

федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение
высшего образования
«Приволжский исследовательский
медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
(ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России)
Минина и Пожарского пл., 10/1,
г. Нижний Новгород, 603950, БОКС-470
тел.: (831) 439-09-43; факс: (831) 439-01-84
<http://pimunn.ru/>
e-mail: rector@pimunn.ru
ОКПО 01963025, ОГРН 1025203045482
ИНН/КПП 5260037940/526001001

«УТВЕРЖДАЮ»
первый проректор - проректор по научной
работе ФГБОУ ВО "Приволжский
исследовательский медицинский
университет" Минздрава России,
доктор медицинских наук

И. А.Клеменова
«22» апреля 2019 г.

№ _____
На № _____ от _____

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Приволжский исследовательский медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО "ПИМУ" Минздрава России) 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

Инфекции, вызванные оппортунистическими грамотрицательными бактериями, являются причиной летальности во всем мире. Подбор антибактериальных препаратов для лечения, инфекций, вызываемых *A. baumannii*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*, усложняется наличием у данных видов множественных механизмов резистентности. Карбапенемы до последнего времени, являлись одной из самой эффективных групп антибиотиков для лечения инфекций, вызванных данными бактериями. Однако, в настоящее время наблюдается рост штаммов *A. baumannii*, *K.*

pneumoniae и *P. aeruginosa*, обладающих множественной лекарственной устойчивостью. Изучение механизмов резистентности к антибиотикам, проблем распространения и эволюции резистентных форм микроорганизмов, являются актуальными вопросами современной микробиологии.

В структуре детской заболеваемости особое значение имеют респираторные инфекции, вызванные пневмококком и пиогенным стрептококком. Необоснованное назначение антибиотиков привело к увеличению резистентности к β -лактамам антибиотикам и макролидам.

После введения в России в 2014 году вакцинации против пневмококковых инфекций, произошло выведение из циркуляции бактерий вакцинных серотипов и снижение заболеваемости инвазивными пневмококковыми инфекциями.

Диссертационная работа Лазаревой А.В. посвящена актуальной проблеме исследованию механизмов устойчивости к антибиотикам и молекулярной эпидемиологии резистентных форм госпитальных грамотрицательных бактерий и респираторных патогенов. Актуальность данного исследования обусловлена не только вскрытием молекулярных механизмов устойчивости приоритетных микроорганизмов к антибиотикам, но и изучением генетической структуры бактериальных популяций, что способствует разработке мер по преодолению устойчивости к антибиотикам и выбору адекватной антибактериальной терапии.

Связь работы с научными программами и темами НИР

Диссертационная работа являлась фрагментом тем НИР «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России и рамках госзадания, номер государственной регистрации 115030240004.

Научная новизна исследования и полученных результатов

Путем анализа трахеального аспирата, автором впервые определена динамика колонизации слизистых оболочек респираторного тракта у детей, находящихся на искусственной вентиляции легких. Впервые показано, что грамотрицательная госпитальная микробиота быстро колонизирует поступающих в ОРИТ пациентов и отличается высокой резистентностью к основным антибактериальным препаратам, в

том числе карбапенемам. Впервые установлены доминантные клоны карбапенемрезистентных штаммов *A. baumannii*, включавшие распространенный по всему миру CC92^{Oxf}/CC2^{Pas} и CC944^{Oxf}/ST78^{Pas}, который может оказаться эндемичным не только для московского региона, но и для России в целом. Впервые исследован биопленочный рост карба-РА. *baumannii*. Было показано, что биопленочный потенциал выше у изолятов CC92^{Oxf} по сравнению с CC944^{Oxf} и другими клонами: высокой способностью к образованию биопленок обладало 95% исследованных представителей CC92^{Oxf}. Получены новые данные о распространенности β-лактамаз у карба-Р-изолятов *A. baumannii*. Установлено, что 82% изолятов являлись носителями карбапенемазы ОХА-72, а 15% изолятов – карбапенемазы ОХА-23. В популяции *A. baumannii* клона CC944^{Oxf} наряду с ОХА-23-позитивными изолятами показано наличие носителей ОХА-72. Выявлено, что все CC944^{Oxf}-изоляты *A. baumannii*, за исключением одного, обладали геном БЛРС *bla*_{CTX-M-115}.

Впервые проанализировано клональное разнообразие карба-Р изолятов *K. pneumoniae*. Установлено, что среди них доминировали два сиквенс-типа – ST395 и ST307, а основным механизмом устойчивости к карбапенемам была продукция карбапенемазы ОХА-48, которая в большинстве случаев сочеталась с наличием β-лактамазы расширенного спектра.

Дополнены данные о популяционной структуре карба-Р *P. aeruginosa*. Выявлено преобладание трех генотипов из числа международных клонов высокого риска: ST654, ST235, ST111. Более половины карба-Р *P. aeruginosa* продуцировали VIM-подобную МБЛ.

Впервые была описана динамика серотипового состава и профиля чувствительности к антибиотикам носоглоточных изолятов *S. pneumoniae*. Впервые в России была полностью расшифрована композиция серотипов серогруппы 6; было показано, что наряду с распространенными серотипами 6А и 6В в циркуляции присутствовали серотипы 6С и 6D, не входящие в состав ПКВ13.

Получены новые сведения о молекулярных механизмах, определяющих рост резистентности *S. pneumoniae* и *S. pyogenes* к макролидам. Показано увеличение распространенности *ermB*-механизма устойчивости, придающего бактериям MLS_B.

фенотип, т.е. перекрестную устойчивость к макролидам, линкозамидам и стрептограмину В. Впервые получены данные о составе и эволюции клонального спектра изолятов *S. pneumoniae* серотипов 14 и 19А. Установлена связь между ростом резистентности пневмококков серотипа 14 к пенициллину и макролидам с клональными перестановками в циркулирующей популяции этих бактерий.

В международных базах данных МЛСТ *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *S. pneumoniae* аннотированы 43 новых сиквенса-типа и 14 новые аллели генов «домашнего хозяйства».

Результаты сопоставления с работами других исследователей, дают основание считать, что полученные автором данные являются новыми и достоверными. Выполненное исследование соответствует специальности 03.02.03 – микробиология.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Автором выявлены особенности микробиоты детей, находящихся на ИВЛ, получены важные сведения о распространенности устойчивых к антибиотикам госпитальных изолятов грамотрицательных бактерий в педиатрических стационарах, что позволяет уточнить спектр препаратов, используемых для эмпирической антимикробной терапии, с целью повышения ее эффективности. Данные о динамике колонизации обосновывают внедрение мер инфекционного контроля при госпитализации пациентов в ОРИТ. 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 карба-Р изолятов основных возбудителей ИСМП при помощи метода МЛСТ позволило установить их взаимосвязь с международными клонами высокого эпидемического риска, а также выявить эндемичные клоны.

Особый интерес представляют сведения о современном спектре серотипов *S. pneumoniae*, свидетельствующие о его высоком охвате существующими ПКВ, что позволяет прогнозировать эффективность серотипспецифической

вакцинации. Полученные данные о разнообразии генотипов *S. pneumoniae* и его динамике вскрывают закономерности эволюции генетической структуры пневмококковой популяции и указывают на то, что одним из важных факторов этой эволюции является устойчивость к антибиотикам. Особенно значимыми для практической деятельности представляются обоснованные данные о нарастании устойчивости *S. pneumoniae* к пенициллину и макролидам, что обосновывает необходимость динамического наблюдения за их популяцией. Несомненно, внимания заслуживает выявленный доминирующий механизм резистентности респираторных стрептококков к макролидам, а именно *ermB*-опосредованное метилирование мишени антибиотика, которая 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. Сохранение на высоком уровне активности амоксициллина в отношении *S. pneumoniae* подтверждает обоснованность выбора данного препарата и его модификаций в качестве основы эмпирической терапии острых респираторных инфекций бактериальной этиологии в педиатрии.

По результатам исследования в международные базы данных внесены сведения о новых вариантах генотипов бактерий *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *S. pneumoniae*, которые будут способствовать осуществлению мониторинга за циркуляцией актуальных бактериальных возбудителей.

Результаты исследований и разработок внедрены 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).

Личный вклад автора

Личный вклад автора заключался в формировании темы и плана диссертационной работы, ее основных положений, цели, а также задач. Содержание работы разработано лично автором на основании целенаправленных исследований

Автор принимал непосредственное участие в проведении микробиологической части исследования (культуральный посев, идентификация микроорганизмов, определение резистентности к антибиотикам диско-диффузионным методом и методом Е-тестов, определение минимальных подавляющих концентраций меропенема и имипенема, фенотипические методы определения МБЛ у грамотрицательных бактерий и MLS_S-фенотип у стрептококков) в лаборатории микробиологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России.

Молекулярно-генетическая часть исследования (выделение ДНК, постановка ПЦР, учет и интерпретация результатов ПЦР) осуществлялось автором совместно с сотрудниками лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России. Секвенирование культур проводилось совместно в лаборатории молекулярной генетики и клеточной биологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России. Выявление генов карбапенемаз проводилось совместно с сотрудниками лаборатории молекулярной микробиологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России.

Автор лично участвовал в подготовке публикаций по материалам работы.

Рекомендации по использованию результатов и выводов, приведенных в диссертации

Результаты диссертационного исследования следует использовать в работе научных и клинико-диагностических и микробиологических лабораториях, а также в качестве учебного материала в ВУЗах в курсе микробиологии. Результаты исследований в качестве диагностических технологий внедрены в практическую работу подразделений ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, «НИИ неотложной детской хирургии и травматологии» Департамента здравоохранения города Москвы, ГБУЗ «Городская клиническая больница № 15 им. О.М. Филатова» Департамента здравоохранения города Москвы.

Внедрение полученных автором результатов поможет оптимизировать назначение антибактериальных препаратов и приведет к снижению необоснованного применения антибиотиков.

Публикации

Основные результаты диссертации нашли свое отражение в 22 печатных работах, из них в журналах из перечня рецензируемых научных изданий ВАК 16 работ; в журналах, реферируемых РИНЦ - 15 и базой данных Scopus и/или WebofScience 14 работ. Результаты диссертации доложены и обсуждены на многочисленных конгрессах, в том числе международных.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа Лазаревой Анны Валерьевны изложена на 233 страницах машинописного текста и состоит из введения, основной части (обзора литературы, описания материалов и методов исследований и 5 глав, отражающих результаты собственных исследований), заключения, выводов, практических рекомендаций, описания перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений, списка литературы. Работа иллюстрирована 40 таблицами и 12 рисунками. Список литературы включает 391 источник литературы, в том числе 91 ссылка на отечественных авторов и 300 на зарубежных авторов.

Достоверность полученных результатов подтверждается достаточным объемом проведенного исследования и качественной обработкой материала. Работа написана профессиональным языком, с использованием принятой терминологии. Автореферат соответствует содержанию диссертации.

Содержание диссертационной работы Лазаревой Анны Валерьевны представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук, полностью соответствует специальности 03.02.03 – микробиология.

Замечания

В работе встречаются отдельные стилистические погрешности, которые не носят принципиального характера и не оказывают значимого влияние на общее положительное впечатление от диссертационного исследования.

Заключение

Диссертационная работа Лазаревой Анны Валерьевны является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена важная научная проблема в области клинической

