

ОТЗЫВ

**официального оппонента, кандидата медицинских наук,
заведующей лабораторией микробиологии и антибактериальной
терапии федерального государственного автономного учреждения
«Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии
имени академика Н.Н. Бурденко»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
Сухоруковой Марины Витальевны
на диссертацию Садеевой Зульфиры Закиевны
«Характеристика грамотрицательных бактерий, выделенных из крови и
ликвора у детей»
на соискание учёной степени кандидата медицинских наук
по специальности 1.5.11. Микробиология**

Актуальность выбранной темы

Инфекции кровотока и центральной нервной системы (ЦНС), вызванные грамотрицательными бактериями, характеризуются тяжелым течением и высокой смертностью и представляют собой серьезную медицинскую и социальную проблему, оказывающую большое влияние на систему здравоохранения.

Ранняя адекватная антибактериальная терапия является необходимым условием повышения эффективности лечения данной категории пациентов. Для снижения рисков затяжного течения инфекции и вероятности летального исхода при назначении эмпирической терапии должны учитываться результаты эпидемиологического наблюдения за структурой и антибиотикорезистентностью возбудителей инвазивных инфекций и колонизирующих микроорганизмов.

Нозокомиальные инфекции кровотока и ЦНС часто вызваны штаммами с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). Это может быть причиной снижения эффективности лечения данных состояний. При лечении

инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, особое положение занимают штаммы с приобретенной устойчивостью к β -лактамам, в том числе к карбапенемам. Особое значение в осуществлении контроля устойчивости к карбапенемам приобретает проведение мониторинга распространенности продуцентов карбапенемаз среди грамотрицательных микроорганизмов с последующим учетом этих данных при назначении антибактериальной терапии.

Ведущая роль в развитии инвазивных инфекций среди грамотрицательных бактерий принадлежит представителям видов *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*. Эффективность данных возбудителей в формировании инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, связана не только с лекарственной устойчивостью, но и с наличием широкого разнообразия факторов вирулентности у данных микроорганизмов, что способствует их выживанию и активному распространению как в условиях окружающей среды, так и в организме хозяина. Изучение факторов, обуславливающих возникновение и особенности течения инвазивных инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями, является необходимым условием поиска новых направлений в лечении и профилактики данных состояний.

Исходя из вышеизложенного, диссертационное исследование Садеевой Зульфири Закиевны, направленное на изучение популяционной структуры и молекулярно-генетических маркеров антибиотикорезистентности и вирулентности у грамотрицательных бактерий, выделенных из образцов крови и ликвора у детей, является актуальным и своевременным.

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

Диссертационное исследование Садеевой Зульфири Закиевны представляет собой законченное комплексное научное исследование, выполненное на высоком научном и методологическом уровне. В работе использованы современные методы исследования. Сформулированные цель и

задачи, разработанный дизайн исследования основаны на результатах анализа большого числа отечественных и зарубежных литературных источников. Полученные результаты наглядно представлены в таблицах и рисунках. Научные выводы соответствуют поставленным цели и задачам, базируются на достаточном объеме фактических результатов исследования, что подтверждает обоснованность научных положений, выводов и практических рекомендаций.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

Научная новизна исследования, а также цели и задачи работы подробно и убедительно обоснованы автором во введении диссертации. Достоверность научных положений и выводов основана на использовании методов, соответствующих поставленным задачам.

Научная новизна диссертационного исследования заключается в том, что автором:

- получены новые данные о популяционной структуре *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *S. marcescens*, выделенных из образцов крови и ликвора у детей: определено преобладание изолятов с генотипами высокого эпидемического риска, такие как ST1104^{Oxf}, ST450^{Oxf} у *A. baumannii*, ST307, ST395 у *K. pneumoniae*, ST654 и ST235 у *P. aeruginosa*;
- успешно применен метод сиквенсового анализа для изучения генотипического состава изолятов *S. marcescens*, выделенных образцов биологического материала пациентов;
- дополнены сведения о генетических детерминантах устойчивости *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *S. marcescens* к карбапенемным антибиотикам;
- получены новые данные об интенсивности формирования биопленок на абиотической поверхности грамотрицательными бактериями, выделенными из образцов крови и ликвора: значительная часть изолятов *K. pneumoniae* и *S. marcescens* формировала биопленки умеренной плотности, изоляты *A. baumannii* чаще образовывали биопленки слабой интенсивности, у

штаммов *P. aeruginosa* наиболее часто определялись биопленки высокой плотности;

- были получены новые данные о вирулентных свойствах *A. baumannii*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*;

- было выявлено, что устойчивость к полимиксинам у изолятов *K. pneumoniae* из крови и ликвора определялась наличием изменений в гене *PhoP_26Q*;

- проведена оценка исходов бактериемии и инфекции ЦНС и охарактеризованы молекулярно-генетические параметры резистентности и вирулентности, а также эпидемиология штаммов *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *S. marcescens*, выделенных от пациентов с неблагоприятными исходами.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Результаты диссертационной работы Садеевой З.З., включающие данные о популяционном составе и молекулярно-генетических маркерах антибиотикорезистентности и вирулентности у грамотрицательных бактерий, имеют ценность для фундаментальной науки, вносят вклад в понимание особенностей развития инфекций кровотока и ЦНС у пациентов педиатрического профиля, а также имеют определяющую роль при выборе своевременной и адекватной антибактериальной терапии грамотрицательных инфекций кровотока и ЦНС.

Основные научные положения, выводы и практические рекомендации внедрены в учебный процесс кафедры педиатрии и общественного здоровья института подготовки медицинских кадров ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России при освоении основной профессиональной образовательной программы высшего образования, а также в лечебный процесс отделения анестезиологии и реанимации, отделения гнойной хирургии и нейрохирургического отделения ГБУ здравоохранения города Москвы «Научно-исследовательский институт неотложной детской хирургии и травматологии».

Соответствие диссертации паспорту специальности

Диссертационная работа Садеевой З.З. соответствуют паспорту научной специальности 1.5.11. Микробиология, что определяется направлением исследований (п. 1. Систематика и филогения микроорганизмов, п. 7. Ферменты микроорганизмов, п. 11 Геномный и метагеномный анализ микроорганизмов и их сообществ, п. 15. Структурированные сообщества микроорганизмов, в том числе биопленки).

Полнота освещения результатов диссертации в печати

Основные результаты исследования представлены в 21 научной работе, в том числе: 4 научных статьях 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 иных публикациях по результатам исследования, 15 публикациях в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 2 зарубежных конференций).

Структура и содержание диссертации

Содержание научно-квалификационной работы изложено логически, последовательно, имеются все необходимые разделы. Диссертационная работа изложена на 196 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, 6 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, описания перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Диссертация иллюстрирована 42 таблицами и 23 рисунками. Библиографический список включает 342 источника, в том числе 53 – отечественных и 289 – зарубежных.

Введение включает обоснование актуальности темы диссертационного исследования и степень ее разработанности. В данном разделе четко сформулированы задачи, соответствующие цели исследования. Также представлены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, положения, выносимые на защиту.

В первой главе автор приводит подробный анализ современной научной литературы по изучаемой проблеме. Широко освещены актуальные данные, касающиеся молекулярной эпидемиологии, этиологии инвазивных инфекций, факторов резистентности и вирулентности основных грамотрицательных возбудителей бактериемии и инфекции ЦНС. Обзор литературы включает достаточное количество источников и освещает современное состояние изучаемой темы.

Во введении грамотно сформулированы и изложены актуальность темы диссертационного исследования, степень ее разработанности, цели, задачи и научная новизна, определены теоретическая и практическая значимость работы, положения, выносимые на защиту.

Вторая глава представляет собой описание методологии исследования. В должной мере представлены все этапы проведенного автором исследования. Приведено описание изученных групп микроорганизмов, критерии включения и исключения, подробно описаны использованные методы исследования. Используемые методы выделения и идентификации, определения чувствительности к антимикробным препаратам (АМП), определения биопленкообразования, выявления генов резистентности к АМП и вирулентности, типирования микроорганизмов и полногеномного секвенирования являются адекватными и современными, обеспечивают достоверность полученных данных.

Третья глава включает описание спектра микроорганизмов, выделенных из образцов крови и ликвора. Представлены данные по чувствительности к АМП у основных грамотрицательных возбудителей. Показано широкое распространение лекарственной устойчивости к АМП разных групп.

Четвертая глава содержит результаты исследования молекулярно-генетических и фенотипических характеристик *A. baumannii*. Показано, преобладание карбапенемазы группы ОХА-40, штаммов с фенотипом МЛУ и изолятов с биопленками слабой интенсивности. Автором было показано значительное превышение МПК меропенема бактерий в составе биопленок по сравнению с МПК для планктонных клеток.

В пятой главе отражены результаты изучения фенотипов резистентности, генетических детерминант устойчивости к карбапенемам и генов вирулентности изолятов *K. pneumoniae*. Показано большое разнообразие β -лактамаз и генов вирулентности. Определено, что значительная доля штаммов имеет фенотип экстремальной резистентности, формирует биопленки умеренной интенсивности и относится к генотипам высокого эпидемического риска ST307 и ST395. Отмечено, что у изолятов этих генотипов значительно чаще были выявлены факторы гипервирулентности.

Шестая глава посвящена результатам изучения изолятов *P. aeruginosa*. Отмечено широкое распространение фенотипов МЛУ и экстремальной устойчивости, выявлена продукция металло-бета-лактамаз группы VIM у представителей данного вида. У изученных изолятов *P. aeruginosa* выявлена способность к формированию биопленок с высокой интенсивностью, а также наибольшая по сравнению с другими изолятами частота встречаемости гена пилей *pilB* в их геноме. В эпидемиологической структуре изолятов *P. aeruginosa* преобладали генотипы высокого эпидемического риска ST654, ST235.

Седьмая глава включает результаты изучения выделенных изолятов *S. marcescens*. Автором было показано, что в сравнении с описанными выше, для представителей данного вида характерна более низкая распространенность устойчивости к антибиотикам. В тоже время у части изолятов *S. marcescens* обнаружены различные комбинации β -лактамаз. Изоляты *S. marcescens* чаще всего обладали умеренной способностью к образованию биопленок. В результате успешного использования автором метода мультилокусного

сиквенсного анализа (МЛСА) для изучения клинических штаммов *S. marcescens* было выявлено преобладание одной из генотипических групп, включающей изоляты с МЛУ и продукцией карбапенемаз.

В восьмой главе приведены результаты полногеномного исследования нескольких изолятов *K. pneumoniae*, имеющих фенотип экстремальной резистентности к АМП. В результате полногеномного исследования описан широкий спектр генов β -лактамаз, а также генов устойчивости к другим группам АМП: аминогликозидам, фторхинолонам, хлорамфениколам, триметоприму. У всех штаммов был выявлен ген *PhoP_26Q*, который обуславливает устойчивость к полимиксинам.

Следует отметить, что основные результаты исследования наглядно отражены в таблицах и рисунках.

В главе «Заключение» автор приводит обобщение результатов исследования, сопоставляет их с данными, полученными другими отечественными и зарубежными авторами.

Выводы и практические рекомендации логичны, обоснованы, и соответствуют поставленным задачам.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата соответствует основным положениям и выводам диссертационной работы.

Замечания по содержанию и оформлению диссертации

Принципиальные замечания по оформлению и содержанию диссертационной работы, которые могли бы повлиять на общую положительную оценку работы, отсутствуют. Отдельные незначительные фразеологические неточности не снижают ценности рецензируемой работы.

Тем не менее, при ознакомлении с диссертацией возникли следующие вопросы:

1. В работе отмечено, что частота выделения грамотрицательных микроорганизмов из образцов ликвора выше, чем из образцов крови. С чем это может быть связано?
2. Какие из изученных в ходе исследования свойств микроорганизмов и/или их сочетания (антибиотикорезистентность и, в частности, резистентность к карбапенемам, способность к биопленкообразованию, наличие факторов вирулентности) вносят ведущий вклад в развитие тяжелых форм инфекции с неблагоприятным исходом? Есть ли такая связь или тяжесть течения инфекции и исход в большей мере определяется факторами со стороны макроорганизма?
3. Согласно практической рекомендации 4 для выявления детерминант резистентности к карбапенемам у грамотрицательных изолятов бактерий, выделенных из образцов крови и ликвора, рекомендуется использование ПЦР. Оценивалась ли эффективность различных методов выявления карбапенемаз в ходе выполнения исследования?

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Садеевой Зульфиры Закиевны на тему: «Характеристика грамотрицательных бактерий, выделенных из крови и ликвора у детей», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. Микробиология, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение важной научной задачи по изучению популяционной структуры и молекулярно-генетических предикторов антибиотикорезистентности и вирулентности у грамотрицательных бактерий, выделенных из крови и ликвора у детей, что 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 ректора № 0692/Р от 06.06.2022 г. (с

изменениями, утвержденными приказом ректора №1179 от 29.08.2023 г., приказом Сеченовского Университета №0787/Р от 24.05. 2024 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Садеева Зульфия Закиевна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Согласна на обработку персональных данных.

Официальный оппонент:

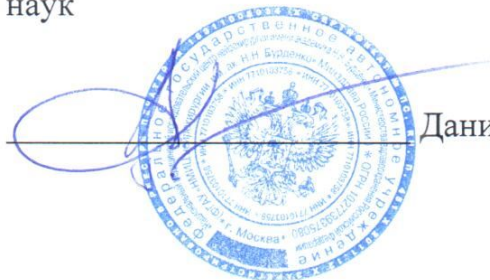
заведующий лабораторией микробиологии
и антибактериальной терапии
ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии
им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России
кандидат медицинских наук
(03.00.07. Микробиология (1.5.11. Микробиология))

Сухорукова Марина Витальевна

07.02.2025 г.

Подпись к.м.н. М.В. Сухоруковой заверяю.

Ученый секретарь
ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии
им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России
кандидат медицинских наук



Данилов Глеб Валерьевич

07.02.2025 г.

Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 125047, Москва, 4-я Тверская-Ямская улица, дом 16; Тел.: +7 (499) 972-85-01; e-mail: info@nsi.ru