

Федеральное государственное
бюджетное учреждение
«Федеральный научно-клинический
центр инфекционных болезней
Федерального
медико-биологического агентства»
(ФГБУ ФНКИБ ФМБА России)
адрес: 197022, Санкт-Петербург
ул. Профессора Попова, д.9
тел. (812) 234-60-04 факс (812) 234-9691
e-mail: niidi@niidi.ru; nii_definf@fmbamail.ru
ОКПО 01966495, ОГРН 1037828009548
ИНН/КПП 7813045265 / 781301001

30.05.2025 № 0121/754

«УТВЕРЖДАЮ»

И.о. Генерального директора
ФГБУ ФНКИБ ФМБА России
доктор медицинских наук, профессор

В. А. Ратников



«30 мая» 2025 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного учреждения "Федеральный научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства" на диссертационную работу Сияновой Екатерины Алексеевны на тему «Микробиологический мониторинг как основа профилактики и лечения хронической инфекции легких, вызванной бактериями *Pseudomonas aeruginosa*, у пациентов с муковисцидозом», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология (биологические науки).

Актуальность темы диссертационной работы. Бактерии *Pseudomonas aeruginosa* являются широко распространенными возбудителями госпитальных инфекций различной локализации, которые могут вызывать раневые инфекции, послеоперационные гнойно-септические осложнения, ожоговые инфекции, госпитальные пневмонии, в том числе у пациентов детей и взрослых, находящихся на искусственной вентиляции легких. Особое значение бактерии *P. aeruginosa* имеют для пациентов с муковисцидозом (МВ), поскольку могут оказываться ведущим фактором в неблагоприятных исходах. *P. aeruginosa* персистирует в легких пациентов практически постоянно, на фоне антибактериальной терапии удается лишь снизить уровень обсемененности. При этом в поддержании обсемененности дыхательных путей пациентов не ясна роль микробиоты окружающей домашней среды.

Недостаточно изучена проблема чувствительности *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов с муковисцидозом, к дезинфектантам. Диссертация Сияновой Е.А. направлена на решение указанных проблем, чем и объясняется ее актуальность.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Результаты проведенных Сияновой Е.А. исследований позволили охарактеризовать популяционную структуру *P. aeruginosa*, циркулирующих на территории России среди пациентов с МВ. Обнаружены международные клоны высокого эпидемического риска ST233, ST235, ST245, ST274, ST273, ST381. Среди пациентов детей с МВ впервые охарактеризована вспышка госпитальной инфекции, вызванная штаммом *P. aeruginosa* ST235.

На территории Российской Федерации у пациентов с МВ Чувашии, Красноярского края, и Ямало-ненецкого автономного округа (ЯНАО), обнаружены новые сиквенс-типы *P. aeruginosa* - ST4037, ST3993, ST4038, которые внесены в международную базу данных PubMLST. Автором диссертации обнаружен новый аллель гена *trpE*, используемого в схеме MLST типирования.

Впервые автор диссертационной работы в результате микробиологического мониторинга домашней среды пациентов детей с МВ выявил эпидемиологическое значение таких предметов домашней среды, как небулайзеры, стоки раковин, чистящие поверхности зубных щеток, которые могут представлять собой возможные резервуары *P. aeruginosa*, играющие важную роль во вторичном инфицировании пациентов.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы. Теоретическая значимость работы заключается в том, что полученные в результате микробиологического мониторинга результаты вносят вклад в изучение хронической инфекции легких у пациентов МВ, вызванной доминирующими возбудителями - бактериями *P. aeruginosa*. Были выявлены эпидемически значимые для пациентов с МВ генотипы (ST235 и

ST274), выявлены домашние очаги синегнойной инфекции, описана устойчивость патогена к антибиотикам и дезинфектантам.

Результаты изучения антибиотикорезистентности штаммов *P. aeruginosa* включены в базу данных Референс-центра ФБГУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России по мониторингу распространения антибиотикорезистентности. Обоснованы оптимальные режимы дезинфекции различными препаратами для предупреждения распространения штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от больных МВ. Охарактеризованные по фенотипу и генотипу штаммы *P. aeruginosa* от пациентов с МВ собраны в коллекцию. Два штамма секвенированы и депонированы в коллекцию ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России (GIMC5040:PA85B, GIMC5041:PA431-2, 14.11.2022). Полученные диссертантом результаты включены в лекционный курс для студентов «МГИМО-МЕД» и аспирантов ФБГУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России по специальностям микробиология и эпидемиология.

Личный вклад автора. Основные этапы диссертационной работы автор выполнил лично, в том числе бактериологические и молекулярно-генетические исследования. По отдельным разделам диссертационной работы исследования проводились в сотрудничестве с сотрудниками лабораторий ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России. Анализ и интерпретация полученных данных выполнены автором лично.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы. Полученные Сияновой Е.А. результаты и выводы легли в основу разработанных рекомендаций по тактике проведения профилактических мероприятий для предупреждения распространения инфекции, вызванной *P. aeruginosa*, как в условиях стационара, так и в домашних условиях, которые будут включены в Национальный консенсус «Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия» и клинические рекомендации «Кистозный фиброз (муковисцидоз)», обоснованы оптимальные режимы дезинфекции различными препаратами для

предупреждения распространения штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от больных муковисцидозом.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационная работа Сияновой Е.А. соответствует пунктам паспорта специальности 1.5.11 «Микробиология»: пп.11 (Геномный и метагеномный анализ микроорганизмов и их сообществ); 12 (Патогенные микроорганизмы, факторы вирулентности и патогенности); 20 (Санитарная микробиология).

Достоверность и апробация результатов исследования. Достоверность полученных в ходе диссертационной работы результатов подтверждается комплексным подходом к микробиологической идентификации типичных и атипичных форм бактерий *P.aeruginosa*, применением молекулярно-генетических методов, Maldi-TOF спектрометрии. Автором было исследовано 3900 образцов мокроты и мазков из зева и носа от пациентов с муковисцидозом из различных регионов России. Большой объем статистически обработанных данных делает обоснованными и достоверными полученные результаты, выводы и практические рекомендации. Результаты исследования были представлены и обсуждались на российских и международных конгрессах и конференциях, а основные выводы опубликованы в 23 печатных работах, среди которых 6 статей в журналах, находящихся в перечне рецензируемых научных изданий, рекомендуемых ВАК, а также WoS, Scopus и РИНЦ, что подтверждает значимость полученных данных.

Содержание и оформление диссертационной работы. Диссертация оформлена по общепринятому плану, изложена на 193 страницах машинописного текста и содержит следующие главы: введение, обзор литературы, материалы и методы, 5 глав собственных исследований, а также заключение, выводы, список сокращений и условных обозначений. Материалы диссертации иллюстрированы 42 рисунками и 24 таблицами. Список литературы представлен 197 источниками.

Во введении представлена актуальность темы диссертационной работы, на основании которой логически определены цель и задачи исследования, сформулированы научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования, основные положения, выносимые на защиту. Охарактеризована публикационная активность Сияновой Е.А. и её личный вклад в проведенные исследования.

В первой главе «Обзор литературы» автор провел анализ современных данных по проблемам хронической инфекции легких, вызванной *P. aeruginosa* у пациентов с муковисцидозом, микробиологии патогена.

Во второй главе «Материалы и методы исследования» представлена методология исследования, характеризующаяся комплексным подходом, включающим современные бактериологические, молекулярно-генетические методы и MALDI-TOF масс-спектрометрию.

Третья глава, посвящена результатам собственных исследований, касающихся характеристики хронической инфекции легких, вызванной *P. aeruginosa* у пациентов с муковисцидозом.

В четвертой главе представлены молекулярно-генетические характеристики изолятов *P. aeruginosa*, включая результаты детекции генов металло-бета-лактамаз, проведен анализ полученных результатов в сравнении с международной базой данных. Мониторинг антибиотикочувствительности изолятов *P. aeruginosa* показал, что 47% обладали устойчивостью ко многим антибиотикам.

Пятую главу диссертант посвятил изучению микробиоты окружающей среды пациентов с муковисцидозом вне стационара, в результате которого были выявлены домашние очаги инфекции *P. aeruginosa*.

В шестой главе автор продемонстрировал результаты исследования чувствительности изолятов *P. aeruginosa* к дезинфицирующим средствам, предназначенным для обеззараживания медицинских изделий. Была изучена чувствительность патогена к дезинфицирующим средствам в растворе, а также при обеззараживании поверхностей.

Седьмая глава посвящена мерам профилактики инфекции, вызванной *P. aeruginosa* у пациентов с муковисцидозом. Представлен алгоритм микробиологического мониторинга хронической инфекции легких у пациентов с муковисцидозом, вызванной бактериями *P. aeruginosa*.

В главе «Заключение» обобщены и проанализированы основные результаты. Полученные данные позволили усовершенствовать алгоритм микробиологического мониторинга хронической инфекции легких у пациентов с муковисцидозом, вызванной *P. aeruginosa*. Представленные автором результаты создают предпосылки для дальнейших исследований и разработки новых направлений диагностики, профилактики и лечения инфекций, вызванных *P. aeruginosa*. Выводы логически вытекают из обобщенных результатов и соответствуют поставленным задачам.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации. В автореферате логически представлены основные результаты диссертационной работы и список публикаций автора. Все разделы автореферата соответствуют содержанию диссертации.

В процессе ознакомления с диссертацией возникло несколько замечаний и вопросов:

- в разделе «Материалы и методы» отсутствует описание методов MLST и полногеномного секвенирования;
- роль гена *crpP* в формировании устойчивости к фторхинолонам окончательно не определена, имеются серьезные данные, опровергающие возможную роль (Zubyk H.L., Wright G.D. CrpP is not a fluoroquinolone-inactivating enzyme. Antimicrob. Agents Chemother. 2021;65:e00773-21. doi: 10.1128/AAC.00773-21.);
- при отсутствии данных о МПК антибиотиков или хотя бы о диаметрах зон задержки роста сопоставление результатов, полученных в различные временные промежутки с использованием различных критериев чувствительности не очень корректно;

- данные в разделе 4.3. представлены, по моему мнению, не удачно, что затрудняет их восприятие. Для того, чтобы оценить динамику устойчивости к одному антибиотику необходимо анализировать данные, представленные на различных рисунках;
- такие термины как «отрицательный высев», с моей точки зрения, нельзя признать удачными.

Высказанные замечания не влияют на общую положительную оценку работы.

Заключение. Диссертационная работа Сияновой Е.А. на тему «Микробиологический мониторинг как основа профилактики и лечения хронической инфекции легких, вызванной бактериями *Pseudomonas aeruginosa*, у пациентов с муковисцидозом», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 – Микробиология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена важная научно-практическая задача, связанная с изучением хронической инфекции легких, вызванной бактериями *P.aeruginosa*, у пациентов с муковисцидозом, что имеет существенное социально-экономическое и хозяйственное значение для системы здравоохранения и эффективной профилактики и лечения инфекции, вызванной *P.aeruginosa*, а также снижению риска распространения штаммов высокого эпидемического риска, обладающих множественной резистентностью к антибиотикам, устойчивых к дезинфицирующим средствам. Полученные автором данные позволят усовершенствовать диагностику, лечение и профилактику инфекций, вызываемых *P. aeruginosa*, что особенно актуально в условиях распространения штаммов, устойчивых к антибиотикам как в госпитальной среде, так и в обществе.

По своей актуальности, новизне, научно-практической значимости диссертационная работа Сияновой Екатерины Алексеевны на тему «Микробиологический мониторинг как основа профилактики и лечения хронической инфекции легких, вызванной бактериями *Pseudomonas*

aeruginosa, у пациентов с муковисцидозом», соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, установленным Положением о присуждении ученых степеней, утвержденным Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 и последующих редакций Постановлений Правительства РФ (№335 от 21.04.2016; №748 от 02.08.2016; №1024 от 28.08.2016; 1168 от 01.10.2018; №426 от 20.03.2021; 1539 от 11.09.2021; №1690 от 26.09.2022, N 415 от 18.03.2023, N 1786 от 26.10.2023, N 62 от 25.01.2024 и N 1382 от 16.10.2024, с изменениями и дополнениями, вступившими в силу с 01.01.2025), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Сиянова Екатерина Алексеевна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. – Микробиология.

Ведущая организация подтверждает, что соискатель не является ее сотрудником и не имеет научных работ по теме диссертации, подготовленных на базе ведущей организации или в соавторстве с ее сотрудниками.

Отзыв на диссертационную работу Сияновой Е.А. был заслушан, обсужден и одобрен на заседании Ученого совета ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства» (протокол № 5 от 29.05.2025 г.).

Заведующий научно-исследовательским отделом
медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии
Член-корреспондент РАН
д.м.н., профессор

 Сидоренко Сергей Владимирович

Подпись д.м.н. Сидоренко С.В. заверяю:

Ученый секретарь
к.м.н., доцент

 Волжанин Валерий Михайлович

ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр инфекционных болезней
Федерального медико-биологического агентства», 197022, Санкт-Петербург,
ул. Профессора Попова, д.9. Телефон: 8 (812) 234-17-71 e-mail: niidi@niidi.ru