



Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
Федеральное бюджетное учреждение науки
**«НИЖЕГОРОДСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ
им.академика И.Н.Блохиной»
(ФБУН ННИИЭМ им.академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора)**

Малая Ямская ул., д. 71, г. Нижний Новгород, 603950

тел. (831) 469-79-01, факс (831) 469-79-20
E-mail: micro@nniem.ru

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ФБУН ННИИЭМ
им.академика И.Н.Блохиной
Роспотребнадзора,
доктор медицинских наук, профессор
Ефимов Евгений Игоревич



«27» декабря 2020 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального бюджетного учреждения науки «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им.академика И.Н.Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека о научно-практической ценности диссертационной работы Егоровой Светланы Александровны на тему «Мониторинг чувствительности бактерий рода *Salmonella* к антибиотикам с учетом молекулярных механизмов резистентности», представленной на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология

Актуальность темы исследования

Проблема заболеваемости сальмонеллезами остается актуальной для Российской Федерации: в 2018–2019 гг. зарегистрировано около 150 очагов

сальмонеллезной инфекции с вовлечением более 4 тысяч заболевших. Сальмонеллезы занимают первое место в структуре очагов групповой заболеваемости острыми кишечными инфекциями бактериальной этиологии, что обусловлено эпидемически значимыми факторами передачи – различными пищевыми продуктами животного происхождения. В некоторых странах штаммами сальмонелл инфицировано 50–75 % кур мясных и яйценосных пород. Растущая резистентность энтеробактерий к антимикробным препаратам представляет серьезную проблему для здравоохранения не только в отношении инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, но и в отношении острых кишечных инфекций, возбудители которых (сальмонеллы, шигеллы, кампилобактеры) в последние годы приобрели устойчивость к используемым для лечения антибиотикам. ВОЗ расценивает сальмонеллы, устойчивые к фторхинолонам и цефалоспорином – препаратам выбора при лечении среднетяжелых, тяжелых и генерализованных формах сальмонеллезной инфекции, включая брюшной тиф – как патогены высокой приоритетности, устойчивость которых требует незамедлительной разработки новых антибиотиков. Формированию и распространению резистентных штаммов сальмонелл способствует использование антибиотиков в животноводстве, птицеводстве и других отраслях сельского хозяйства.

План мероприятий по реализации «Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года», утвержденный распоряжением Правительства Российской Федерации от 30 марта 2019 года, предусматривает обеспечение системного мониторинга резистентности, а также проведение научно-исследовательских работ по выявлению механизмов, обуславливающих устойчивость ведущих возбудителей инфекционных заболеваний.

Учитывая вышесказанное, диссертационная работа Егоровой Светланы Александровны, посвященная вопросам диагностики резистентности сальмонелл к клинически значимым антибиотикам, является актуальной, представляет значительный научный и практический интерес, и соответствует

основным научным направлениям в микробиологии возбудителей инфекций, общих для человека и животных. Результаты работы имеют важность для совершенствования мониторинга устойчивости к антибиотикам возбудителей инфекционных болезней и оценки тенденций развития антибиотикорезистентности в популяции сальмонелл, включая возбудителя брюшного тифа.

Новизна, обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационное исследование обладает несомненной научной новизной в вопросах оценки чувствительности и резистентности к антибиотикам бактерий рода *Salmonella*, включая возбудителя брюшного тифа. Автором получены новые данные о хромосомных и плазмидных механизмах резистентности к цефалоспорином и хинолонам, что расширяет представления о биологических свойствах сальмонелл.

Автором впервые охарактеризована популяция возбудителя брюшного тифа, выделенного на 21 административной территории РФ, с использованием современных молекулярно-генетических методов и международных баз данных. Оценивая однонуклеотидный полиморфизм генома по данным полногеномного секвенирования, автор представил в работе филогенетическую структуру коллекции штаммов *S. typhi*, что позволило оценить положение «русской» субпопуляции в глобальной популяции возбудителя брюшного тифа.

Данные диссертационного исследования доказывают вовлечение Российской Федерации в глобальную экспансию штаммов сальмонелл, принадлежащих к международным клонам высокого риска: автором впервые выявлены штаммы *Salmonella* Newport MDR/AmpC, *Salmonella* Kentucky ST198, *Salmonella typhi* субклады 4.3.1 (гаплотипа H58), широко циркулирующие в различных странах мира. Это свидетельствует о

необходимости развития международного сотрудничества и участия Российской Федерации в глобальных программах по предупреждению и ограничению распространения антибиотикорезистентности.

Выполненная работа раскрывает перспективное направление для дальнейших исследований в области эпидемиологии инфекционных заболеваний, вызванных резистентными к антибиотикам возбудителями, в том числе сальмонеллами – ведущим этиологическим агентом, вызывающим крупные международные «пищевые» вспышки и способных к широкому эпидемическому распространению.

На основании обширного фактического материала автором доказана необходимость мониторинга чувствительности и механизмов резистентности к антибиотикам в рамках эпидемиологического надзора за сальмонеллезом с целью разработки мероприятий по ограничению устойчивости в популяции сальмонелл – возбудителей инфекций, общих для человека и животных.

Научная новизна диссертационной работы подтверждена патентами РФ на изобретение № 2707548 от 27.11.2019 и № 2707925 от 02.12.2019.

Основные положения, выводы и практические рекомендации, сформулированные автором, являются научно-обоснованными и соответствуют результатам проведенных исследований.

Связь новизны исследования с планами соответствующих отраслей науки

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека согласно договору НИР «Совершенствование лабораторной диагностики бактериальных возбудителей диарейных заболеваний. Генетическое разнообразие факторов вирулентности,

механизмов резистентности к антимикробным препаратам», в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора «Проблемно-ориентированные научные исследования в отрасли эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными болезнями на 2016–2020 гг.», утвержденной Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека А.Ю. Поповой 13.01.2016 г., приказ № 5.

Значимость для науки и производства полученных автором диссертации результатов

Теоретическая значимость работы заключается в том, что на основании результатов многолетнего исследования с использованием комплекса современных молекулярно-генетических методов существенно дополнена характеристика биологических свойств бактерий рода *Salmonella*, включая уровни чувствительности к различным классам антибиотиков, молекулярные механизмы резистентности, принадлежность к генетическим линиям, имеющим глобальное распространение.

Результаты диссертационной работы, показывающие широкое распространение антибиотикорезистентности у возбудителей инфекций общих для человека и животных, свидетельствуют о необходимости осуществления эффективной концепции «единого здравоохранения», включающей межведомственное взаимодействие специалистов в области медицины, ветеринарии и сельского хозяйства.

Результаты работы свидетельствуют о том, что современный микробиологический мониторинг антибиотикорезистентности сальмонелл невозможен без использования молекулярно-генетических методов.

Работа имеет несомненную практическую значимость. Автор изучил активность 23 антибиотиков различных классов в отношении штаммов сальмонелл, выделенных в последние годы в Российской Федерации.

Полученные данные способствуют разработке оптимальных схем антибиотикотерапии и актуализации протоколов лечения сальмонеллезов. В работе показано, что в настоящее время заболевания брюшным тифом в РФ вызывают штаммы глобально распространенного «азиатского» клона возбудителя, устойчивого к фторхинолонам, что является прогностическим признаком клинической неэффективности эмпирической терапии брюшного тифа фторхинолонами.

Автор разработал методические подходы к тестированию штаммов сальмонелл, гармонизированные с рекомендациями ведущих европейских организаций, осуществляющих надзор за антибиотикорезистентностью: Европейского центра по контролю заболеваемости (ECDC), Европейского Агентства по пищевой безопасности (EFSA), Европейского комитета по определению чувствительности к антибиотикам (EUCAST). Использование предложенных автором подходов позволит российским специалистам выявлять штаммы сальмонелл международных клонов высокого риска и участвовать в международных программах надзора за антибиотикорезистентностью возбудителей, общих для человека и животных.

Достоверность и апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях

Достоверность полученных автором результатов не вызывает сомнений, определяется логически выстроенным планом исследования, направленным на решение поставленных задач, использованием широкого спектра современных стандартизованных бактериологических и молекулярно-генетических методов с высокой чувствительностью и специфичностью (включая полногеномное секвенирование) и оптимальных методологических подходов к их использованию. Репрезентативность выборок штаммов и объём проведенных исследований, достаточный для корректной статистической обработки данных, использование специализированного программного обеспечения и

международных баз данных, позволяют считать результаты работы достоверными.

Результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на 11 конгрессах и научно-практических конференциях международного, всероссийского и регионального уровней. Основное содержание диссертации достаточно полно отражено в 45 печатных работах, в том числе в 14 публикациях в рецензируемых изданиях, получено два патента на изобретение, три свидетельства о регистрации базы данных. Материалы диссертации учтены при разработке трех методических и клинических рекомендаций, вошли в два аналитических обзора.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Предложенные научно обоснованные подходы к проведению мониторинга чувствительности/устойчивости к антибиотикам у штаммов *Salmonella* могут быть использованы специалистами учреждений Роспотребнадзора в системе эпидемиологического надзора за сальмонеллезам.

Депонированные штаммы *Salmonella* различных сероваров могут быть использованы в качестве контрольных тест-штаммов при проведении фенотипических и молекулярно-генетических исследований штаммов сальмонелл в научных учреждениях и бактериологических лабораториях инфекционных стационаров.

Рекомендации по скринингу антибиотикорезистентности у штаммов *Salmonella* учтены при разработке российских Клинических рекомендаций «Определение чувствительности микроорганизмов к antimикробным препаратам» и используются врачами-бактериологами медицинских учреждений при проведении лабораторных исследований.

Разработанные алгоритмы детекции механизмов резистентности внедрены в работу специализированной центральной бактериологической лаборатории СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница имени С.П. Боткина» (акт внедрения от 11.06.2020), клинико-диагностической лаборатории СПб ГБУЗ «Детская городская клиническая больница № 5 им. Н.Ф. Филатова» (акт внедрения от 10.06.2020), бактериологического отдела клинико-диагностической лаборатории СПб ГБУЗ «Детская городская больница № 17 Святителя Николая Чудотворца» (акт внедрения от 04.06.2020). Представляется целесообразным продолжить и расширить изучение антибиотикочувствительности штаммов сальмонелл, выделенных в различных регионах РФ из других источников (пищевые продукты, сельскохозяйственные животные и птицы и др.).

Созданные автором базы данных, включающие результаты фенотипических и молекулярно-генетических исследований штаммов *Salmonella* («S.Typhi-Museum: биологические свойства возбудителя брюшного тифа», свидетельство регистрации № 2019621507; «S.Typhi-Museum: молекулярные детерминанты резистентности», № 2020620406; «*Salmonella*-Museum: антибиотикочувствительность и механизмы резистентности», № 2019622278) могут быть использованы при создании единой межведомственной базы данных о распространении антибиотикорезистентности и включены в структуру баз данных государственной информационной системы обеспечения химической и биологической безопасности при осуществлении плана мероприятий по реализации Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации.

Материалы диссертации вошли в учебное пособие «Методические особенности определения чувствительности штаммов *Salmonella* к антимикробным препаратам» и внедрены в образовательный процесс кафедры медицинской микробиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» МЗ РФ в

дополнительные профессиональные программы повышения квалификации врачей по специальности «Бактериология» (акт внедрения от 08.06.2020).

Оценка содержания и оформления диссертации

Диссертация выполнена по специальности 03.02.03 – микробиология, написана грамотным научным языком, построена по традиционному плану, состоит из введения (включающего методологию и методы исследования), обзора литературы, семи глав собственных исследований, обсуждения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка литературы и приложений. Работа изложена на 292 страницах, иллюстрирована 26 таблицами и 33 рисунками. Библиографический список включает 348 литературных источников (71 отечественный и 277 зарубежных), более половины которых опубликованы в течение последних 5 лет.

Содержание диссертации свидетельствует о выполнении намеченных задач, завершенности исследования и достижении поставленной цели. Во введении диссертации представлена актуальность темы исследования и степень ее разработанности, сформированы цель и задачи, отражены научная новизна, теоретическая и практическая значимость, методология и методы исследования, положения, выносимые на защиту, степень достоверности, апробация результатов и личный вклад соискателя. Выводы обоснованы полученными результатами проведенного диссертационного исследования и соответствуют поставленным задачам.

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации и отражает основные результаты диссертационного исследования.

По содержанию диссертации имеются следующие **замечания**:

1) Правомерно ли говорить о видовой идентификации бактерий рода *Salmonella* с использованием MALDI TOF масс-спектрометрии, тогда как в Руководстве пользователя Biotyper отмечается невозможность идентификации

сальмонелл до вида в рутинной практике (стр. 10 приложенного документа). Программа Biotyper выдает лишь ориентировочную оценку видовой и подвиговой принадлежности сальмонелл, так как белки этих микроорганизмов имеют высокую степень гомологии. Возможно, в ходе проведенных исследований была наработана база данных спектров, позволяющих проводить более точную идентификацию бактерий рода *Salmonella*?

2) Поясните, пожалуйста, термины «клинически значимые антимикробные препараты» и «клинически значимая резистентность».

Необходимо отметить, что сделанные замечания не влияют на общую положительную оценку работы.

Заключение

Диссертационная работа Светланы Александровны Егоровой на тему «Мониторинг чувствительности бактерий рода *Salmonella* к антибиотикам с учетом молекулярных механизмов резистентности» является законченным научным трудом, в котором на основании выполненных автором исследований, а также научно-практических разработок решена научная проблема совершенствования мониторинга чувствительности бактерий рода *Salmonella* (возбудителей ОКИ, общих для человека и животных) к антибиотикам путем внедрения новых методических подходов к детекции механизмов резистентности, позволяющих выявлять циркуляцию штаммов международных клонов высокого риска, включая возбудителя брюшного тифа, что имеет важное значение для микробиологии.

Диссертационная работа Светланы Александровны Егоровой на тему «Мониторинг чувствительности бактерий рода *Salmonella* к антибиотикам с учетом молекулярных механизмов резистентности», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология, по актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований соответствует

требованиям пункта 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора медицинских наук, а ее автор Светлана Александровна Егорова заслуживает присуждения учёной степени доктора медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Отзыв заслушан и одобрен на заседании Учёного совета ФБУН ННИИЭМ им.академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора (протокол № 10 от 24.12.2020).

Отзыв составил:

Ведущий научный сотрудник-заведующий лабораторией микробиома человека и средств его коррекции Федерального бюджетного учреждения науки «Нижегородского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им.академика И.Н.Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; адрес: 603950, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71, Тел: 8 (831) 469-79-01, e-mail: micro@nniiem.ru

доктор биологических наук,
доцент

Ирина Владленовна Соловьева

(шифр специальности 03.02.08 – экология, 03.02.03 – микробиология)

Подпись Соловьевой И.В. заверяю

Учёный секретарь Федерального бюджетного учреждения науки «Нижегородского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им.академика И.Н.Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,

кандидат биологических наук



Мария Сергеевна Снегирева