

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук Попова Дмитрия Александровича на диссертационную работу Крыжановской Ольги Андреевны «Чувствительность к антибиотикам и механизмы устойчивости к карбапенемам *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Klebsiella pneumoniae*, выделенных у детей в отделениях реанимации и интенсивной терапии», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Актуальность темы исследования.

В течение ряда последних лет наблюдается неуклонный рост числа инфекций, связанных с грамотрицательными возбудителями, обладающими множественной устойчивостью к антибиотикам. Такие инфекции являются причиной повышения заболеваемости и смертности, как среди взрослых больных, так и среди детей, что является одной из глобальных проблем современности. С наибольшей частотой инфекции развиваются у пациентов, находящихся в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) – в 5-10 раз чаще по сравнению с другими отделениями. Антибактериальную терапию обычно получают более 60% пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии, при этом часто используются антибиотики широкого спектра действия или комбинации нескольких антимикробных препаратов.

Согласно современным данным, наиболее остро стоит проблема возбудителей группы ESKAPE, в которую входят, в том числе, *A.baumannii*, *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae*. Согласно отечественным данным, указанные микроорганизмы суммарно составляют более 50% в структуре возбудителей внутрибольничных инфекций. Изолированных данных о частоте встречаемости и механизмах резистентности *A.baumannii*, *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae* среди детской популяции очень

мало. В связи с этим изучение вопросов распространенности данных патогенов и их механизмов антибиотикорезистентности у детей будет способствовать более адекватному назначению антимикробных препаратов для предотвращения распространения резистентных форм, а также позволит разработать эффективные подходы к проведению противоэпидемических мероприятий.

Таким образом, тема диссертационной работы Крыжановской Ольги Андреевны является, несомненно, актуальной и обоснованной.

Степень новизны и обоснованной научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Для достижения поставленной цели автором были сформулированы пять задач, решение которых позволило получить достоверные данные и сформулировать выводы, характеризующиеся научной новизной.

Так, исследование 17302 образцов от 935 детей в 2012-2014 гг. позволило диссертанту охарактеризовать структуру микробиоты пациентов в педиатрических ОРИТ Москвы и показать, что распространенность *A.baumannii*, *P.aeruginosa* и *K.pneumoniae* составляет 14%, 24% и 41% соответственно.

Новые данные о распространенности резистентности выделенных у детей штаммов *A.baumannii*, *P.aeruginosa* и *K.pneumoniae* показали их высокий уровень устойчивости к основным группам антимикробных препаратов, включая карбапенемы. Впервые показана роль продукции карбапенемаз в определении формирования резистентности к карбапенемам выделенных у детей изолятов данной группы. При этом важным является факт сохранения чувствительности к колистину у исследованных штаммов в детской популяции.

С использованием метода мультилокусного сиквенс-типирования впервые охарактеризована популяционная генетическая структура

ацинетобактерий, выделенных у детей в ОРИТ Москвы. Показано, что большинство из них относится к двум клональным комплексам (СС92 и СС944), распространение которых установлено как в России, так и за рубежом.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Теоретическая значимость работы заключается в получении данных антибиотикочувствительности и механизмах ее формирования у выделенных у детей изолятов *A.baumannii*, *P.aeruginosa* и *K.pneumoniae*, что расширяет знания о свойствах возбудителей внутрибольничных инфекций у детей и будет способствовать оптимизации антибактериальной терапии в педиатрических отделениях реанимации.

Установленная с помощью мультилокусного сиквенс-типирования гетерогенная структура изолятов *A.baumannii* свидетельствует о перспективе дальнейших исследований в этом направлении. Были выявлены новые сиквенс-типы, информация о которых размещена в международной базе данных PubMLST.

Практическая значимость работы заключается в формировании методологии для своевременного выявления антибиотикорезистентных штаммов как с помощью фенотипических, так и молекулярно-генетических методов, что позволит проводить адекватную и своевременную антибиотикотерапию у детей в ОРИТ.

Созданный банк ДНК *A.baumannii*, *P.aeruginosa* и *K.pneumoniae* и базы данных может служить основой для дальнейших исследований по прогнозированию распространения возбудителей внутрибольничных инфекций.

Достоверность и апробация результатов исследования.

Достоверность настоящей работы не вызывает сомнений, так как она базируется на корректных теоретических положениях, показывающих

знание современной литературы, выполнена на большом объеме материала (17302 образца от 935 детей) с использованием современных микробиологических и молекулярно-генетических методов исследования, а также качественной статистической обработке данных.

Все основные этапы работы выполнены диссертантом лично, а ее результаты опубликованы в 10 печатных работах, из них в 4 статьях в рецензируемых научных изданиях. Основные результаты диссертационной работы представлены и обсуждены на 5 всероссийских научно-практических конференциях различного уровня.

Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации.

Диссертация Крыжановской О.А. написана в традиционном стиле, изложена хорошим литературным языком на 119 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, четырех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и перспектив дальнейшей разработки темы. Работа содержит 20 таблиц и 8 рисунков. Список литературы содержит 132 источника отечественных и зарубежных авторов.

Во введении автор обосновывает актуальность исследования, включая описание степени разработанности темы, формулирует цель и задачи, указывает новизну, теоретическую и практическую значимость исследования, приводит основные положения, выносимые на защиту, останавливается на методологии, описании методов исследования и изучаемых штаммах микроорганизмов.

Обзор литературы состоит из 4 подразделов и посвящен подробному описанию современных научных представлений о структуре микробиоты пациентов в ОРИТ, общей характеристике штаммов *A.baumannii*, *P.aeruginosa* и *K.pneumoniae*, существующих механизмах формирования резистентности к антибиотикам и путях ее преодоления.

Глава 2 собственных исследований посвящена подробному анализу образцов биоматериала от детей, находившихся в двух ОРИТ Москвы за период 2012-2014 гг. Подробно представлены данные о видовом составе микробиоты, отмечено преобладание грамотрицательной микрофлоры. Интересны данные о структуре различных видов микроорганизмов в зависимости от локуса выделения: так, частота выделения *A.baumannii*, *P.aeruginosa* и *K.pneumoniae* из трахеи была выше по сравнению с другими клинически значимыми локусами. Также в главе приводятся результаты оценки антибиотикочувствительности данных штаммов к основным группам антибиотиков.

Глава 3 собственных исследований посвящена описанию результатов определения антибиотикочувствительности штаммов *A.baumannii* с указанием значений минимальной подавляющей концентрации каждого исследованного антибиотика, распространенности генов карбапенемаз и клональной характеристике 65 карбапенем-нечувствительных изолятов *A.baumannii*. Показаны высокие значения МПК для меропенема и имипенема (более 32 мкг/мл), доминирование карбапенемазы группы ОХА-40 (97%) и принадлежность к двум глобальным клональным комплексам: СС92 (67%) и СС944 (28%).

Глава 4 собственных исследований посвящена результатам исследования карбапенем-нечувствительных изолятов *P.aeruginosa*. Автором показаны высокие значения МПК меропенема и имипенема (более 32 мкг/мл). С помощью фенотипического метода «двойных» дисков у 70% карбапенем-нечувствительных изолятов *P. aeruginosa* было показано наличие металло- β -лактамазы. И только в 65% методом полимеразной цепной реакции была выявлена карбапенемаза группы VIM. Также 56 изолятов *P.aeruginosa* были исследованы на наличие дополнительного механизма формирования карбапенем-нечувствительности (эффлюкс). В целом, в данной главе показана роль

комбинации двух механизмов (40%) в формировании резистентности у исследуемых изолятов *P.aeruginosa*.

Глава 5 собственных исследований посвящена описанию результатов исследования 67 изолятов *K. pneumoniae*. В главе представлены диапазоны значений МПК для разных групп антибиотиков. Представлены данные, показывающие наличие у 68% исследованных изолятов *K.pneumoniae* комбинации механизмов формирования карбапенемрезистентности: продукции генов БЛРС (СТХ_М и ТЕМ) и карбапенемаз (ОХА-48).

Глава «Заключение» содержит обобщение полученных результатов и их анализ. Выводы, сформулированные диссертантом, соответствуют задачам исследования и полностью вытекают из анализа результатов, полученных в диссертационной работе.

Работа содержит незначительное количество опечаток, не влияющих на качество и смысл проведенного исследования. Автореферат отражает основные положения диссертационной работы и соответствует ГОСТ 7.0.11-2011.

Таким образом, диссертационная работа Крыжановской О.А. представляет собой законченное научное исследование и соответствует специальности 03.02.03 – микробиология.

Заключение.

Таким образом, диссертация Крыжановской Ольги Андреевны на тему «Чувствительность к антибиотикам и механизмы устойчивости к карбапенемам *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Klebsiella pneumoniae*, выделенных у детей в отделениях реанимации и интенсивной терапии» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора медицинских наук, профессора РАН Маянского Николая Андреевича, которая содержит новое решение актуальной научной задачи – выявления резистентности к

β-лактамным антибиотикам, в т.ч. карбапенемам, возбудителей внутрибольничных инфекций с помощью молекулярно-генетических методов.

По актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований, настоящая работа полностью соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в соответствии с Постановлением Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. №335 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Крыжановская Ольга Андреевна, достойна присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – «микробиология».

Официальный оппонент:
Заведующий лабораторией
клинической микробиологии и антимикробной терапии
Федерального Государственного Бюджетного Учреждения
«Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(121552, Москва, Рублевское шоссе, д. 135,
телефон: (495) 414-79-14, e-mail: info@bakulev.ru)

доктор медицинских наук  Попов Дмитрий Александрович

18.11.2016

Подпись Попова Дмитрия Александровича заверяю:

Ученый секретарь
НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева,
доктор медицинских наук



Н.О. Сокольская