

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГАУ «Национальный
медицинский исследовательский центр
здоровья детей» Минздрава России
доктор медицинских наук, профессор



 А.П. Фисенко

«15» июля 2024 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России

на основании решения заседания Проблемной комиссии по Педиатрии совместно с сотрудниками лабораторного отдела Федерального Государственного Автономного Учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация **«Характеристика граммотрицательных бактерий, выделенных из крови и ликвора у детей»** на соискание ученой степени кандидата медицинских наук выполнена на базе лаборатории молекулярной микробиологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России.

Садеева Зульфияр Закиевна, 1995 года рождения, гражданство РФ, окончила ФГБОУ ВО «Тульский государственный университет» в 2018 году по специальности «31.05.01 Лечебное дело».

Справка о сдаче кандидатских экзаменов № 20/71-23 от 05 июля 2023 года выдана в ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

С 2020 года по настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника лаборатории молекулярной микробиологии Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России.

Научный руководитель:

Лазарева Анна Валерьевна, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии, заведующая лабораторией микробиологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России.

Текст диссертации был проверен в системе «Антиплагиат» и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

По итогам обсуждения диссертационного исследования «Характеристика грамотрицательных бактерий, выделенных из крови и ликвора у детей», представленного на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. Микробиология, принято следующее заключение:

- **Оценка выполненной соискателем работы**

Диссертация представляет собой законченное, самостоятельное исследование указанной темы.

- **Актуальность темы диссертационного исследования**

Инфекции кровотока и центральной нервной системы, вызванные множественно-резистентными грамотрицательными микроорганизмами, имеют большое значение в педиатрических стационарах. Особенно острой эта проблема является для отделений реанимации и интенсивной терапии. Приобретение отдельными патогенами множественных механизмов устойчивости к антибиотикам различных классов вызывает особую настороженность, поскольку существенно ограничивает или в некоторых случаях полностью исключает эффективные варианты лечения. Это приводит, прежде всего, к высокому уровню летальности при данных состояниях, а также к затруднениям в назначении своевременного и подходящего лечения. Патогены, выделенные из образцов крови и ликвора, имеют множество дополнительных факторов вирулентности, благодаря которым реализуется их способность к адгезии, инвазии, персистенции, формированию биопленок и токсинообразованию. Среди бактериальных причин инфекции кровотока и ЦНС стоит отметить представителей порядка *Enterobacteriales* и неферментирующие грамотрицательные бактерии, таких как *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*. Всемирной организацией здравоохранения в 2017 году эти патогены были отнесены к наиболее критическим из всех микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью, представляющих особую угрозу в лечебных учреждениях.

- **Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации**

Автору принадлежит значительная роль в получении результатов, изложенных в диссертации, проведении микробиологической и молекулярно-генетической частей исследования, обобщении данных литературы, обработке полученных результатов и написании публикаций.

- **Степень достоверности результатов проведенных исследований**

Результаты проведенных исследований были получены с использованием современных методов исследования, в соответствии с международными рекомендациями, характеризующихся высокой чувствительностью,

специфичностью и объективностью. В работе использовались микробиологические, молекулярно-генетические, спектрофотометрические и масс-спектрометрические методы. Всё оборудование, на котором проводились исследования, проходило регулярную метрологическую поверку.

- **Научная новизна результатов проведенных исследований**

Получены новые данные о популяционной структуре *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *S. marcescens*, выделенных из проб крови и ликвора у детей. Показано преобладание сиквенс-типов ST (Sequence Type) высокого эпидемического риска: ST1104, ST450 у *A. baumannii*, ST307, ST395, ST48 у *K. pneumoniae*, ST654 и ST235 у *P. aeruginosa*. Впервые был успешно применен метод мультилокусного сиквенсового анализа для изучения генотипического состава *S. marcescens*, выделенной из биоматериала пациентов педиатрического профиля. Были описаны и внесены в международную базу данных <http://pubmlst.org> ранее не встречавшиеся сиквенс-типы *A. baumannii* – ST2419^{Oxf} и *P. aeruginosa* – ST3819, ST3821, ST3822, ST3823, ST3824, ST3825 и ST3826. Дополнены данные о механизме устойчивости к карбапенемам: основными детерминантами устойчивости *A. baumannii* являются карбапенемазы OXA-40 (41%), *K. pneumoniae* – OXA-48 (33%), *P. aeruginosa* – VIM (56%), *S. marcescens* – комбинация OXA-48 и NDM – 16%. Дополнены данные о биопленкообразовании у изолятов, выделенных из проб крови и ликвора. Было показано, что у изолятов *K. pneumoniae* и *S. marcescens* чаще всего определялась умеренная способность к образованию биопленок – 61% и 68%, соответственно. Для изолятов *P. aeruginosa* была наиболее характерна способность к формированию биопленок высокой интенсивности (48%). Изоляты *A. baumannii* чаще образовывали биопленки слабой интенсивности – 59%. Получены новые данные о вирулентных свойствах *A. baumannii*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*. Анализ полных геномов позволил определить дополнительные детерминанты устойчивости к АМП и вирулентности у изолятов *K. pneumoniae*, выделенных из проб крови и ликвора. Изучение механизмов устойчивости к полимиксинам у изолятов *K. pneumoniae* из крови и ликвора показало, что характерными являются изменения в гене *PhoP_26Q*.

Впервые были получены данные о молекулярно-генетических характеристиках *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *S. marcescens* при неблагоприятных исходах бактериемии и инфекции ЦНС. Было выявлено, что при данных инфекциях уровень смертности составляет от 5 до 25% случаев. При этом этиологические агенты инфекции кровотока/ЦНС относятся к категории лекарственно устойчивых, обладают множеством генетических детерминант резистентности и вирулентности.

- **Практическая значимость проведенных исследований**

Полученные результаты позволили определить генетические механизмы устойчивости к β -лактамам у основных грамотрицательных возбудителей инфекции кровотока/ЦНС у детей. Данные об эпидемиологической структуре основных грамотрицательных патогенов, выделенных из проб крови и ликвора

позволяют сформировать представления о популяционном разнообразии, распространенности международных клонов высокого эпидемического риска и определить наличие генотип-ассоциированных механизмов резистентности и вирулентности. Полученные данные о генетических конформациях, приводящих к устойчивости к колистину, позволяют совершенствовать знания о механизмах колистинрезистентности в популяции *K. pneumoniae*. Проведенный полногеномный анализ наиболее резистентных изолятов *K. pneumoniae*, выделенных из проб крови и ликвора, характеризует генетические детерминанты резистентности к широкому спектру АМП, типичные факторы вирулентности и клональную принадлежность. В базе данных GenBank размещены полные геномы семи штаммов *K. pneumoniae*. Сформирована коллекция штаммов и ДНК *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *S. marcescens*, выделенных из проб крови и ликвора, которая может быть использована в дальнейших исследованиях для изучения эволюционных изменений данных грамотрицательных патогенов. Создана электронная база данных, содержащая сведения о резистентности к АМП, носительстве β -лактамаз, сиквенстипе, наличии плазмид резистентности.

- **Ценность научных работ соискателя ученой степени**

Данные о генетических механизмах устойчивости к β -лактамам у основных грамотрицательных возбудителей инфекции кровотока/ЦНС будут востребованы для оптимального подбора АМП и преодоления антибиотикорезистентности. Данные о вирулентных свойствах и способности к формированию биопленок позволят рассматривать их, как альтернативные мишени, для поиска методов преодоления устойчивости к антибиотикам и борьбы с внутрибольничными патогенами. Проведенный полногеномный анализ наиболее резистентных изолятов *K. pneumoniae*, выделенных из проб крови и ликвора, характеризует генетические детерминанты резистентности к широкому спектру АМП, типичные факторы вирулентности и клональную принадлежность. Сформированная коллекция штаммов и ДНК, выделенных из проб крови и ликвора, может быть использована при изучении эволюционных изменений грамотрицательных патогенов.

- **Внедрение результатов диссертационного исследования в практику**

Результаты исследования внедрены в учебный процесс кафедры педиатрии и общественного здоровья Института подготовки медицинских кадров ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России. Полученные результаты внедрены в лечебный процесс ГБУ здравоохранения города Москвы «Научно-исследовательский институт неотложной детской хирургии и травматологии».

- **Этическая экспертиза научного исследования в Локальном этическом комитете (по медицинским и фармацевтическим наукам)**

Проводимое исследование в рамках диссертационной работы «Характеристика грамотрицательных бактерий, выделенных из крови и ликвора

у детей» обосновано и одобрено Локальным независимым этическим комитетом при ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России от 02.06.2022. Данное исследование не является нарушением прав человека и здоровья субъектов, участвующих в исследовании, и может проводиться на территории Российской Федерации.

- **Научная специальность, которой соответствует диссертация**

1.5.11. Микробиология

- **Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем**

По результатам исследования автором опубликована 21 работа, в том числе 4 научных статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, в том числе, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, PubMed, MathSciNet, zbMATH, Chemical Abstracts, Springer), 2 иные публикации по результатам исследования, 15 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 2 зарубежных конференций).

Оригинальные научные статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Университета/ВАК при Минобрнауки России, в том числе, включенных в международные, индексируемые базы данных Web of Science, Scopus, PubMed, MathSciNet, zbMATH, Chemical Abstracts, Springer:

- 1) Характеристика *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных из положительных проб гемокультур и ликвора у детей / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева, О.В. Карасева, А.П. Фисенко // **Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии**. – 2022. – Т. 99, № 3. – С. 309-321. [Scopus].
- 2) *Acinetobacter baumannii* при инфекциях кровотока и центральной нервной системы у детей в отделениях реанимации и интенсивной терапии: молекулярно-генетическая характеристика и клиническая значимость / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева, Т.М. Комягина, О.В. Карасева, М.Г. Вершинина, А.П. Фисенко // **Инфекция и иммунитет**. – 2023. – Т. 13, № 2. – С. 289-301. [Web of Science, Scopus].
- 3) Бактериемии и инфекции ЦНС у детей, ассоциированные с *Klebsiella pneumoniae*: молекулярно-генетическая характеристика и клинические особенности / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, А.В. Лазарева, Н.М. Алябьева, О.В. Карасева, О.Г. Янющкина, М.Г. Вершинина, А.П. Фисенко //

Инфекция и иммунитет. – 2023. – Т. 13, № 6. – С. 1117-1128. [Web of Science, Scopus].

- 4) Геномные особенности резистентных изолятов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из кровяного русла и ликвора пациентов детского стационара / О.Л. Воронина, М.С. Кунда, Н.Н. Рыжова, Е.И. Аксенова, З.З. Садеева, И.Е. Новикова, А.В. Лазарева, О.В. Карасева, А.П. Фисенко, А.Л. Гинцбург // **Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.** – 2023. – Т. 100, № 6. – С. 399-409. [Scopus].

Иные публикации по теме диссертационного исследования:

- 1) Характеристика и свойства *Serratia marcescens*, выделенной при бактериемии у детей / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева, Е.А. Самойлова, О.В. Карасева, О.Г. Янушкина, М.Г. Вершинина, А.П. Фисенко // **Российский педиатрический журнал.** – 2023. – Т. 26, № 2. – С. 118-124.
- 2) *Serratia marcescens*: микробиологическая характеристика, резистентные свойства, вирулентность и клиническая значимость / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева // **Российский педиатрический журнал.** – 2023. – Т. 26, № 3. – С. 222-226.

Материалы конференций по теме диссертационного исследования:

- 1) Молекулярно-генетическая характеристика вирулентных свойств штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из крови и ликвора у детей / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, О.В. Карасева, М.С. Мелков, А.В. Лазарева // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2021. – Т. 23. № S1. – С. 37.
- 2) Клинико-микробиологическая характеристика бактериемии у детей, вызванной *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii* / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Т.М. Комягина, Н.М. Алябьева, Р.А. Шакирзянова, А.В. Лазарева, М.Г. Вершинина // **Российский педиатрический журнал.** – 2021. – Т. 24. № S. – С. 54.
- 3) Эпидемиология и молекулярно-генетическая характеристика *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*, выделенных из крови и ликвора у детей / З.З. Садеева, Т.М. Комягина, Н.М. Алябьева, И.Е. Новикова, Р.А. Шакирзянова, А.В. Лазарева, М.Г. Вершинина // 3-й Российский микробиологический конгресс (2021). Материалы конгресса. – Псков, 2021. – С.115-116.
- 4) Характеристика карбапенемаз грамотрицательных микроорганизмов, выделенных из крови и ликвора у детей в ОРИТ / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, А.С. Тряпочкина, Р.А. Шакирзянова, Н.М. Алябьева, А.В.

- Лазарева, М.Г. Вершинина // Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП-2021). Сборник тезисов IX конгресса с международным участием. – Москва, 2021. – С. 96.
- 5) Characteristics of antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from blood and cerebrospinal fluid of children / Z. Sadeeva, I. Novikova, N. Alyabyeva, A. Lazareva // Materials of 31st European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. – 2021.
- 6) Образование биопленок, фенотипическая и генотипическая характеристика *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*, выделенных из крови и ликвора у детей в отделениях реанимации / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2022. – Т. 24. № S1. – С. 32-33.
- 7) *Pseudomonas aeruginosa*: колонизация и оценка клинических исходов при bacteriemia / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, А.С. Тряпочкина, Н.М. Алябьева // Российский педиатрический журнал. – 2022. – Т. 25. № 6. – С. 432.
- 8) Чувствительность *Acinetobacter baumannii* к антимикробным препаратам в планктонной форме и в составе биоплёнок / З.З. Садеева, Н.М. Алябьева, И.Е. Новикова, А.С. Тряпочкина, А.В. Лазарева // Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП-2022). Сборник тезисов X Конгресса с международным участием. Под редакцией В.Г. Акимкина. – Москва, 2022. – С. 93-94.
- 9) Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Serratia marcescens*, выделенных из крови и ликвора у детей в отделениях реанимации / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева, М.Г. Вершинина // Материалы научно-практических конференций в рамках VIII Российского конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2022). Сборник тезисов. – Москва, 2022. – С. 77-78.
- 10) Распространённость генов резистентности у штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из крови и ликвора у детей / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева // Молекулярная диагностика и биобезопасность-2022. Сборник материалов конгресса с международным участием. – Москва, 2022. – С. 181.
- 11) Molecular genetic characteristics of *K. pneumoniae* strains isolated from different sites of the same patients in the intensive care unit / I. Novikova, N. Alyabieva, Z. Sadeeva, A. Lazareva // Materials of 32nd European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases April 23-26 2022. Lisbon, Portugal.
- 12) Факторы вирулентности и устойчивость к антибиотикам *Pseudomonas aeruginosa*, выделенной из крови и ликвора у детей в отделениях реанимации / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Е.А. Самойлова, Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева

// Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2023. – Т. 25. № S1. – С. 50.

- 13) Характеристика *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из крови и ликвора у детей / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Е.А. Самойлова, Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева // 4-й Российский микробиологический конгресс. 24-29 сентября 2023. – Томск, 2023. – С. 210.
- 14) *K. pneumoniae* при bacteriemia и инфекции ЦНС: колонизация и оценка клинических исходов / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева, М.Г. Вершинина // Материалы научно-практических конференций в рамках IX Российского конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2023). Сборник тезисов. – Москва, 2023. – С. 93-94.
- 15) *Klebsiella pneumoniae* из крови и ликвора у детей: молекулярно-генетическая характеристика резистентности, вирулентности и генотипического состава штаммов / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Н.М. Алябьева, О.А. Крыжановская, А.В. Лазарева, М.Г. Вершинина // Научные лабораторные технологии для клинической медицины. Материалы XXVIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Под редакцией В. В. Долгова. – Москва, 2023. – С. 165-166.

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на научных конференциях:

- 1) XXIII международный конгресс МАКМАХ по антимикробной терапии и клинической микробиологии (Россия, Москва, 2021);
- 2) Научно-практическая конференция студентов и молодых учёных «Студеникинские чтения-2021» (Россия, Москва, 2021);
- 3) 3-й Российский микробиологический конгресс (Россия, Псков, 2021);
- 4) IX Конгресс с международным участием «Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП-2021)» (Россия, Москва, 2021);
- 5) 31st European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases (Online, 2021);
- 6) XXIV международный конгресс МАКМАХ по антимикробной терапии и клинической микробиологии (Россия, Москва, 2022);
- 7) Научно-практическая конференция студентов и молодых учёных «Студеникинские чтения-2022» (Россия, Москва, 2022);
- 8) X Конгресс с международным участием «Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП-2022)» (Россия, Москва, 2022);

- 9) VIII Российский конгресс лабораторной медицины (РКЛМ 2022) (Россия, Москва, 2022);
- 10) Конгресс с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность - 2022» (Россия, Москва, 2022);
- 11) 32nd European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases (Lisbon, Portugal, 2022);
- 12) XXV международный конгресс МАКМАХ по антимикробной терапии и клинической микробиологии (Россия, Москва, 2023);
- 13) 4-й Российский микробиологический конгресс (Россия, Томск, 2023);
- 14) IX Российский конгресс лабораторной медицины (РКЛМ 2023) (Россия, Москва, 2023);
- 15) XXVIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Наукоёмкие лабораторные технологии для клинической практики» (Россия, Москва, 2023).

Заключение

Диссертация соответствует требованиям п. 21 Положения о присуждении ученых степеней в ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом от 06.06.2022 г. № 0692/Р, и не содержит заимствованного материала без ссылки на автора(ов).

Первичная документация проверена и соответствует материалам, включенным в диссертацию.

Диссертационная работа Садеевой Зульфиры Закиевны «Характеристика грамотрицательных бактерий, выделенных из крови и ликвора у детей» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11 – Микробиология.

Заключение принято на заседании Проблемной комиссии по Педиатрии совместно с сотрудниками лабораторного отдела Федерального Государственного Автономного Учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Присутствовало на заседании 20 чел.

Результаты голосования: «за» – 20 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось» – 0 чел., протокол № 74 от «4» июня 2024 г.

Председатель проблемной комиссии
профессор, д.м.н.


Таточенко В. К.