

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, доцента, профессора кафедры клинической лабораторной диагностики Борониной Любови Григорьевны на диссертационную работу Лазаревой Анны Валерьевны на тему: «Микробиологическая характеристика, механизмы устойчивости к антибиотикам и молекулярная эпидемиология резистентных форм респираторных патогенов и госпитальных грамотрицательных бактерий» на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.02.03. – микробиология

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Лазаревой А.В. посвящена изучению молекулярно-генетических механизмов резистентности к антибиотикам, проблеме распространения резистентных форм бактерий. Инфекции, обусловленные штаммами грамотрицательных бактерий, обладающими множественной лекарственной устойчивостью, являются основной причиной заболеваемости и летальности во всем мире.

Респираторные инфекции в детском возрасте часто вызваны штаммами *Streptococcus pneumoniae* и *Streptococcus pyogenes*. В последние годы отмечается увеличение резистентности к β -лактамам антибиотикам среди пневмококков и увеличение доли устойчивых форм стрептококков к макролидам.

Введение в России в 2014 году вакцинации против пневмококковых инфекций вывело из циркуляции бактерии вакцинных серотипов, что привело к снижению заболеваемости инвазивными пневмококковыми инфекциями. А также изменилась структура пневмококковой популяции, стали появляться серотипы пневмококка, не входящие в применяемые в настоящее время вакцины, и выросла доля редких генетических линий.

Выявление конкретных механизмов резистентности как у грамотрицательных, так и у грамположительных бактерий представляет значительную практическую значимость и является основным направлением

клинической микробиологии. Это дает основание утверждать, что цель работы, сформулированная диссертантом, является важной и актуальной.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертантом изучены и проанализированы известные достижения и теоретические положения, существующие в современной литературе по вопросам молекулярно-генетических механизмов резистентности грамотрицательных бактерий: *A. baumannii*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* и респираторных патогенов. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнения.

Исследования выполнены с использованием современного оборудования, программного обеспечения и статистической обработки полученных данных. Для решения поставленных задач в работе были использованы современные микробиологические, молекулярно-генетические и масс-спектрометрические методы.

Обсуждение результатов проведено с учетом современных научных данных. Научные положения и выводы, изложенные в диссертации, обоснованы и подтверждены фактическим материалом, что позволяет считать полученные результаты достоверными, сделанные выводы обоснованными и вытекающими из результатов проведенных исследований.

Результаты проведенного диссертационного исследования в полном объеме представлены в 22 научных работах, опубликованных в журналах из перечня рецензируемых научных изданий ВАК, реферируемых РИНЦ, базой данных Scopus и/или Web of Science.

Лазаревой А.В. проанализирован большой фактический материал. Методологические подходы современны, а полученные результаты имеют, как научное, так и практическое значение.

Научная новизна и практическая значимость работы

Диссертационная работа Лазаревой А.В. является целостным, самостоятельным научным исследованием, отличающимся своей новизной. В настоящее время проблема инфекций, связанных с представителями грамотрицательных бактерий *A. baumannii*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*, является предметом изучения многих исследовательских коллективов. Темы научных трудов концентрируются на исследовании генетических детерминант резистентности.

В диссертационной работе Лазаревой А.В. впервые установлены доминантные клоны карбапенемрезистентных штаммов *A. baumannii*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*. Диссертантом установлено, что изоляты *A. baumannii* принадлежали к клональным комплексам CC92 и CC944, распространение которых установлено по всему миру.

Резистентные штаммы *K. pneumoniae* принадлежали к сиквенс-типам ST395 и ST307. А в популяционной структуре синегнойной палочки выявлено преобладание трех генотипов из числа международных клонов высокого риска: ST654, ST235 и ST111.

Кроме того, впервые показана роль продукции карбапенемазы в определении формирования резистентности к карбапенемам выделенных у детей изолятов *грамотрицательных бактерий*. Так, основным механизмом устойчивости к карбапенемам у *A. baumannii* являлась карбапенемаза OXA-72, а 15% изолятов обладали карбапенемазой OXA-23. Штаммы *K. pneumoniae* продуцировали карбапенемазу OXA-48, которая сочеталась с наличием β -лактамазой расширенного спектра.

Устойчивость к карбапенемам *P. aeruginosa* преимущественно обусловлена выработкой VIM-подобной карбапенемазы.

Следует подчеркнуть, что автором впервые была описана динамика серотипового состава и профиля чувствительности к антибиотикам носоглоточных изолятов пневмококков, а также впервые полностью

расшифрована серогруппа 6. Доказано нарастание устойчивости пневмококков к β -лактамным антибиотикам и макролидам.

Диссертантом показано, что доминирующим механизмом резистентности к макролидам и линкозамидам было носительство гена *ermB*, который обеспечивал MLSB-фенотип, т.е. перекрестную устойчивость к макролидам, линкозамидам и стрептограминам. Также автор отметил, что небольшая доля резистентных к эритромицину пневмококков, несущих ген *meI*, сохраняла чувствительность к клиндамицину, т.е. обладало M-фенотипом. На основе проведенных исследований, автор подтверждает целесообразность оценки индуцибельной резистентности к клиндамицину и эритромицину.

Таким образом, диссертация представляет интерес не только для научного сообщества, но и для клинических микробиологов, врачей общей практики, эпидемиологов.

Необходимо отметить, что результаты исследований в качестве диагностических технологий внедрены в практическую работу трех крупных медицинских учреждений города Москвы.

Оценка содержания диссертации

Диссертация представлена на 233 страницах машинописного текста, состоит из введения, основной части (обзора литературы, описание материалов и методов работы, пяти глав собственных исследований), заключения, выводов, практических рекомендаций, описания перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений, списка использованной литературы, включающего 391 источник литературы (91 ссылка на отечественных авторов и 300 - на зарубежных авторов). Диссертация написана четким литературным языком, хорошо и наглядно иллюстрирована (40 таблиц и 12 рисунков).

Во введении автор подчеркивает актуальность работы, формулирует цель и задачи исследования, характеризует научную новизну и практическую значимость полученных результатов.

В обзоре литературы отражается глубокое знание автором проблемы в целом и в тоже время позволяет установить те аспекты, которые в настоящее время изучены недостаточно. Именно такое глубокое и всестороннее понимание вопроса дало возможность автору четко сформулировать цель и задачи исследования. Обзор литературы написан хорошим литературным языком, освещает все необходимые аспекты, изучаемые в данной работе проблемы.

Во второй главе диссертации подробно изложены методы, которые были использованы в ходе выполнения работы. Все разделы содержат достаточную информацию о материалах и методах, используемых при проведении исследования. Следует отметить высокий уровень статистической обработки полученных данных.

В главе три автор излагает результаты изучения госпитальных грамотрицательных бактерий. В данной главе диссертантом проведен тщательный анализ динамики микробиоты нижних дыхательных путей детей, находящихся на ИВЛ. Проведен анализ гемокультур на основании которого, автор приходит к выводу, что микроорганизмы, выделенные из положительных образцов крови в монокультуре, скорее всего, указывают на истинную бактериемию. Однако, выделение коагулазонегативных стафилококков, вызывает сомнение в их истинной роли в развитии инфекций кровотока.

В четвертой главе автором представлены данные о доминировании в Москве двух клонов *A. baumannii*: CC92, распространенный по всему миру и CC944, который может оказаться эндемичным для московского региона и, возможно, для России в целом.

В настоящем исследовании были выявлено, что ведущим механизмом резистентности к карбапенемам у штаммов *A. baumannii* являлась продукция карбапенемазы OXA-72.

В пятой главе проведено исследование о клональном разнообразии, молекулярных механизмах устойчивости к карбапенемам штаммов *K. pneumoniae*. Автор представил результаты молекулярно-генетического анализа изолятов *K. pneumoniae* и показал, что большинство штаммов принадлежало к двум сиквенс-типам: ST395 и ST307, а основным механизмом устойчивости к карбапенемам была продукция карбапенемазы OXA-48, которая в большинстве случаев сочеталась с наличием β -лактамаз расширенного спектра.

В шестой главе диссертант провел анализ популяционной структуры и носительства металло- β -лактамаз карбапенемрезистентных штаммов *P. aeruginosa*. Результаты показывают разнообразие сиквенс-типов и преобладание международных клонов высокого эпидемического риска: ST111, ST235, ST446, ST654, ST2592, а ген VIM-подобной карбапенемазы присутствовал более чем у половины карбапенемрезистентных штаммов синегнойной палочки и встречался в сиквенс-типах ST111, ST235, ST654.

В главе семь дана комплексная оценка респираторных патогенов. Выявлено, что в течение семилетнего периода наблюдения структура носоглоточных серотипов *S. pneumoniae* изменилась незначимо.

Обнаружено возрастание доли серотипа 14 пневмококка до 15% за счет клона CC143, который характеризуется множественной лекарственной устойчивостью. В этот же период, автор отмечает возрастание устойчивости пневмококков к оксациллину до 36% и эритромицину до 37%. Диссертант показал, что доминирующим механизмом резистентности к макролидам у стрептококков был ermB-опосредованный механизм: у *S. pneumoniae* (80%) и *S. pyogenes* (72%).

В заключении диссертант продемонстрировал способность к вдумчивому и глубокому сравнительному анализу собственных результатов исследования и данных литературы.

Структура и логика изложения материалов диссертации выглядят достаточно обоснованным в контексте поставленной цели и задач исследования. Работа написана логично, доказательно, ясным и строгим научным языком. Стиль и оформление диссертации не вызывают существенных замечаний.

Соответствие специальности

Диссертационная работа представляет собой целостное законченное научное исследование. Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 03.02.03 – «микробиология», области исследований «Морфология, физиология, биохимия и генетика микроорганизмов».

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Лазаревой Анны Валерьевны на тему «Микробиологическая характеристика, механизмы устойчивости к антибиотикам и молекулярная эпидемиология резистентных форм респираторных патогенов и госпитальных грамотрицательных бактерий», является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной проблемы – мониторинга приоритетных патогенов и их молекулярной эпидемиологии для контроля антибиотикорезистентности и разработки мер по ее профилактике.

Диссертационная работа Лазаревой Анны Валерьевны соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №

842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335 "О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология (медицинские науки).

Официальный оппонент:

Профессор кафедры
клинической лабораторной диагностики
и бактериологии
ФГБОУ ВО «Уральский государственный
медицинский университет»
Минздрава России
(620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3,
телефон: (343) 214 86 52, e-mail: usma@usma.ru)

доктор медицинских наук, доцент
(шифр специальности: 03.03.03 – микробиология)

Боронина Любовь Григорьевна

Подпись Борониной Любви Григорьевны заверяю:
начальник управления кадровой политики и трудового обеспечения
ФГБОУ ВО «Уральский государственный
медицинский университет»
Минздрава России

Чупракова Светлана Васильевна

