

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук Багировой Наталии Сергеевны на диссертационную работу Шаминой Ольги Вячеславовны на тему: **«Молекулярная характеристика и механизмы устойчивости к колистину карбапенемрезистентных *Klebsiella pneumoniae*»** на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Актуальность темы исследования

Klebsiella pneumoniae является актуальным госпитальным патогеном, часто ассоциированным с внутрибольничными инфекциями. Широкое распространение нозокомиальных инфекций, вызываемых *K. pneumoniae* с приобретенной резистентностью к почти всем доступным антибиотикам, серьезно осложняет выбор адекватной терапии. Устойчивость к карбапенемам в большинстве случаев сочетается с резистентностью к другим антимикробным препаратам. Одним из препаратов, сохраняющих активность в отношении карбапенем-резистентных грамотрицательных бактерий, является поликатионный антибиотик колистин. Несмотря на многостороннее изучение *K. pneumoniae* мировым научным сообществом, в России данные по молекулярной эпидемиологии резистентности *K. pneumoniae* к колистину ограничены. Кроме того, в отечественной литературе недостаточно сведений о влиянии различных молекулярных механизмов резистентности к колистину на кинетику роста и конкурентоспособность *K. pneumoniae*. В связи с этим оценка резистентности к антибактериальным препаратам у генетических линий клебсиелл, выделяемых в госпитальной среде Российской Федерации, является актуальной задачей, как с точки зрения фундаментальной микробиологии, так и с точки зрения практических задач здравоохранения, и диссертационная работа Шаминой О.В., посвященная микробиологической и молекулярно-генетической характеристике штаммов карбапенем-резистентных *K. pneumoniae*, а также

механизмам устойчивости к колистину, представляется весьма актуальной и своевременной.

Научная новизна

Диссертационная работа Шаминой О.В. содержит анализ молекулярно-генетической характеристики карбапенемрезистентных изолятов *K. pneumoniae*, что позволило получить новые данные:

- выявлены доминантные генетические линии карбапенем-резистентных *K. pneumoniae*, включающие широко распространенные ST307, ST395, ST377, ST48 и ST23;
- определен основной механизм резистентности к колистину: повреждение гена *mgrB* различными вставочными элементами
- впервые в составе гена *mgrB* был обнаружен и описан новый миниатюрный мобильный элемент с инвертированными повторами MTEKpn1;
- установлено, что колистин-резистентные изоляты *K. pneumoniae* обладают сниженным бактериальным фитнесом в сравнении с чувствительными к колистину штаммами.

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

Достоверность результатов диссертационной работы Шаминой О.В. не вызывает сомнений и обеспечивается проведением исследовательских работ современными методами в соответствии с международными рекомендациями. Автором были решены поставленные задачи, что отражено в обоснованных выводах исследования. Полученные результаты согласуются с современной научной литературой в данной области, что свидетельствует о достоверности полученных результатов.

Структура и содержание диссертации

Автор качественно оформил и проиллюстрировал свою диссертацию и автореферат с учетом современных требований. Диссертация построена по

классическому принципу и содержит все необходимые разделы: введение, обзор литературы, методы исследования, три главы с описанием результатов собственных исследований и их обсуждения, заключение, выводы, практические рекомендации, описание перспектив дальнейшей разработки темы, список сокращений и условных обозначений, список литературы, одно приложение. Диссертация изложена на 119 страницах, содержит 20 таблиц и 12 рисунков. Список литературы включает 159 источников, из них 19 работ отечественных авторов и 140 зарубежных авторов.

Во **Введении** обоснована актуальность и степень разработанности темы, четко сформулирована цель и определены задачи работы. Автором указана научная новизна и практическая значимость результатов исследования, сформулированы основные положения, выносимые на защиту.

Содержание главы **«Обзор литературы»** отражает глубокое знание автором проблемы в целом и в то же время позволяет установить те аспекты рассматриваемой проблемы, которые изучены недостаточно. Именно такое всестороннее понимание вопроса дало возможность автору четко сформулировать цель и задачи исследования. В обзоре литературы представлены современные данные о молекулярной эпидемиологии *K. pneumoniae*, проанализированы основные механизмы формирования резистентности к карбапенемным антибиотикам и к колистину, обоснована заинтересованность автора в исследовании бактериального фитнеса. Список проанализированных литературных источников подтверждает сложившееся в процессе ознакомления с диссертацией мнение о том, что О.В. Шамина имела хорошую теоретическую базу для планирования и проведения своей научной работы.

В главе 2 **«Материалы и методы»** подробно изложены методы, которые были использованы при выполнении исследований. Все разделы содержат достаточную информацию о материалах и методах, используемых при проведении исследования.

Результаты собственных исследований представлены тремя главами.

В Главе 3 описаны основные генетические линии карбапенем-резистентных *K. pneumoniae*, механизмы устойчивости к β -лактамным антибиотикам. В информации по временному периоду, за который была собрана коллекция штаммов для исследования и по биоматериалам, из которых были выделены данные штаммы, допущена ошибка: моча отнесена в разряд «стерильные локусы» наравне с такими биоматериалами, как кровь, спинномозговая жидкость, тогда как моча не является стерильным в норме биоматериалом. Эта неточность для данной работы не является существенной, поскольку не влияет на результаты работы.

В Главе 4 подробно изложены механизмы резистентности к колистину, а именно: хромосомные мутации в генах, кодирующих структуру липополисахарида клеточной стенки бактерии. Дана подробная характеристика впервые обнаруженного и описанного автором миниатюрного вставочного элемента с инвертированными повторами *MITEKpn1*. Показана возможность его встраивания в разные участки хромосомы.

В Главе 5 автор проводит детальный анализ исследования уровня приспособленности к жизнедеятельности (бактериальный фитнес) колистин-резистентных *K. pneumoniae*. В парных экспериментах продемонстрировано снижение бактериального фитнеса колистин-резистентных штаммов относительно колистин-чувствительных изолятов аналогичных сиквенс-типов. Было выявлено отсутствие влияния колистин-резистентности на кинетику роста.

В изложении **Заключения** по диссертации Ольга Вячеславовна Шамина продемонстрировала способность к вдумчивому и глубокому сравнительному анализу собственных результатов исследования и данных литературных источников.

Структура и логика изложения материалов диссертации выглядят достаточно обоснованными в контексте раскрытия поставленной цели и задач исследования. Цели и задачи исследования, сформулированные автором, были вполне достигнуты. Работа написана логично, доказательно, ясным и строгим

научным языком. Стиль и оформление работы не вызывают существенных замечаний.

Диссертация представляет определенный интерес не только для научного сообщества, но и для врачей-микробиологов, и для специалистов эпидемиологической службы. Необходимо отметить, что 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. В настоящее время большое внимание уделяется возможностям более тесного взаимодействия лаборатории с клиницистами. В связи с этим хотелось бы получить от автора конкретные разъяснения: в чем состоит практическая значимость данной диссертации для повседневной работы врачей клинической практики?

В разделе **«ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ»** обозначено 4 направления, но формулировка носит обобщенный характер. Например, п. 2 – «Продолжение исследований, направленных на выявление детерминант устойчивости к карбапенемам изолятов *K. pneumoniae*» – тема активно разрабатывается и в нашей стране, и за рубежом. Было бы интересно узнать, в каком конкретно направлении автор планирует продолжить исследования? То же касается и пп. 3 и 4.

Заключение

Диссертация Шаминой Ольги Вячеславовны «Молекулярная характеристика и механизмы устойчивости к колистину карбапенем-резистентных *Klebsiella pneumoniae*», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология, является научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение важной научной задачи по разработке методов лабораторной диагностики молекулярно-эпидемиологической характеристики и выявлению механизмов

устойчивости к колистину карбапенем- резистентных *K. pneumoniae*, что полностью соответствует требованиям п. 16 «Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденным приказом Сеченовского университета от 31.01.2020 г. №0094/Р, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а автор диссертационной работы, О.В. Шамина, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – «микробиология».

Официальный оппонент:

старший научный сотрудник микробиологической лаборатории ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук (шифр специальности 14.01.12 – «онкология», 03.02.03 – «микробиология»)

Подпись _____ /Багирова Наталия Сергеевна/

Подпись д.м.н., с.н.с. Багировой Н.С. заверяю
Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России
кандидат медицинских наук И.Ю. Кубасова

Подпись _____



Москва, Каширское шоссе 24, тел. +7(499) 324-14-19

11.12.2020