

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Червинца Вячеслава Михайловича на диссертационную работу Малыгиной Ольги Геннадьевны на тему: «Особенности формирования микробиоты недоношенных детей при длительном выхаживании в стационаре», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология

Актуальность темы исследования. Микробиота организма человека одна из основных систем, способствующая созданию условий для нормальной жизнедеятельности человека. Микробиоценозы представляют собой динамические экологические системы, выполняющие множество функций. Имеются многочисленные данные о формировании микробиоты желудочно-кишечного тракта у доношенных новорожденных при различных состояниях. У недоношенных детей, особенно с низкой и экстремально низкой массой тела, в силу незрелости органов и систем процесс формирования микрофлоры основных биотопов имеет свои отличительные черты. Актуальность темы исследования связана с приоритетным направлением в последнее время - выхаживанием недоношенных детей с массой тела менее 1500 г. Выхаживание глубоко недоношенных детей в неонатальном стационаре занимает длительное время (до 2-3 месяцев) под постоянным прессингом госпитальной среды, что откладывает отпечаток на характер микробиоты. При этом недоношенные дети представляют группу риска по развитию инфекционных заболеваний и осложнений, в результате инфицирования госпитальными антибиотикорезистентными штаммами. Поэтому главная роль отводится формированию облигатной микрофлоры. Для оценки сформированности микробиоты желудочно-кишечного, респираторного тракта и мочевыделительной системы необходимо динамическое

наблюдение за данной группой детей на протяжении первого года жизни с целью своевременного выявления микробиологических нарушений и назначения персонализированной коррекции.

В связи с изложенным актуальность и обоснованность темы диссертационной работы Малыгиной О.Г., посвященная изучению формирования микробиоты у недоношенных детей с массой менее 1500г, не вызывает сомнений.

Степень новизны, обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Проведены микробиологические исследования и изучены факторы, влияющие на формирование микробиоты у недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела при динамическом наблюдении. Получены данные о замедленном формировании облигатного пула микробиоты толстой кишки и респираторного тракта. В работе показано, что при дефиците нормальной микрофлоры на фоне длительной госпитализации в неонатальном стационаре при назначении массивной антибактериальной терапии происходит контаминация госпитальными антибиотикорезистентными штаммами микроорганизмов.

Автором обоснованы основные факторы, от которых зависит бактериальная колонизация организма ребенка (длительность госпитализации в стационаре, антибактериальная терапия), достоверность которых подтверждается проведенным корреляционным и факторным анализами.

На основе полученных результатов усовершенствован бактериологический метод исследования фекалий для раннего выявления, в первую очередь, условно-патогенных микроорганизмов.

Поставленные автором цель и задачи успешно выполнены. На основе полученных результатов автором изложены научные положения, сформулированы выводы и практические рекомендации.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая значимость работы заключается в том, что описан микробиологический состав основных микробиоценозов недоношенных детей на этапе выхаживания в стационаре, при этом было показана необходимость обследования детей в 6 и 12 месяцев жизни.

Становление микрофлоры у недоношенных детей определяется множеством факторов, в первую очередь госпитализация в отделении реанимации, продолжительное (более 50 дней) выхаживание в стационаре, агрессивная антибактериальная терапия (назначение более 3-4 групп препаратов), что должно учитываться в работе перинатальных центров и неонатальных отделений стационаров. Доказано, что данные факторы негативно влияют на нормальную микрофлору и способствуют контаминации госпитальными штаммами, которые сохраняются на протяжении длительного времени.

Практическая значимость работы заключается в том, что исследование цельного материала и первого разведения фекалий наиболее эффективно для своевременного обнаружения микробиологических нарушений, в первую очередь выявление дефицита бифидо- и лактобактерий и появление представителей семейства *Enterobacteriaceae*. С помощью раннего выявления нарушений возможно проведение персонализированной биокоррекции микробиологических отклонений с повышением эффективности выхаживания глубоконедоношенных детей.

Материалы исследований реализованы в методических рекомендациях «Микробиологический мониторинг микробиоты недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела» (утверждены ЦКМС ФГБОУ ВО СГМУ (г.Архангельск) Минздрава России, протокол №2 от 25.10.2018 г, акт внедрения 6.11.2018г). Данные алгоритмы внедрены в работу перинатального центра города Архангельска.

Основные положения диссертационной работы внедрены в учебный процесс на кафедре клинической биохимии, микробиологии и лабораторной

диагностики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации при проведении теоретических и практических занятий у студентов педиатрического факультета, факультета медико-профилактического дела и медицинской биохимии (акт внедрения 1.03.2017г).

Достоверность и апробация результатов исследования. Диссертационное исследование Малыгиной О.Г. носит научно-практический характер. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнения, определяется достаточно большим объемом материалов исследований и статистической обработкой данных с использованием программного обеспечения. Результаты получены с использованием классического бактериологического метода исследования фекалий, отделяемого зева, мочи, а также молекулярно-генетического метода (ПЦР-диагностика) в формате “in real-time”. Результаты исследования представлены и обсуждены на Всероссийских и международных конференциях. Основное содержание работы отражено в 14 научных публикациях, в том числе 4 статьи в рецензируемых журналах, 2 тезисов в рецензируемых изданиях, 3 – в других изданиях, 5 – в материалах конференций.

Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации. Структура диссертационной работы Малыгиной О.Г. соответствует ГОСТ. Диссертация изложена на 170 страницах печатного текста. Состоит из введения, обзора литературы, основной части – глав описания результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и списка литературы. Работа иллюстрирована 9 таблицами и 47 рисунками. Список литературы включает 163 российских и 51 иностранных источника.

Во введении представлены актуальность, степень разработанности исследования, сформулирована цель и задачи, обоснована научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Диссертантом подробно изложена методология и методы собственных исследований, основные положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы проанализирован большой объем информации о характере микробиоценозов дыхательных путей, мочевыделительной системы и желудочно-кишечного тракта с описанием роли нормальной микрофлоры. Проведен анализ научных исследований о формировании микробиоты новорожденных детей с подробным описанием факторов, влияющих на процесс становления микроэкологии. Данные литературы использовались в заключении при обсуждении полученных результатов.

Во второй главе собственных данных проанализированы данные микробиоты верхних дыхательных путей, мочевыделительной системы и толстой кишки недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела. Показано, что в неонатальном периоде у всех обследованных детей отмечается выраженный дефицит облигатной микрофлоры. В проведенном динамическом обследовании отмечено, что к выписке из стационара происходит медленное становление облигатного пула микробиоты с одновременной контаминацией условно-патогенными штаммами госпитального характера. Дальнейшие обследования в 6 и 12 месяцев демонстрируют отсутствие полной сформированной микроэкологии изучаемых биотопов при сохранении условно-патогенных микроорганизмов с видовым изменением. Автором установлено, что у детей с массой менее 1000 г облигатные представители толстой кишки лактобациллы формируются медленнее, что требует более длительного наблюдения за данной группой детей.

В третьей главе диссертантом представлены результаты проведенного корреляционного и факторного анализа микробиоценозов в зависимости от лечения в реанимационном отделении, длительности госпитализации в

стационаре, вида вскармливания. Оценка полученных данных позволила автору установить значимый фактор (продолжительная госпитализация в стационаре более 50 дней), влияющий на формирование микроэкологии. Представленные рисунки наглядно демонстрируют полученные показатели.

В следующей главе представлены результаты формирования микробиоты основных биотопов недоношенного ребенка при использовании антибактериальной терапии (от вида и количества назначаемых групп препаратов). Наглядно показано, что использование наибольшего числа препаратов и наиболее часто используемых антибиотиков (β -лактамы, аминогликозиды) облигатные представители (бифидобактерии и лактобациллы) толстой кишки формируются медленно. На фоне дефицита индигенных представителей происходит контаминация организма недоношенного ребенка госпитальными полирезистентными штаммами микроорганизмов (КОС и НГОБ), что необходимо учитывать в работе неонатального стационара.

Практическим применением полученных результатов явилось создание методических рекомендаций (алгоритмов) обследования и наблюдения за микробиотой недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела для своевременного установления микробиологических нарушений и предупреждения перехода в хронические и затяжные формы заболеваний. Данные алгоритмы представлены автором в 5 главе.

Обсуждение результатов и сравнение с данными других исследований приведены в разделе «Заключение». Выводы работы составлены согласно поставленным задачам и отражают содержание диссертационного исследования.

Соответствие специальности. Работа Малыгиной О.Г. написана понятным литературным языком, иллюстрирована рисунками и таблицами. Содержание диссертации соответствует специальности 03.02.03 – микробиология, по которой она представляется к защите. Автореферат

диссертационной работы соответствует содержанию, основным результатам и выводам диссертации.

Принципиальных замечаний диссертация не вызывает. В процессе рецензирования диссертации возник вопрос:

Вы показали, что на фоне инфицирования *CMV*, *M.hominis* *U.urealyticum* происходит контаминация толстой кишки грамотрицательными энтеробактериями, грибами рода *Candida*. Однако облигатные представители (бифидобактерии, лактобациллы, энтерококки, кишечная палочка) толстой кишки тоже встречались чаще. Объясните какая здесь связь.

Заключение. Диссертационная работа Малыгиной Ольги Геннадьевны на тему «Особенности формирования микробиоты недоношенных детей при длительном выхаживании в стационаре», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология, является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора медицинских наук, профессора Бажуковой Татьяны Александровны, содержащей новое решение актуальной научной задачи – динамическое изучение становления микробиоты респираторного и желудочно-кишечного тракта, мочевыделительной системы с определением значимых влияющих факторов на микроэкологию организма недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела.

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, объему выполненных исследований, достоверности полученных результатов и внедрению результатов исследования диссертационная работа Малыгиной Ольги Геннадьевны соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в редакции Постановлений

