения возбудителей из крови с применением лейкоцитарного слоя пробы крови, экспресс-методов, сердечно-мозговых сред, nested-ПЦР на основе лейкоцитарного слоя пробы крови, реконструкция существующих алгоритмов исследования крови.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработанный алгоритм внедрен в практическую деятельность бактериологических лабораторий ФГБУ НМИЦ им. В.А. Алмазова МЗ РФ, специализированной централизованной бактериологической лаборатории при СПб ГБУЗ «Городская поликлиника № 75», клинико-диагностического центра ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора. Разработаны и внедрены уникальные новые методики по диагностике инфекции кровотока при диагностике инфекции кровотока у терапевтических больных. Определены перспективы и условия дальнейшего практического применения теоретических и практических разработок при обследовании терапевтических больных с подозрением на инфекцию кровотока. Создана унифицированная модель исследования гемокультуры на основе теоретических знаний о культивировании микроорганизмов в искусственных условиях роста и система исследования крови. Представлены модели применения полученных результатов в виде методических рекомендаций федерального и регионального уровней с целью дальнейшего совершенствования научно-практического потенциала в микробиологии: 1) «Инфекционный эндокардит (диагностика, лечение, профилактика)» (утверждены 28.04.1994 г. МЗ и МП); 2) «Прогнозирование исхода у больных острым перитонитом на основании данных клинико-микроскопических данных» (СПб ГМА им. И.И. Мечникова, 2003 г.); 3) «Микробиологические методы диагностики инфекции кровотока» (утверждены 02.06.2009 г. Комитетом по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга); 4) «Микробиологические методы диагностики инфекции кровотока» (2-е изд., исправленное, 2010 г.); 5) «Практические рекомендации по лабораторной диагностике анаэробной инфекции» (утверждены ФЛМ 14.12.2021 г. Комитетом по микробиологии ФЛМ).

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что результаты экспериментальной и исследовательской работы получены на высоком научно-методическом уровне с помощью современных микроскопических, бактериологических, масс-спектрометрических, молекулярно-генетических и клинико-лабораторных методов исследования с использованием сертифицированного и поверенного оборудования, программного обеспечения для биоинформатического и статистического анализов полученных данных. Достоверность полученных результатов обоснована исследованием 2075 проб крови и проведением 19195 исследований, применением методов доказательной медицины, а также 642 полученных гемокультур от больных, характеристикой 140 полимикробных гемокультур с видовой оценкой ассоциантов полимикробности. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета программ STATISTICA, ver. 10 (StatSoft, Лиц. ВХХR310F964808FA-V). Теория разработанной системы микробиологического исследования крови согласуется с опубликованными отечественными и зарубежными данными по теме диссертации. Идея базируется на изучении теоретической базы и практических показателей, обобщения диссертационных экспериментальных и литературных мировых данных в области медицинской микробиологии по гемокультивированию. Использовано сравнение диссертационных данных с результатами, полученными ранее по проблеме микробиологического исследования крови и диагностики бактериемии и фунгемии с помощью бактериологических и микроскопических методов исследования. Установлено, что по ряду диагностических параметров, отраженных в диссертации, данные совпадают с результатами зарубежных научных источников по инфекции кровотока. Использованы сертифицированные методы сбора крови и обработки полученных данных, современные аналитические и статистические методы исследования.

Личный вклад автора состоит в участии во всех этапах выполнения диссертационной работы: определена основная идея исследования, разработаны задачи и методы для реализации поставленной цели, сбор и анализ литературных данных. Автор участвовал в получении и интерпретации исходных и экспериментальных данных, в апробации методов и результатов исследования, выполнил весь объём микроскопии, все бактериологические исследования. Бактериологические исследования крови амбулаторных пациентов выполнены совместно с сотрудниками специализированной централизованной бактериологической лаборатории СПб ГБУЗ «Городская поликлиника № 75», конструирование праймеров и анализ полногеномного сиквенса – совместно с к.м.н. А. В. Чаплиным – сотрудником ФБУН МНИИЭМ им Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора; масс-спектрометрические исследования – совместно с профессором кафедры микробиологии, вирусологии ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, д.м.н., профессором Б. А. Ефимовым; молекулярно-генетические и масс-спектрометрические исследования – совместно с сотрудниками лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций ФБУН МНИИЭМ им Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора к.м.н. Н.Т. Гадуа, к.м.н. А. С. Пименовой и к.м.н. И. А. Чагиной. Автор лично разработал и апробировал экспресс-методы обнаружения и выделения микроорганизмов из

крови, провел статистическую обработку, сформулировал выводы, практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы.

На заседании 6 октября 2022 года диссертационный совет принял решение присудить Каргальцевой Наталье Михайловне ученую степень доктора медицинских наук по специальности 1.5.11. – микробиология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 15 докторов наук по специальности 1.5.11. – микробиология, участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 20, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета,
доктор биологических наук, профессор

Алешкин Владимир Андрианович

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор
07.10.2022

Борисова Ольга Юрьевна

