

Заключение комиссии Диссертационного совета 64.1.004.01 при Федеральном бюджетном учреждении 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 докторской диссертации Каргальцевой Натальи Михайловны на тему: «Современная культуромика – путь повышения эффективности микробиологической диагностики инфекции кровотока» на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.11.– Микробиология

Научные консультанты:

Кочеровец Владимир Иванович – доктор медицинских наук (03.00.07 – микробиология), профессор кафедры фармацевтической технологии и фармакологии Института профессионального образования Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первого Московского государственного медицинского университета им.И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации;

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» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Диссертационная работа Каргальцевой Н.М. соответствует специальности 1.5.11.– Микробиология (медицинские науки).

Диссертационная работа посвящена разработке системы микробиологического исследования крови и унифицированного алгоритма микробиологического исследования крови на основе применения принципов микробиологической культуромики, реализации экспрессных методов получения гемокультуры и индикации инфекции кровотока, созданию рецептуры сердечно-мозговых сред (жидкой и плотной), изучению гематологических и биохимических показателей крови в роли маркеров инфекции в крови. В результате проведенной работы Каргальцевой Н.М. разработана система микробиологического исследования крови на основе принципов микробиологической культуромики, которая позволила получить новые данные о факте наличия инфекции кровотока при разных терапевтических заболеваниях, этиологическом составе ведущих возбудителей, циркулирующих в кровотоке, показать эффективность экспрессных методов получения гемокультуры и диагностики инфекции кровотока, апробировать рецептуру сердечно-мозговых сред.

Впервые разработана универсальная модель получения гемокультуры и система информативной микробиологической диагностики инфекции кровотока на базе комплекса технологических решений. Обосновано использование мультифакторного механизма с применением: закрытой анаэробной системы, анаэробных газовых условий, сердечно-мозговой питательной среды, оптимального соотношения объема крови к питательной среде. Показано, что симптоматические, гематологические и сывороточные клинико-лабораторные показатели воспаления обладают диагностическими и прогностическими функциями маркеров инфекции кровотока у пациентов терапевтического профиля. Впервые разработан экспресс - метод получения гемокультуры на основе посева лейкоцитарного слоя пробы периферической крови с высокой эффективностью выделения возбудителей из крови при использовании минимального объема отбираемой крови (4,5 мл) и достаточного транспортного временного резерва от момента взятия крови до исследования (4 часа). Показано, что разработанные отечественные сердечно-мозговые среды (жидкая и плотная) повышают эффективность методов микробиологической культуромики при исследовании гемокультур и качество диагностики инфекции кровотока. Предложен путь повышения диагностической информативности инфекции кровотока путем микроскопии мазка лейкоцитарного слоя пробы крови. Впервые разработана методика nested-ПЦР из лейкоцитарного слоя пробы крови, позволяющая выявлять ДНК микроорганизмов и их Грам-принадлежность с концентрацией 10^3 после второго раунда

амплификации, что обосновывает интеграцию этой методики в систему диагностики инфекции кровотока. Впервые проведено полногеномное секвенирование штамма *Aerococcus* sp. 1КР-201 и получен драфтовый сиквенс генома штамма. Нуклеотидная последовательность штамма депонирована в международную базу данных NCBI/GenBank. Предложенный многофункциональный алгоритм интегральной диагностики инфекции кровотока у терапевтических пациентов основан на инновационных принципах микробиологической культуромики с применением комплекса микроскопических, бактериологических, масс-спектрометрических и молекулярно-генетических методов и сопутствующих клинико-лабораторных маркёров.

Теоретическая значимость работы состоит в том, что на основе применения инновационных принципов микробиологической культуромики и научного многопланового обследования пациентов разработана универсальная модель получения гемокультуры и система информативной микробиологической диагностики инфекции кровотока, которые расширят границы микробиологического исследования крови при любой патологии. Разработанная универсальная модель получения гемокультуры и информативная клинико-микробиологическая система исследования крови дают новые теоретические знания о механизмах развития инфекции кровотока при соматических заболеваниях, о совершенствовании способов культивирования микроорганизмов в искусственных условиях роста. Теоретические знания о культивировании крови значительно расширяют практические возможности микробиологических лабораторий по выделению возбудителей из крови, дополняют представления клиницистов о роли инфекции при соматических заболеваниях.

Практическая значимость исследования заключается в том, что созданная универсальная модель получения гемокультуры и научно обоснованная система микробиологической диагностики инфекции кровотока, включающая алгоритмы микробиологического исследования крови, разработаны для практического обследования госпитальных и амбулаторных терапевтических больных и учитывают технические возможности любой лаборатории федерального и регионального уровней. Полученные данные по этиологической структуре возбудителей инфекции кровотока при соматических заболеваниях являются новой микробиологической информацией, на основе которой можно практически обосновать подбор адекватной антимикробной терапии больным инфекцией кровотока в лечебно-профилактических организациях. Подтверждена практической ценностью результатов симптоматических, гематологических, биохимических показателей воспаления в роли диагностических маркёров инфекции кровотока у терапевтических больных. Создание рецептуры отечественных сердечно-мозговых сред позволит расширить ассортимент выпускаемых отечественных сред и выполнить государственную задачу по импортному замещению зарубежных питательных сред в практическом здравоохранении. Использование микроскопического исследования мазков лейкоцитарного слоя пробы крови для диагностики инфекции кровотока в течение 2-х часов с момента поступления пробы крови повышает информативность обнаружения бактериально-дрожжевых ассоциаций при отсутствии их роста в гемокультуре. Микроскопия мазка крови позволяет осуществить раннюю диагностику микроорганизмов в циркулирующем кровотоке, способствует практической оптимизации диагностики инфекции кровотока при минимальных технико-материальных и экономических затратах медицинских организаций. Разработанный метод получения гемокультуры на основе прямого посева лейкоцитарного слоя пробы крови показал эффективную диагностику инфекции кровотока при использовании небольшого объёма крови, минимального количества проб, сокращения времени получения результата и отсутствии необходимости закупать дорогие импортные гемокультуральные автоматизированные системы и флаконы к ним для гемокультивирования. Метод получения гемокультур позволяет использовать масс-спектрометрические методы на второй день посева крови для идентификации выросших культур на плотной среде, что позволяет получить ответ на второй день поступления крови в лабораторию. Штаммы микроорганизмов, выделенные из крови: *Aerococcus* spp., *Brevibacillus borstelensis*, *Rothia mucilaginosa* депонированы в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур (ГКПМ-Оболенск) ФБУН ГНЦ ПМБ

Роспотребнадзора, которые можно использовать для проведения научных исследований при изучении инфекции кровотока. Алгоритмы диагностики инфекции кровотока представлены в методических рекомендациях «Инфекционный эндокардит» (диагностика, лечение, профилактика) (Министерства Здравоохранения и Медицинской Промышленности РФ, 1994 г.), «Микробиологические методы диагностики инфекции кровотока» (Комитет по здравоохранению Санкт-Петербурга, 2009 г.), «Микробиологические методы диагностики инфекции кровотока» (Комитет по здравоохранению Санкт-Петербурга, 2-е издание, 2010 г.).

Достоверность результатов работы подтверждается достаточным объемом исследований, применением современных, микроскопических, бактериологических, молекулярно-генетических методов исследования и принципов доказательной медицины. Научные положения и выводы, сформулированные Каргальцевой Н.М., логически следуют из результатов проведенных исследований.

По объему проведенных исследований, новизне и научно-практической значимости работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.11 – Микробиология.

Комиссия не установила в диссертации и автореферате фактов некорректного заимствования материалов без ссылок на первоисточники. Результаты проверки с помощью системы «Антиплагиат» показал, оригинальность текста – 90,14%, самоцитирование – 3,35%, цитирование – 0,62%, заимствование – 5,89%.

Материалы исследования и основные положения диссертационной работы были доложены на 29 конференциях международных, всероссийского и регионального уровней.

Диссертация не содержит недостоверных сведений об опубликованных диссертантом работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации. По теме диссертации опубликовано 38 печатных работ, из них 16 статей в рецензируемых изданиях, 3 – в других изданиях, 4 тезиса - в рецензируемых изданиях, 15 тезисов - в материалах конференций. Получено 5 патентов на изобретения РФ. Подготовлено 5 – методических рекомендаций, 2 рационализаторских предложения.

Диссертация соответствует профилю Диссертационного совета 64.1.004.01.

В качестве **ведущей организации** предлагается утвердить:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

По докторской диссертации Каргальцевой Натальи Михайловны от доктора медицинских наук (14.01.20 –анестезиология и реанимация, 03.02.03 – микробиология) Попова Дмитрия Александровича, заведующего лабораторией клинической микробиологии и антимикробной терапии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации поступил отказ от оппонирования диссертационной работы. (Заявление об отзыве своего согласия выступить официальным оппонентом от 06.04.2022 г.)

В качестве официальных оппонентов предлагаются:

Кветная Ася Степановна – доктор медицинских наук (03.00.07.–микробиология), профессор, ведущий научный сотрудник научного 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

Афиногенов Геннадий Евгеньевич – доктор медицинских наук (03.00.07.–микробиология), профессор, профессор кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»

Заключение: комиссия Диссертационного совета 64.1.004.01 рекомендует диссертацию Каргальцевой Натальи Михайловны «Современная культуромика – путь повышения эффективности микробиологической диагностики инфекции кровотока» на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.11 – Микробиология к приему к защите.

Заключение подготовили члены комиссии Диссертационного совета 64.1.004.01

Председатель:

Главный научный сотрудник
лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,
доктор медицинских наук, профессор

С.С. Афанасьев

Члены комиссии:

Главный научный сотрудник,
руководитель отдела микробиологии
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,
доктор медицинских наук, профессор

А.Ю. Миронов

Заведующий отделом клинической фармакологии
с центром клинических исследований
ГКБ № 67 им. Л.А. Ворохобова ДЗМ,
доктор медицинских наук, профессор

С.Д. Митрохин

Главный научный сотрудник,
руководитель отдела биотехнологии
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,
доктор биологических наук, доцент

Е.А. Воропаева

Главный научный сотрудник
лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,
доктор биологических наук

В.М. Лахтин