

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН МНИИЭМ

им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора

д.б.н.  С.Ю. Комбарова

«10»  2021 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федеральное бюджетное учреждение 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, дом 10)

Диссертация «Современная культуромика – путь повышения эффективности микробиологической диагностики инфекции кровотока» выполнена 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.

В период с 2014 по 2018 гг. Каргальцева Наталья Михайловна работала в должности научного сотрудника лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций. С 2018 г. продолжила работу над диссертацией в качестве соискателя (Приказ № 274 от 15.04.2018 г.). С декабря 2021 г. и по настоящее время работает научным сотрудником лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций в Федеральном бюджетном учреждении науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора.

В 1969 году окончила полный курс Ленинградского Санитарно-Гигиенического Медицинского Института по специальности санитарно-

гигиеническое дело и Решением Государственной экзаменационной комиссии присвоена квалификация врача. Защитила кандидатскую диссертацию в 1994 году на тему «Этиология и современные принципы микробиологической диагностики бактериемии при инфекционном эндокардите» по специальности 03.00.07. – микробиология в Диссертационном совете Д 106.05.01. при Научно-Исследовательском институте военной медицины Министерства Обороны РФ.

Научные консультанты соискателя:

- Кочеровец Владимир Иванович, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры фармацевтической технологии и фармакологии Института профессионального образования Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет).

- Борисова Ольга Юрьевна, доктор медицинских наук, 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» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

По итогам обсуждения диссертации Каргальцевой Натальи Михайловны «Современная культуромика – путь повышения эффективности микробиологической диагностики инфекции кровотока» принято следующее заключение:

Диссертация Каргальцевой Н.М. является законченной научно-обоснованной и профессиональной работой, в которой на основании большого объема исследований, выполненных автором, теоретически разработан и внедрен в практику подход к решению научно-практической сложной проблемы по микробиологической диагностике инфекции

кровотока у терапевтических больных. Выполнение данной задачи осуществлено благодаря применению инновационных принципов культуromики. Культуromика – это метод высокой эффективности получения культуры микроорганизма в силу конструирования модели различных условий для жизнедеятельности и роста микроорганизмов в искусственных условиях выращивания и использование MALDI-ToF-масс-спектрометрии для идентификации выделенных микроорганизмов. Культуromика характеризует достоинство и возрождение культурального метода, новый подход к выделению возбудителя перед другими методами при диагностике любого инфекционного заболевания. В диссертационной работе сделана попытка перенести приемы культуromики с исследования кала на исследование крови с целью оптимизации получения гемокультур. Инновационный подход на модели гемокультивирования и диагностики инфекции кровотока включал разработку инструментов и использование следующих приемов культуromики: экспрессных методов для получения гемокультуры и диагностики инфекции кровотока, использование сердечно-мозговых сред и анаэробных условий для гемокультивирования. Новый подход в унифицированном алгоритме микробиологического исследования крови и разработанная система микробиологического исследования крови имеют научно-прикладное для специализированного раздела клинической микробиологии и практическое значения для внедрения в микробиологическую практику лаборатории ЛПУ страны.

На основании анализа отечественных и зарубежных данных литературы автором определена основная идея исследования, разработаны задачи и методы для реализации поставленной цели, выполнен сбор анамнестических данных госпитальных и внегоспитальных пациентов, проведена микроскопия всего объема мазков крови госпитальных и внегоспитальных больных, а также все бактериологические исследования материала от больных, которые выполнялись совместно с сотрудниками специализированной централизованной бактериологической лаборатории

СПБ ГБУЗ «Городская поликлиника № 75» к.м.н. Е. В. Сапроновой и Е. А. Петрачковой; конструирование праймеров, анализ полногеномного сиквенса проводили совместно с сотрудниками лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора, к.м.н. А. В. Чаплиным; масс-спектрометрические исследования осуществляли совместно с профессором кафедры микробиологии, вирусологии ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, д.м.н., профессором Б. А. Ефимовым; молекулярно-генетические и масс-спектрометрические исследования проводили совместно с сотрудниками лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора, с.н.с. к.м.н. Н. Т. Гадуа, с.н.с. к.м.н. А. С. Пименовой и с.н.с. к.м.н. И. А. Чагиной. Автор лично провел статистическую обработку, сформулировал выводы, практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы.

Диссертационная работа Каргальцевой Н.М. выполнена в соответствии с отраслевой научно-исследовательской программой «Проблемно ориентированные научные исследования в отрасли эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными болезнями на 2016—2020 гг.» в рамках НИР ФБУН МНИИЭМ им.Г.Н. Габричевского: «Изучение роли микробиоценозов ротоглотки и крови при дифтерии, коклюше и других инфекционно-воспалительных заболеваниях» (Рег. № АААА-А16-116021550311-2).

Достоверность результатов работы гарантируется существенным объемом выполненных исследований (18501), научно-методической разработкой получения гемокультуры и системой микробиологического исследования крови. Обследовано 1230 терапевтических больных, включая 848 госпитальных и 382 внегоспитальных (амбулаторных). Исследовано 2075 проб крови, идентифицировано 816 выделенных штаммов микроорганизмов. В работе применены принципы микробиологической культуромики,

разработаны четко сформированные принципы исследования, выбраны логичные методы в разработке экспрессных приемов, применены методы доказательной медицины и адекватные способы статистической обработки данных. Выводы и рекомендации, сделанные автором, обоснованы на полученных результатах научной работы. В работе применяли методы: анамнестические, микроскопические, бактериологические, масс-спектрометрические, молекулярно-генетические, клинико-лабораторные и доказательной медицины.

Научная новизна работы состоит в многоплановом обследовании пациентов с применением инновационных принципов и методов микробиологической культуромики, разработке универсальной модели получения гемокультуры и системы информативной микробиологической диагностики инфекции кровотока с целью совершенствования диагностики инфекции в кровотоке.

Впервые обосновано использование мультифакторной системы, включающей закрытое анаэробное устройство, анаэробные газовые условия и сердечно-мозговые питательные среды для культивирования крови, оптимальное соотношение объема крови к объему питательной среды.

Впервые показано, что симптоматические, гематологические и биохимические клинико-лабораторные показатели воспаления обладают диагностическими и прогностическими функциями маркеров инфекции кровотока у терапевтических пациентов.

Впервые разработан экспресс-метод получения гемокультуры на основе посева лейкоцитарного слоя пробы крови в объеме 4,5 мл на высокопитательный кровяной агар, доказав высокую эффективность выделения возбудителей из крови (Патент №2098486 от 10.12.1997).

Впервые разработаны рецептуры отечественных сердечно-мозговых сред (жидкой и плотной) для микробиологической диагностики инфекции кровотока (Патенты: № 2650863 от 13.02.2017 и № 2660708 от 29.09.2017).

Впервые предложен экспресс-метод диагностики инфекции кровотока с использованием микроскопического исследования лейкоцитарного слоя пробы крови и техники «осветления» мазка (Патент №2616249 от 20.01.2016).

Впервые разработана методика nested-ПЦР из лейкоцитарного слоя пробы крови, позволяющая выявлять ДНК микроорганизмов и их Грам-принадлежность с концентрацией 10^4 – 10^5 после первого раунда и с концентрацией 10^3 после второго раунда амплификации, что обосновывает интеграцию этой методики в систему диагностики инфекции кровотока.

Впервые в результате проведенного полногеномного секвенирования получен драфтовый сиквенс генома штамма *Aerococcus sp.* 1КР-2010, выделенного из крови пациента с инфекцией кровотока, нуклеотидная последовательность которого депонирована в международную базу данных NCBI/GenBank.

Впервые предложен многофункциональный алгоритм интегральной диагностики инфекции кровотока у терапевтических больных, основанный на инновационных принципах микробиологической культуромики с применением современных методов исследования крови, который имеет практическое значение для диагностической работы лечебно-профилактических организаций РФ, проводящих практическое выделение возбудителей из крови больных.

Практическая значимость диссертационного труда содержится в значении теоретических знаний культивирования крови, которые развивают практические возможности микробиологических лабораторий по выделению возбудителей из крови, дополняют представления клиницистов о роли инфекции при соматических заболеваниях.

Практическое значение диссертации состоит в том, что разработана система микробиологической диагностики инфекции кровотока с использованием алгоритма микробиологического исследования крови, разработанного для практического использования при обследовании

госпитальных и амбулаторных терапевтических пациентов с учетом технических возможностей любой лаборатории федерального или регионального уровней страны.

Обоснована практическая ценность симптоматических, гематологических, биохимических показателей воспаления в роли диагностических маркеров при инфекции кровотока у терапевтических больных.

Разработка и апробация отечественных сердечно-мозговых сред увеличивает в объеме ассортимент выпускаемых отечественных сред и выполняет государственную задачу по импортному замещению зарубежных питательных сред в практическом здравоохранении.

Разработанный метод диагностики инфекции кровотока путем микроскопии мазков лейкоцитарного слоя пробы крови повышает информативность выявления бактериально-дрожжевых ассоциаций при отсутствии их роста в гемокультуре. Микроскопия мазка крови позволяет осуществить раннюю диагностику циркулирующих микроорганизмов в кровотоке, способствует практической оптимизации диагностики инфекции кровотока при минимальных технико-материальных и экономических затратах медицинских организаций.

Разработанный экспресс-метод получения гемокультуры на основе посева лейкоцитарного слоя пробы крови показал эффективную лабораторную диагностику инфекции кровотока при взятии небольшого объема крови (4,5 мл), сокращение времени получения результата, отсутствие необходимости закупать дорогие импортные автоматизированные системы и флаконы к ним. При использовании масс-спектрометрического метода ответ реально получить на второй день от момента поступления пробы в лабораторию.

Депонированные штаммы микроорганизмов, впервые выделенные из крови, целесообразно использовать для проведения научных исследований при изучении биологических свойств возбудителей инфекции кровотока.

Алгоритмы лабораторной диагностики инфекции кровотока представлены: в методических рекомендациях Министерства Здравоохранения и Медицинской Промышленности РФ «Инфекционный эндокардит» (диагностика, лечение, профилактика) (утверждены 28.04.1994 г.), методических рекомендациях Департамента здравоохранения города Санкт-Петербурга «Микробиологические методы диагностики инфекции кровотока» (утверждены 02.06.2009 г.), методических рекомендациях Департамента здравоохранения города Санкт-Петербурга «Микробиологические методы диагностики инфекции кровотока» (2-е издание, исправленное, 2010 г.).

Метод диагностики инфекции кровотока с применением микроскопии мазка крови внедрены при обследовании больных острым перитонитом, менингитом и при хронических инфекционно-воспалительных заболеваниях: «Способ экспрессной диагностики состояния бактериемии у больных острым разлитым перитонитом» (Рацпредложение № 182 от 20. 09. 2000 г.), «Способ микроскопического исследования лейкоцита периферической крови как метод экспрессной диагностики бактериального менингита» (Рацпредложение № 183 от 16.10.2000 г.).

Ценность научной работы соискателя состоит в разработке системы микробиологического исследования крови при инфекции кровотока, которая заключается в применении принципов культуромики, включающая в себя разработанные условия гемокультивирования, экспрессные методы, клинико-лабораторные маркеры, что комплексно позволило повысить эффективность микробиологической диагностики инфекции в кровотоке.

Научные положения и выводы, сформулированные Каргальцевой Н.М., аргументированы, подтверждены приведенным материалом и вытекают из результатов проведенных исследований.

По тематике, методам исследования, предложенным новым научным положениям, и выводам, диссертационная работа соответствует паспорту специальности научных работников 1.5.11. – микробиология (медицинские

науки) и области исследования: пункты 2 «Выделение, культивирование, идентификация микроорганизмов», 3 «Морфология, физиология, биохимия и генетика микроорганизмов» и 4 «Исследование микроорганизмов на популяционном уровне».

По теме диссертации опубликовано 57 печатных научных работ, в том числе 16 работ в рецензируемых журналах, 5 патентов, 4 статьи в других журналах, 8 тезисов в иностранных изданиях, 8 тезисов в рецензируемых отечественных изданиях, 12 тезисов в материалах конференций и съездов, 4 методических рекомендаций, 2 рациональных предложения. Индекс Хирша – 3,0.

Публикации:

1. Федоров, В.В. Экспресс-диагностика бактериемий / В.В. Федоров, В.И. Кочеровец, **Н.М. Каргальцева** // Клиническая лабораторная диагностика. – 1995. – № 1. – С. 42-45.
2. Федоров, В.В. Экспресс-диагностика бактериемии у больных инфекционным эндокардитом / В.В. Федоров, М.А. Куликова, **Н.М. Каргальцева** // Клиническая лабораторная диагностика. – 1995. – № 4. – С. 48-49.
3. **Каргальцева, Н.М.** Микробиологические особенности бактериемии у кардиологических больных / **Н.М. Каргальцева** // Вестник Санкт-Петербургской Медицинской Академии им.И.И. Мечникова. – 2007. – № 2. – С. 72-73.
4. **Каргальцева, Н.М.** Микробиологическое представление инфекции кровотока / **Н.М. Каргальцева** // МВФ. Медицина. Фармация. – 2007. – № 1. – С. 30-36.
5. Кочеровец, В.И. Забор материала для микробиологического исследования у больных с заболеваниями лорорганов / В.И. Кочеровец, Ю.К. Янов, М.В. Молчанова, **Н.М. Каргальцева**, К.В. Айрапетян // Российская оториноларингология. – 2008. – Т. 2, № 33. – С. 48-59.
6. Добрынина, Н.В. Экспресс-диагностика бактериемии и ее значение у больных внутрибольничной пневмонией / Н.В. Добрынина, А.Т. Бурбелло, **Н.М. Каргальцева** // Вестник Санкт-Петербургской Медицинской Академии им.И.И. Мечникова. – 2009. – Т. 2, № 31. – С. 171-176.
7. Бурбелло, А.Т. Клинические и микробиологические особенности инфекции кровотока / А.Т. Бурбелло, **Н.М. Каргальцева**, В.И. Кочеровец, А.С. Федоренко // Профилактическая и клиническая медицина. – 2010. – № 2. – С. 145-148.

8. **Каргальцева, Н.М.** Современный взгляд на микробиологическое исследование крови / **Н.М. Каргальцева** // Инфекция в хирургии. – 2010. – Т. 8, № 3. – С. 19-22.
9. **Каргальцева, Н.М.** Клинико-лабораторный подход к обследованию амбулаторных пациентов с инфекцией кровотока / **Н.М. Каргальцева, В.Л. Пастушенков, В.И. Кочеровец** // Клинико-лабораторный консилиум. – 2011. – Т. 1, № 37. – С. 49-56.
10. Федоренко, А.С. Оценка психоэмоционального статуса у пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями разной локализации // А.С. Федоренко, **Н.М. Каргальцева** // Профилактическая и клиническая медицина. – 2011. – Т. 1 (38). – С. 386.
11. Федоренко, А.С. Подбор антибактериальной терапии по данным экспресс-микроскопии и посева лейкоцита крови // А.С. Федоренко, П.М. Лукьянова, А.Т. Бурбелло, Н.В. Добрынина, **Н.М. Каргальцева** // Ремедиум. – 2011. – № 4. – С. 141-142.
12. Елисеев, А.В. Бактериоскопический метод исследования крови и мокроты рот диагностики заболеваний нижних отделов дыхательных путей / А.В. Елисеев, П.М. Лукьянова, **Н.М. Каргальцева** // Профилактическая и клиническая медицина. – 2011. – Т. 3, № 40. – С. 348-351.
13. **Каргальцева, Н.М.** Полимикробность гемокультур – современная тенденция в этиологии инфекции кровотока / **Н.М. Каргальцева, В.И. Кочеровец, А.М. Иванов** // Практическая медицина. – 2012. – Т. 1, № 56. – С. 56-62.
14. **Каргальцева, Н.М.** Современные этиологические особенности инфекционного эндокардита / **Н.М. Каргальцева, А.М. Иванов, В.И. Кочеровец, В.Л. Пастушенков** // Практическая медицина. – 2013. – Т. 5, № 74. – С. 91-98.
15. Борисова, О.Ю. Первый случай выделения в России *Rothia mucilaginosa* из крови пациентки с осложнениями после контурной пластики / О.Ю. Борисова, В.А. Алешкин, **Н.М. Каргальцева, В.И. Кочеровец, В.Л. Пастушенков, Е.И. Карпова, О.И. Данищук, С.С. Афанасьев** // Медицинский альманах. – 2015. – Т. 5, № 49. – С. 93-96.
16. **Каргальцева, Н.М.** Микробиологические особенности инфекции кровотока при дисбиозе кишечника / **Н.М. Каргальцева, О.Ю. Борисова, В.А. Алешкин, В.И. Кочеровец, В.Л. Пастушенков** // Медицинское обозрение. Наука и практика. – 2015. – Т. 1, № 3. – С. 42-43.
17. **Каргальцева, Н.М.** Клинические маркеры инфекции кровотока у амбулаторных пациентов / **Н.М. Каргальцева, О.Ю. Борисова, А.Ю. Миронов, В.И. Кочеровец, В.А. Алешкин** // Клиническая лабораторная диагностика. – 2016. – Т. 61, № 8. – С. 494-497.
18. **Каргальцева, Н.М.** Маркеры воспаления и инфекция кровотока (обзор литературы) / **Н.М. Каргальцева, О.Ю. Борисова, В.И. Кочеровец, А.Ю. Миронов, А.Т. Бурбелло** // Клиническая лабораторная диагностика. – 2019. – Т. 64, № 7. – С. 435-442.

19. **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.

20. **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.

Патенты на изобретение РФ:

21. Патент RU № 2098486 С1 РФ (РОСПАТЕНТ). Способ диагностики бактериемии / **Н.М. Каргальцева**; заявитель и патентообладатель Н.М. Каргальцева. – № 95110928; заявл. 23.06.1995; опубл. 10.12.1997, Бюлл. № 34. – 6 с.

22. Патент RU № 2496108 С1 РФ Способ определения целесообразности проведения иммунологического обследования у больных хроническими инфекционно-воспалительными заболеваниями различной локализации / А.С. Федоренко, А.Т. Бурбелло, Л.Б. Гайковая, **Н.М. Каргальцева**; заявитель и патентообладатель ГБОУ ВПО «С-ЗГМУ им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения и социального развития РФ. – № 2012123801; заявл. 07.06.2012; опубл. 20.10.2013, Бюлл. № 29. – 14 с.

23. Патент RU № 2616249 С1 РФ Способ экспресс диагностики инфекции кровотока / **Н.М. Каргальцева**, В.И. Кочеровец, О.Ю. Борисова, С.С. Афанасьев, В.А. Алешкин, А.В. Елисейев; заявитель и патентообладатель ФБУН МНИИЭМ им.Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора. – № 2016101596; заявл. 20.01.2016; опубл. 13.04.2017, Бюлл. № 11. – 12 с.

24. Патент RU № 2650863 С1 Сердечно-мозговая питательная среда для диагностики инфекции в кровотоке и способ ее получения / **Н.М. Каргальцева**, В.И. Кочеровец, О.Ю. Борисова, В.Л. Пастушенков, С.С. Афанасьев; заявитель и патентообладатель ФБУН МНИИЭМ им.Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора. – № 2017104519; заявл. 13.02.2017; опубл. 17.04.2018, Бюлл. № 11. – 14 с.

25. Патент RU № 2660708 С1 Способ получения питательной среды для выделения гемокультуры при диагностике инфекции кровотока / **Н.М. Каргальцева**, О.Ю. Борисова В.И. Кочеровец, В.А. Алешкин, С.С. Афанасьев, В.Л. Пастушенков, М.С. Афанасьев; заявитель и патентообладатель ФБУН МНИИЭМ им.Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора. – № 2017133981; заявл.29.09.2017; опубл. 09.07.2018, Бюлл. № 19. – 13 с.

Рационализаторские предложения:

1. «Способ экспрессной диагностики состояния бактериемии у больных острым разлитым перитонитом» (Рацпредложение № 182 от 20. 09. 2000 г.),
2. «Способ микроскопического исследования лейкоцита периферической крови как метод экспрессной диагностики бактериального менингита»

(Ращпредложение № 183 от 16.10.2000 г.).

Методические рекомендации:

1. Методические рекомендации НИИ кардиологии им. В. А. Алмазова РФ «Инфекционный эндокардит (диагностика, лечение, профилактика)», утверждённые МЗ РФ (г. Санкт-Петербург, 1994 г.),
2. Методические рекомендации Санкт-Петербургской медицинской академии им. И.И. Мечникова «Прогнозирование исхода у больных острым перитонитом на основании данных клинико-микроскопического исследования» (г. Санкт-Петербург, 2003 г.)
3. Методические рекомендации Комитета здравоохранения Санкт-Петербурга «Микробиологические методы диагностики инфекции кровотока» (г. Санкт-Петербург, 2009 г.).
4. Методические рекомендации Комитета здравоохранения Санкт-Петербурга «Микробиологические методы диагностики инфекции кровотока, 2-е изд.» (г. Санкт-Петербург, 2010 г.).

Диссертация Каргальцевой Натальи Михайловны «Современная культуромика – путь повышения эффективности микробиологической диагностики инфекции кровотока» рекомендуется к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности: 1.5.11 – микробиология (медицинские науки).

Заключение принято на заседании Ученого совета 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.

Присутствовал на заседании 26 человек. Результаты голосования: «за» - 25 чел., «против» - 0 чел., «воздержалось» - 1 чел., протокол № от 17 июня 2021 г.

Директор

ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора

доктор биологических наук

Ученый секретарь

ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора

кандидат медицинских наук

С.Ю. Комбарова

А.В. Сафронова