

ОТЗЫВ

**на автореферат диссертации 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

В связи с тем, что в настоящее время в мире фиксируется высокий уровень летальности больных при инфекции кровотока (ИК), который в зависимости от географической локализации стран иногда достигает 48 % (в странах Европы) и нозологии основного заболевания – 49 % у онкогематологических больных, 33 % – при заболеваниях мочевыводящих путей, 37 % – при целлюлите и т.д., а результаты получения положительных результатов посевов на гемокультуру традиционным культуральным методом в среднем не превышает 20,0 %, актуальность исследования не вызывает сомнения.

Причиной высокой летальности при ИК при терапевтической патологии является низкий уровень диагностической эффективности гемокультуривирования вследствие недостаточных знаний принципов культуривирования крови и отсутствия унифицированной системы микробиологического исследования крови. Поэтому назрела необходимость расширить традиционные микробиологические методы исследования крови, за счёт комплексного применения перспективных приёмов получения и условий культуривирования гемокультуры, а также методов микробиологической культуромики.

Научная новизна работы

Научная новизна работы заключается 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 на базе комплекса технологических решений, которые расширят границы микробиологического исследования крови при любой патологии.

Обосновано использование мультифакторной системы, основанной на принципах адаптированных схем и методов микробиологической культуромики для получения гемокультуры с применением: закрытой анаэробной системы, анаэробных газовых условий, сердечно-мозговой питательной среды, оптимального соотношения объёма крови к питательной среде, позволяющей получить новые данные о видовой структуре бактериемий и фунгемий, расширить микробиологические знания по этиологической диагностике инфекции кровотока. Установлено, что

симптоматические, гематологические и сывороточные клинико-лабораторные показатели воспаления обладают диагностическими и прогностическими функциями маркёров инфекции кровотока у терапевтических пациентов.

Впервые разработаны:

– метод получения гемокультуры на основе посева лейкоцитарного слоя пробы периферической крови (Патент на изобретение РФ № 2098486 от 10.12.1997);

– метод повышения диагностической информативности ИК путём микроскопии мазка лейкоцитарного слоя пробы крови, используя классическую технику приготовления мазка «двух стёкол» и техники «осветления» (Патент на изобретение РФ № 2616249 от 20.01.2016);

– рецептуры отечественных сердечно-мозговых питательных сред (жидкой и плотной) – патенты на изобретение РФ № 2650863 от 13.02.2017 и № 2660708 от 29.09.2017;

– методика nested-ПЦР из лейкоцитарного слоя пробы крови, позволяющая выявлять ДНК микроорганизмов и их Грам-принадлежность, что даёт возможность интегрировать её в систему диагностики инфекции кровотока.

Впервые проведено полногеномное секвенирование штамма *Aerococcus spp.* 1КР-2016, выделенного из крови пациента с инфекцией кровотока, и получен драфтовый сиквенс генома. Нуклеотидная последовательность штамма депонирована в международную базу данных NCBI/GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/NEEY00000000>).

Теоретическая и практическая значимость

Результаты диссертационной работы Каргальцевой Н.М. представляют теоретический и практический интерес для здравоохранения страны, а диссертационная работа имеет значимую теоретическую и практическую ценность в подтверждении важности разработанной системы микробиологического исследования крови, применение которой повышает качество и скорость диагностики ИК.

Полученные данные об этиологической структуре возбудителей ИК при соматических заболеваниях являются новой микробиологической информацией, на основе которой разработаны критерии этиологической оценки и показана роль грамположительной инфекции при соматической патологии, на основании чего можно практически обосновать подбор адекватной антимикробной терапии больных инфекцией кровотока в лечебно-профилактических организациях любого уровня.

Разработанные отечественные сердечно-мозговые среды (жидкая и плотная) позволяют расширить ассортимент выпускаемых отечественных сред и выполнить государственную задачу по импортному замещению зарубежных питательных сред в практике отечественного здравоохранения.

Использование техники микроскопии мазков лейкоцитарного слоя

пробы крови при диагностике инфекции кровотока позволяет выявлять возбудителей в крови в течение 2-х часов с момента поступления пробы крови и повышать информативность обнаружения бактериально-дрожжевых ассоциаций при отсутствии их роста в гемокультуре.

Разработанный метод получения гемокультуры на основе прямого посева лейкоцитарного слоя пробы крови позволяет использовать масс-спектрометрические методы для идентификации выросших культур на плотной среде и получить ответ на второй день поступления крови в лабораторию. Несомненным достоинством является разработка методики постановки ПЦР из лейкоцитарного слоя пробы крови для выявления ДНК микроорганизмов и их Грам-принадлежности.

Штаммы микроорганизмов, выделенные из крови: *Aerococcus spp.* 1КР-2016, *Brevibacillus borstelensis*, *Rothia mucilaginosa* депонированы в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов и клеточных культур (ГКПМ-Оболensk) (ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора) и могут быть использованы для проведения научных исследований при изучении этиопатогенеза ИК.

Достоверность полученных результатов

Достоверность результатов диссертационного исследования подтверждается значительным объёмом исследований с применением классических и разработанных методик, сертифицированного оборудования и стандартных методов статистического анализа полученных данных.

Общее количество обследованных больных с подозрением на ИК составило 1230 человек, из которых 848 были госпитальными пациентами с кардиологическими диагнозами, а 382 – внегоспитальные пациенты с другими диагнозами. От всех больных было исследовано 2075 проб цельной крови и проб лейкоцитарного слоя периферической крови. Основные результаты диссертационной работы получены автором лично.

Результаты исследований, проведённых Каргальцевой Н.М., доложены на 14 конгрессах и конференциях Международного, Всероссийского и регионального уровней, опубликованы в 38 печатных работах, включая 15 статей в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК. Кроме того, в ходе работы ею было получено 5 патентов на изобретения и подготовлены 2 рационализаторских предложения. Разработано 5 методических рекомендаций.

Алгоритмы диагностики ИК представлены в методических рекомендациях «Инфекционный эндокардит» (диагностика, лечение, профилактика), Министерство 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.).

Общая характеристика работы

Автореферат написан с соблюдением требований к оформлению, полностью отражает результаты исследования, иллюстрирован таблицами и цветными рисунками. Выводы, положения, выносимые на защиту и практические рекомендации аргументированы, научно обоснованы и соответствуют поставленным целям и задачам.

Вместе с тем, несмотря на общую положительную оценку материала, представленного в автореферате, следует отметить, что, по моему мнению, третье положение, выносимое на защиту, по существу более полно раскрывает суть первого положения, в связи с чем, как мне кажется, их можно было-бы объединить. Кроме того, в качестве научной дискуссии, прошу ответить на ряд заинтересовавших меня вопросов:

1. Обнаруживаемые вами микроскопическим методом в большом количестве (в 66,9 % случаев, стр. 36) грибы рода *Candida* могут ли считаться возбудителями инфекции кровотока или они являются сопутствующей или транзиторной микрофлорой, и как это влияет на результаты лечения?

2. За счёт чего повышается эффективность получения гемокультуры методом прямого посева лейкоцитарного слоя и в чём заключается его основное преимущество над автоматизированными методами, получившими широкое распространение в практике микробиологических лабораторий?

3. Может ли широкое применение предложенных вами приёмов микробиологической культуромики в полном объёме решить проблему микробиологической диагностики ИК, или для этого необходимо внедрение ещё дополнительных методов анализа?

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 завершённой научно-квалифицированной работой, содержащей новое решение актуальной научно-практической проблемы, касающейся разработки путей повышения эффективности микробиологической диагностики инфекции кровотока, внедрение которых вносит значительный вклад в развитие здравоохранения страны.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, объёму проведённых 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 соответствии с Постановлениями 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 её автор, Каргальцева Наталья Михайловна, заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.11 – микробиология.

Ведущий научный сотрудник 3 управления
НИИЦ (МБЗ) ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ
доктор медицинских наук



Добрынин Валерий Михайлович

Подпись руки доктора медицинских наук Добрынина В.М. – заверяю.

Учёный секретарь диссертационного совета
ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ
доктор медицинских наук



Степанов Александр Валентинович

« 3 » июня 2022 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации (ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ).

Адрес: 195043, Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, д. 4.

Тел.: +7 (812) 527-39-57