

Заключение диссертационного совета Д 208.040.08 на базе ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) Министерства здравоохранения Российской Федерации по диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук.

аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 21 мая 2019 года протокол № 8 о присуждении Лазаревой Анне Валерьевне, гражданке РФ, ученой степени доктора медицинских наук.

Диссертация «Микробиологическая характеристика, механизмы устойчивости к антибиотикам и молекулярная эпидемиология резистентных форм респираторных патогенов и госпитальных грамотрицательных бактерий» в виде рукописи по специальности: 03.02.03 - Микробиология принята к защите 20 ноября 2018 г., протокол № 14 диссертационным советом Д 208.040.08 на базе ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, дом 8, строение 2 (Приказ Минобрнауки России №105/нк от 11.04.2012г.).

Лазарева Анна Валерьевна 1971 года рождения, в 2003 году окончила Российский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва по специальности «педиатрия».

Соискатель Лазарева Анна Валерьевна, диссертацию на соискание ученой степени кандидата наук «Современный спектр возбудителей хронического воспаления при болезнях органов дыхания у детей и оптимизация антибактериальной терапии» защитила в 2011 году в диссертационном совете при «Научном центре здоровья детей РАМН».

С 2015 года является соискателем лаборатории микробиологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России.

Лазарева Анна Валерьевна с 2012 года работает заведующей лабораторией микробиологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России по настоящее время.

Диссертация «Микробиологическая характеристика, механизмы устойчивости к антибиотикам и молекулярная эпидемиология резистентных форм респираторных патогенов и госпитальных грамотрицательных бактерий» по специальности: 03.02.03 – Микробиология, выполнена в лаборатории микробиологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России по настоящее время.

Научные консультант:

– доктор медицинских наук, профессор РАН, Маянский Николай Андреевич ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, лабораторный отдел, заведующий отделом;

Официальные оппоненты:

– Клясова Галина Александровна, гражданка России, доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, лаборатория клинической бактериологии, микологии и антибиотической терапии, заведующая лабораторией;

– Грубер Ирина Мироновна, гражданка России, доктор медицинских наук, профессор, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», лаборатория экспериментальной микробиологии, заведующая лабораторией;

– Боронина Любовь Григорьевна, гражданка России, доктор медицинских наук, доцент, ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедра клинической лабораторной диагностики и бактериологии, профессор кафедры – дали положительные отзывы на диссертацию

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России в своем положительном заключении, составленном доктором медицинских наук Благодравовой Анной Сергеевной – директором Научно-исследовательского института профилактической медицины Университетской клиники, профессором кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины указала, что Диссертационная работа Лазаревой Анны Валерьевны является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена важная научная проблема в области клинической микробиологии – мониторинга приоритетных патогенов и их молекулярной эпидемиологии для контроля антибиотикорезистентности и разработки мер по ее профилактике. Полученные результаты имеют важное научное и практическое значение.

По своей актуальности, объему выполненных исследований, научной новизне, теоретической и практической ценности, значимости полученных данных, обоснованности выводов соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (в редакции Постановления Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. № 335), а ее автор Лазарева А.В. достойна присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.02.03 - микробиология (медицинские науки).

Соискатель имеет 36 научных работ, из них 22 работы по теме диссертации (все в соавторстве) общим объемом 7,4 печатных листа, из них 17 статей в рецензируемых научных изданиях (в том числе 13 оригинальных статей), 5 работ в иностранных публикациях.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Мониторинг и профиль антибиотикорезистентности микробиоты трахеального аспирата у детей с тяжелой черепно-мозговой травмой в отделении реанимации и интенсивной терапии / **А.В. Лазарева**, Л.К. Катосова, О.А. Крыжановская, О.А. Пономаренко, О.В. Карасева, А.Л. Горелик, Н.А. Маянский // **Антибиотики и химиотерапия.** – 2014. – Т.59, №7-8. – С.8-15.
2. Распространение и механизмы устойчивости к макролидам *Streptococcus pyogenes*, выделенных у детей / Л.К. Катосова, **А.В. Лазарева**, Т.А. Хохлова, О.А. Пономаренко, Н.М. Алябьева // **Антибиотики и химиотерапия.** – 2016. – Т. 61, № 3-4. – С. 23-29.
3. Устойчивость к антибиотикам и молекулярные механизмы резистентности у карбапенем-нечувствительных изолятов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в педиатрических ОРИТ г. Москвы / О.А. Крыжановская, **А.В. Лазарева**, Н.М. Алябьева, Р.Ф. Тепаев Р.Ф., О.В. Карасева, И.В. Чеботарь, Н.А. Маянский // **Антибиотики и химиотерапия.** – 2016. – Т. 61, № 7-8. – С. 22-26.

На автореферат диссертации поступили отзывы от: доктора медицинских наук, профессора, заведующей кафедрой клинической биохимии, микробиологии и лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Архангельск – Бажуковой Татьяны Александровны; доктора биологических наук, профессора, заведующей отделом медицинской

микробиологии, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России – Зигангировой Наи́ли Ахатовны; доктора медицинских наук, профессора РАН, заведующей лабораторией биомониторинга и молекулярно-генетических исследований Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения академии наук ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук – Перуновой Натальи Борисовны.

Отзывы положительные, критических замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что оппоненты являются специалистами в данной области и имеют публикации по теме диссертации в рецензируемых журналах.

ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России г. Нижний Новгород, выбран в качестве ведущей организации в связи с тем, что одно из научных направлений, разрабатываемых данным учреждением, соответствует профилю представленной диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

Доказано, что грамотрицательная госпитальная микробиота быстро колонизирует поступающих в ОРИТ пациентов и отличается высокой резистентностью к основным антибактериальным препаратам, в том числе карбапенемам. Доказано, что среди карбапенемрезистентных штаммов *A. baumannii*, циркулирующих в московских стационарах, доминантные клоны относились к распространенным по всему миру CC92^{Oxf} и CC944^{Oxf}. Доказано, что биопленочный потенциал у карбапенемрезистентных штаммов *A. baumannii* выше у изолятов CC92^{Oxf} по сравнению с CC944^{Oxf} и другими

клонами. Показана значимость карбапенемазы OXA-72 в формировании устойчивости *A. baumannii* к карбапенемам.

Доказано доминирование сиквенс-типов ST395 и ST307 среди клонального разнообразия карбапенемрезистентных изолятов *K. pneumoniae*, и установлено, что основным механизмом устойчивости к карбапенемам была продукция карбапенемазы OXA-48.

Доказано, что в популяционной структуре карбапенемрезистентных изолятов *P. aeruginosa*, преобладало три генотипа из числа международных клонов высокого риска: ST654, ST235 и ST111, а более 50% штаммов продуцировали VIM-подобную металло- β -лактамазу.

Показана динамика серотипового состава и профиля чувствительности к антибиотикам носоглоточных изолятов *S. pneumoniae*. Получены новые данные о молекулярных механизмах, определяющих рост резистентности *S. pneumoniae* и *S. pyogenes* к макролидам. Доказано увеличение распространенности ermB-механизма устойчивости, придающего бактериям MLSB-фенотип (перекрестную устойчивость к макролидам, линкозамидам и стрептограмину В).

Выявлены факторы, которые показывают, что рост резистентности пневмококков серотипа 14 к пенициллину и макролидам, связан с клональными перестановками в циркулирующей популяции этих бактерий.

Аннотированы 43 новых сиквенс-типа и 14 новых аллелей генов «домашнего хозяйства» в международных базах данных МЛСТ *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *S. pneumoniae*.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что выявленные особенности микробиоты и знания о распространенности устойчивых к антибиотикам госпитальных изолятов грамотрицательных бактерий в педиатрических стационарах позволяют уточнить спектр препаратов, используемых для эмпирической антимикробной терапии. Доказано, что полученные данные о генетических механизмах устойчивости к антибиотикам у ведущих госпитальных оппортунистических патогенов в

педиатрических стационарах вносят фундаментальный вклад в понимание природы резистентности грамотрицательных бактерий, а также обосновывают значимость использования молекулярных методов для ее детекции. Исследование популяционной структуры генотипов карбапенемрезистентных изолятов при помощи метода МЛСТ позволило установить их взаимосвязь с международными клонами высокого эпидемиологического риска, а также выявить эндемичные клоны.

Сведения о современном спектре серотипов *S. pneumoniae* свидетельствуют о его высоком охвате существующими ПКВ, что позволяет прогнозировать эффективность серотип специфической вакцинации. Полученные данные о разнообразии генотипов *S. pneumoniae* и его динамике раскрывают закономерности эволюции генетической структуры пневмококковой популяции и указывают на то, что одним из важных факторов этой эволюции является устойчивость к антибиотикам. Кроме того, приведены доказательства того, что доминирующий механизм резистентности *S. pneumoniae* и *S. pyogenes* к макролидам, а именно *ermB*-опосредованное метилирование мишени антибиотика, предопределяет перекрестную устойчивость ко всем макролидам, в том числе 16-членным, линкозамидам и стрептограмину В, что не позволяет рекомендовать указанные группы антибиотиков для эмпирической терапии инфекций в детской популяции. Автором изучен уровень активности амоксициллина в отношении *S. pneumoniae*. Сохраняющаяся высокая активность данного препарата, позволило подтвердить обоснованность его в качестве основы эмпирической терапии острых респираторных инфекций бактериальной этиологии в педиатрии.

Значение полученных соискателем результатов для практики подтверждается тем, что материалы диссертации внедрены в практику и в научно-исследовательскую работу лаборатории молекулярной генетики и клеточной биологии и лаборатории микробиологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, а также в материалы лекций по рациональной

антибактериальной терапии у детей, и используются в учебной программе на кафедре педиатрии в ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Результаты и практические рекомендации диссертационной работы могут быть использованы в специализированных лабораториях на уровне областных и федеральных учреждений практического здравоохранения для повышения эффективности определения чувствительности/резистентности микроорганизмов к антибиотикам. Целесообразно продолжение исследования микробиоты в педиатрических ОРИТ с использованием методов молекулярной эпидемиологии с целью клональной характеристики резистентной микробиоты. Продолжение исследований, направленных на оценку распространенности резистентности и ее мониторинг среди *A. baumannii*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*. Продолжение изучения роли генов карбапенемаз, способности к биопленкообразованию в развитии устойчивости *A. baumannii*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* к карбапенемам. Определена перспектива исследования альтернативных механизмов резистентности к различным классам антибиотиков, включая эффлюкс, нарушение функционирования пориновых каналов, модификацию пенициллинсвязывающих белков. Дальнейший анализ динамики серотипового состава *S. pneumoniae* под влиянием универсальной вакцинации пневмококковыми конъюгированными вакцинами. Представлена необходимость продолжение динамического изучения антибиотикоустойчивости актуальных респираторных патогенов и характеристика молекулярно-генетических особенностей резистентных штаммов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что идея диссертационного исследования базируется на анализе практики и обобщения передового опыта в данной области науки, а само исследование выполнено на высоком методическом уровне, в нем полно и содержательно раскрываются основные разделы, оно характеризуется большим количеством

объектов исследования и проспективным характером научных изысканий. В работе использованы современные микробиологические, молекулярно-генетические, масс-спектрометрические и спектрофотометрические методы. Все виды оборудования, применявшиеся в работе, проходили регулярную метрологическую поверку. Объем проведенных исследований позволил осуществить корректную статистическую обработку полученных данных.

Теория диссертации построена на известных, проверяемых фактах и согласуется с опубликованными данными по ее теме. Задачи работы поставлены адекватно, с применением современных методов статистического подсчета и анализом современной российской и зарубежной научной литературы (391 источник). В процессе исследования на всех этапах были использованы общенаучные методы (синтез, анализ, индукция, дедукция, обобщение, сравнение, логический метод и т.д.). Выводы и предложения логично вытекают из содержания диссертации, отражают решение поставленных задач, научно аргументированы и имеют научно-практическую значимость. Автореферат соответствует содержанию диссертации.

По материалам диссертации опубликовано 22 научные работы, в том числе 16 работ в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России.

Личный вклад автора

Автору принадлежит идея исследования и ее реализация на всех этапах: планирования, определения методологии, создания и постановки методик, сбора научного материала, анализа, статистической обработки и интерпретации полученных данных. Автором самостоятельно определены цель, задачи и разработан дизайн исследования. Соискатель лично осуществляла все этапы диссертационной работы и принимала непосредственное участие в получении исходных данных и апробации результатов. В публикациях, написанных в соавторстве, вклад автора является основным.

Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной проблемы и соответствует критериям внутреннего единства, с наличием плана исследования, непротиворечивой методологической платформы, основной идейной линии, концептуальности и взаимосвязи выводов.

Диссертация не содержит недостоверных сведений об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации и полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013г., № 842 (в редакции Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 № 335, от 01.10.2018г. № 1168), предъявляемым к докторским диссертациям.

На заседании 21 мая 2019 года диссертационный совет принял решение присудить Лазаревой Анне Валерьевне ученую степень доктора медицинских наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 9 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 28 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение ученой степени – 19, против присуждения ученой степени - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель
диссертационного совета

 Быков Анатолий Сергеевич

Ученый секретарь
диссертационного совета

 Калужин Олег Витальевич

«23» мая 2019 г.