

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Каргальцевой Натальи Михайловны на тему: «Современная культуромика – путь повышения эффективности микробиологической диагностики инфекции кровотока», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.11 – микробиология

Актуальность исследования

Инфекции кровотока (ИК) осложняют многие заболевания, утяжеляют течение, ухудшает прогноз основного заболевания, могут быть причиной летального исхода у пациентов (после проведения диализа, онкогематологических больных, при инфекционном эндокардите, иммунодефицитных состояниях и др.). Инфекции системы кровообращения, обусловленные сосудистыми катетерами, или катетер-ассоциированные инфекции кровотока – группа инфекционных заболеваний, развивающихся у пациента в результате использования сосудистого катетера для введения лекарственных средств, забора проб крови или иных процедур при оказании медицинской помощи. Они являются составной частью инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП). В настоящее время доказано, что каждый час отсрочки начала эффективной антибактериальной терапии при развитии септического шока ведёт к увеличению летальных исходов в среднем на 7,6%. Поэтому лабораторная диагностика является неотъемлемой частью современной медицины, без которой немыслима полноценная врачебная помощь. Благодаря новейшему высокотехнологичному оборудованию, лабораторная диагностика обеспечивает получение качественных и максимально информативных данных о процессах, происходящих в организме больного человека, в быстрые сроки. В настоящее время методы лабораторной диагностики многочисленны, и продолжают расширяться. Самая распространенная услуга лабораторной диагностики - анализы крови. Они помогают определить изменения в общем состоянии человека, функциональные характеристики большинства его органов и систем, а также маркеры заболеваний.

Диссертационная работа Каргальцевой Н. М. посвящена разработке системы микробиологического исследования проб крови, включающую модель получения гемокультуры с целью повышения информативности микробиологической диагностики инфекции кровотока у пациентов терапевтического профиля.

Научная новизна

Научная новизна работы состоит в разработке модели получения гемокультуры микроорганизмов. Последовательно используя различные приемы лабораторной диагностики инфекции кровотока (классические культуральные методы, лично разработанные питательные среды для посева проб крови из отечественного сырья, новые методы быстрой идентификации возбудителей (масс-спектрометрия MALDI-TOF MS)), а также молекулярно-генетические технологии для применения при любой патологии у пациентов с инфекцией кровотока) позволили диссертанту получить новые данные о видовой структуре микроорганизмов, выделяемых из проб крови. Разработанный патентный метод получения гемокультуры на основе посева лейкоцитарного слоя пробы периферической крови показал возможность выделения широкого спектра микроорганизмов при использовании минимального объема отбираемой крови, что представляет существенный интерес для импортозамещения. Разработанные рецептуры питательных сред (жидкой и плотной) на основе животного сырья (сердечно – мозговая питательная среда), возможно, будут конкурентны и способны стать аналогом зарубежных питательных сред. Параллельное использование микроскопии мазка крови и ПЦР лейкоцитарного слоя пробы крови автор справедливо относит их к экспресс-методам диагностики инфекции кровотока до получения результатов культурального метода исследования крови (через 5 дней).

Теоретическая и практическая значимость

Предложенная Каргальцевой Н. М. микробиологическая схема исследования проб включает способы оптимизации культивирования микроорганизмов в искусственных условиях роста. Теоретические знания культивирования микроорганизмов расширили практические и диагностические возможности микробиологических лабораторий и представления клиницистов о широком спектре различных бактерий в этиологии инфекций кровотока. Разработанные алгоритмы микробиологического исследования крови могут быть применимы при обследовании госпитализированных в стационары пациентов и проходящих обследование в амбулаторных условиях. Теоретическая разработка рецептуры отечественных сердечно-мозговых сред и практическая их апробация расширят ассортимент выпускаемых отечественных сред.

Каргальцева Н. М. в соавторстве одна из первых в нашей стране разработала специальную среду для исследования проб крови (Патент RU 2 650 863 C1 Российская Федерация; МПК C12N 1/20 C12R 1/01. Сердечно-мозговая

среда для диагностики инфекции в кровотоке и способ ее получения 2017 г.; Патент RU 2 660 708 C1 Российская Федерация; МПК G01N 33/53 C12Q 1/04. Способ получения питательной среды для выделения гемокультуры при диагностике инфекции кровотока). Однако, питательная среда все еще не имеет промышленного производства.

В настоящее время промышленные предприятия, в том числе отечественные, производят для посева крови высококачественные питательные среды различных модификаций: для культивирования аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов; для культивирования облигатных анаэробов; для культивирования грибов. Такие среды выпускаются в виде однофазных (жидкая питательная среда) и двухфазных систем (в единой упаковке сочетается плотная и жидкая питательные среды). Преимуществом сред промышленного производства является их стандартность, достигаемая за счет проводимых контролей каждой серии среды в специальных отделах биологического технического контроля (ОБТК) предприятия (проводят серию контролей готовой продукции на выходе, входного и постстадийного контроля сырья и полуфабрикатов). Стандартизованный и регламентированный технологический процесс производства, обеспечивает достоверность и воспроизводимость результатов анализа с использованием изделий промышленного производства). Это избавляет практические микробиологические лаборатории от проведения дополнительного анализа качества подобных изделий, что необходимо в случае использования питательных сред лабораторного изготовления.

Полученные диссертантом данные о структуре возбудителей инфекций кровотока показали существенную роль грамположительных бактерий, что позволяет обосновать подбор адекватной эмпирической антимикробной терапии.

Обнаружение бактериально-дрожжевых ассоциаций при микроскопии мазка крови при отсутствии их роста в гемокультуре позволяет отнести этот феномен к ранней предварительной диагностике микроорганизмов в кровотоке при минимальных технико-материальных и экономических затратах лабораторий.

Достоверность полученных результатов

Автором проведен значительный объем исследований с применением классических и экспрессных методов, сертифицированного оборудования и статистического анализа данных, что подтверждает достоверность полученных

данных. Основные результаты диссертационной работы получены автором лично.

Результаты исследований, проведенных Каргальцевой Н.М., доложены на 14 конгрессах и конференциях международного, всероссийского и регионального уровней, 15 статей опубликованы в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ. Получены 5 патентов на изобретения и 2 рационализаторские предложения. Разработаны 5 методических рекомендаций.

Автореферат написан с соблюдением требований к оформлению, иллюстрирован таблицами и рисунками.

При прочтении автореферата возникли замечания и вопросы:

1. На мой взгляд, в работе часто встречаются неудачные термины:

«госпитальные/внегоспитальные больные? (госпитализированные пациенты и пациенты, обследованные амбулаторно)»;

«Температура тела повышалась одинаково при грамположительных, грамотрицательных, мономикробной и полимикробной ИК»;

«Антимикробное лечение» и др.

2. Не конкретизированы «Посев в разных газовых условиях культивирования»? Какая кровь и каких животных использовалась в средах?

3. Встречаются мелкие ошибки: ...исследованы 2075 проб цельной крови (1985-2019), а микроскопия лейкоцитарного слоя крови проведена в 2574 проб...

4. В настоящее время приказ 535 отменен;

5. Положение, выносимое на защиту 5: выявили доминирующее положение грамположительных кокков, представленных преимущественно группой коагулазоотрицательных стафилококков, из которых *S. epidermidis* составил 74,0%. Вопрос: Как исключали контаминации? Как обрабатывали кожу перед взятием крови?

6. Из каких этапов состоит внутренний контроль качества сердечно-мозговой среды, приготовленной в лаборатории? Какие для этого использовали тест-штаммы? Как оценивали ростовые свойства среды?

7. Считаю, что электрофореграммы результатов амплификации (ПЦР для индикации и идентификации Грам+/ Грам- микроорганизмов (рисунки 7, 8, 9) выполнены некачественно, не во всех есть контроли, нестандартизованные ПЦР-продукты, большая нагрузка ДНК. Результаты выглядят на фото очень небрежно. Окраску по Граму микроорганизмов применяют во всех лабораториях мира. Зачем ее заменять результатами ПЦР?

8. В таблицах 10 - 12 представлен перечень видового состава возбудителей инфекций кровотока, сокращая название рода до одной буквы. Думаю, что

поэтому диссертант не обратила должного внимания на паюогенез заболеваний и включила в перечень возбудителей инфекций кровотока *Corynebacterium* spp., *Listeria* spp., а также *Salmonella* Enteritidis – реальных и возможных возбудителей системных инфекционных заболеваний, способных к широкому эпидемическому распространению, а не инфекции кровотока. О выделении штаммов сальмонелл из проб крови следует ставить в известность госпитального эпидемиолога и переводить такого больного в бокс или в инфекционный стационар, если сальмонелла выделяется из проб испражнений.

9. *Salmonella* Enteritidis (*S* .Enteritidis) это серологический вариант, который определяется в реакции агглютинации. MALDI-TOF MS не может идентифицировать серологический вариант, а дает родовое и видовое название: *Salmonella enterica*.

Указанные замечания не снижают положительной оценки проведенной большой работы. В замечаниях я хотела подчеркнуть, что врач бактериолог (медицинский микробиолог)/диссертант обязан проводить экспертную оценку полученных результатов и после этого выдавать врачам клиницистам результаты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Каргальцевой Натальи Михайловны на тему: «Современная культуромика – путь повышения эффективности микробиологической диагностики инфекции кровотока», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.11 – микробиология, является завершенной научно-квалифицированной работой, содержит новое решение актуальной научно-практической проблемы – разработка системы микробиологического исследования крови, что имеет актуальное социально-экономическое и практическое значение для медицинской микробиологии.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, объему проведенных исследований диссертационная работа Каргальцевой Натальи Михайловны соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016, №748 от 02.08.2016, №650 от 29.05.2017, № 1024 от 28.08.2017, № 1168 от 01.10.2018, № 751 от 26.05.2020, № 426 от 20.03.2021, № 1539 от 11.09.2021 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени

доктора медицинских наук, а ее автор, Каргальцева Наталья Михайловна, заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.11 – микробиология.

Заведующая лабораторией кишечных инфекций,
руководитель отдела микробиологии
доктор медицинских наук

Кафтырева Лидия Алексеевна

Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера)
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Адрес: 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира д.14
Тел.: 8 (812) 233-20-92, e-mail: pasteur@pasteurorg.ru

Подпись Кафтыревой Лидии Алексеевны заверяю:

Ученый секретарь Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, к.м.н.

Адрес: 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира д.14
Тел.: 8 (812) 233-20-92, e-mail: pasteur@pasteurorg.ru

26.09.2022



Трифонова Галина Федоровна