

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН НИИ эпидемиологии
и микробиологии имени Пастера,
академик РАН, профессор
А.А. Тотолян



«17» июня 2020 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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 (197101, Санкт-Петербург ул. Мира, д. 14).

Диссертация «Мониторинг чувствительности бактерий рода *Salmonella* к антибиотикам с учетом молекулярных механизмов резистентности» выполнена в лаборатории кишечных инфекций 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.

В период подготовки диссертации соискатель Егорова Светлана Александровна работала в Федеральном бюджетном учреждении науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в должности научного и старшего научного сотрудника лаборатории кишечных инфекций.

В 1995 г. окончила Санкт-Петербургскую государственную медицинскую академию им. И.И. Мечникова по специальности медико-профилактическое дело с присвоением квалификации врача-гигиениста-эпидемиолога. В 2001 г. получила сертификат по специальности «Бактериология». В 2007 г. защитила диссертацию на соискание ученой степени кандидата медицинских наук на тему «Характеристика бактерий рода *Klebsiella*, выделенных при дисбиозах кишечника» по специальности микробиология в Диссертационном совете Д 208.086.03 при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию».

Научный консультант: Кафтырева Лидия Алексеевна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией кишечных инфекций 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.

По итогам обсуждения диссертации принято следующее заключение:
Диссертационная работа Егоровой С.А. является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена научная проблема мониторинга чувствительности бактерий рода *Salmonella* к антибиотикам, совершенствования методов детекции клинически значимых механизмов резистентности за счет разработки новых методических подходов к изучению штаммов *Salmonella*, мониторинга циркуляции в РФ штаммов международных резистентных клонов сальмонелл,

включая возбудителя брюшного тифа, что имеет важное значение для внедрения в эпидемиологический надзор за сальмонеллезами и брюшным тифом в РФ.

Диссертационная работа Егоровой С.А. выполнена в соответствии с тематикой и 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 в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора «Проблемно ориентированные научные исследования в отрасли эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными болезнями на 2016-2020 гг.» (утвержденная Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека А.Ю. Поповой 13.01.2016 г., приказ № 5), договор НИР «Совершенствование лабораторной диагностики бактериальных возбудителей диарейных заболеваний. Генетическое разнообразие факторов вирулентности, механизмов резистентности к антимикробным препаратам».

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации, заключалось в выборе темы диссертации, формулировке целей и задач, планировании и организации исследований по всем разделам диссертации. Автор лично осуществил сбор и обобщение данных литературы, участвовал в идентификации и определении чувствительности штаммов к антибиотикам, лично провел детекцию механизмов резистентности и разработал алгоритмы фенотипического скрининга резистентности к антимикробным препаратам, обобщил, проанализировал и статистически обработал результаты, сформулировал научные положения работы, выводы, практические рекомендации, подготовил основные публикации по результатам исследования, получил патенты на штаммы, создал электронные базы данных, депонировал штаммы и нуклеотидные последовательности. Автор лично провел биоинформатический анализ данных секвенирования для поиска детерминант резистентности, плазмид, MLST-типов штаммов, определения аллельного профиля плазмид. Выполнены совместно с сотрудниками ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера: генотипирование штаммов методом PFGE – с к.м.н. Макаровой М.А., подготовка библиотек и полногеномное секвенирование – с д.б.н. Семеновым А.В. и к.б.н. Останковой Ю.В. Филогенетический анализ выполнен совместно со старшим научным сотрудником ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора к.б.н. Кулешовым К.В.

Использование автором широкого спектра современных стандартизованных бактериологических и молекулярно-генетических методов с высокой чувствительностью и специфичностью (включая полногеномное секвенирование), репрезентативности выборки штаммов на всех этапах, объем проведенных исследований, достаточный для корректной статистической обработки данных (более 1000 штаммов *Salmonella*), использование современного сертифицированного оборудования, специализированного программного обеспечения и международных баз данных позволяют считать результаты исследований достоверными и не вызывающими сомнений. Сделанные автором выводы и рекомендации аргументированы и логически вытекают из анализа полученных данных.

Научная новизна исследований заключается в получении новых данных о частоте выявления устойчивых штаммов *Salmonella* в РФ с использованием современных международных стандартизованных подходов, молекулярно-генетических методов и филогенетического анализа. Установлены значительные отличия в показателях резистентности штаммов, выделенных в РФ, по сравнению с зарубежными данными. Выявлена высокая частота устойчивости штаммов *Salmonella* к препаратам резерва – колистину и тигециклину, получены новые данные об уровнях активности антибиотиков в отношении штаммов *Salmonella*, включая возбудителя брюшного тифа. Выявлены серовароспецифические различия в показателях резистентности штаммов *Salmonella*, позволяющие теоретически обосновать серовароориентированный подход при проведении мониторинга антибиотикочувствительности сальмонелл. Характеристика штаммов *Salmonella*, выделенных в РФ, по уровням чувствительности к антимикробным

препаратам существенно дополняет характеристику глобальной популяции *Salmonella*, представленную EUCAST. Получены новые сведения о молекулярных механизмах резистентности к цефалоспорином и хинолонам, доказана роль плазмидопосредованных и хромосомных механизмов в распространении клинически значимой резистентности у штаммов *Salmonella* в РФ, охарактеризованы мобильные генетические элементы, определяющие спектр бета-лактамаз, и однонуклеотидные замены в хромосомных генах устойчивых штаммов. Результаты работы свидетельствуют о вовлечении РФ в процесс глобальной экспансии международных резистентных генетических линий *Salmonella*. Установлены филогенетические связи и определено положение «российских» штаммов в глобальной популяции *S. Typhi*, доказано, что заболевания брюшным тифом в РФ в 2005-2019 гг. были вызваны штаммами «азиатского» клона (субклада 4.3.1/гаплотип H58) возбудителя, устойчивого к хинолонам, что является прогностическим признаком клинической неэффективности эмпирической терапии брюшного тифа фторхинолонами в РФ. Научная новизна исследования подтверждена двумя патентами, созданы три базы данных, содержащие уникальные результаты фенотипических и молекулярно-генетических исследований штаммов *Salmonella*.

Практическая значимость работы состоит в разработке научно обоснованной схемы комплексной лабораторной диагностики устойчивости штаммов *Salmonella* к хинолонам, адаптированной для бактериологических лабораторий, которая позволяет достоверно установить уровень и молекулярный механизм устойчивости и расширяет аналитические возможности бактериологических исследований. Разработанные алгоритмы фенотипической детекции клинически значимых механизмов резистентности, повышающие достоверность исследования при определении чувствительности штаммов *Salmonella* к антибиотикам в бактериологических лабораториях и необходимые для выбора адекватной этиотропной терапии сальмонеллезом, внедрены и используются в работе бактериологических лабораторий стационаров Санкт-Петербурга. Разработана программа для ЭВМ, предназначенная для сбора и анализа информации о биологических свойствах микроорганизмов в бактериологических лабораториях.

Показано, что метод SNP-типирования позволяет проследить эволюцию и тенденции антибиотикоустойчивости *S. Typhi* в Российской Федерации по сравнению с глобальной популяцией возбудителя брюшного тифа, что имеет большое значение для эпидемиологического надзора за брюшным тифом. По результатам работы выявлены антибиотики, оптимальные для стартовой терапии брюшного тифа в РФ, и предложен перечень препаратов для тестирования штаммов *Salmonella* в рамках мониторинга чувствительности к антибиотикам, включающего детекцию механизмов резистентности и штаммов международных резистентных клонов на территории РФ. Созданные базы данных и программа для ЭВМ позволяют повысить эффективность эпидемиологического надзора за сальмонеллезом, включая брюшной тиф, а также корректировать схемы эмпирической терапии сальмонеллезом в зависимости от данных локального мониторинга.

Ценность научной работы соискателя состоит в получении новых данных о распространении устойчивости и ведущих молекулярных механизмах резистентности к антибиотикам у «российских» штаммов *Salmonella*, включая возбудителя брюшного тифа. Научно обоснована необходимость экспертной оценки результатов определения чувствительности штаммов *Salmonella* к антибиотикам в связи со сниженной природной чувствительностью к некоторым из них и методическими особенностями тестирования ряда препаратов. Тридцать три штамма *Salmonella* с различными механизмами резистентности депонированы в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» как контрольные штаммы для проведения фенотипических и молекулярно-генетических исследований устойчивости к антимикробным препаратам; полученные при молекулярных исследованиях нуклеотидные последовательности генов *gyrA*, *parC* и *gyrB* штаммов *Salmonella* с различными хромосомными мутациями,

обуславливающими устойчивостью к препаратам выбора при лечении сальмонеллезов, дополнили международный банк данных GenBank.

По тематике, методам исследования, предложенным научным положениям и выводам диссертационная работа соответствует паспорту специальности научных работников 03.02.03 – микробиология (медицинские науки) и области исследования: пункты 1 – «Проблемы эволюции микроорганизмов, установление их филогенетического положения», 2 – «Выделение, культивирование, идентификация микроорганизмов», 3 – «Морфология физиология, биохимия, и генетика микроорганизмов» и 4 – «Исследование микроорганизмов на популяционном уровне».

Основное содержание диссертации отражено в 45 опубликованных работах, из них 14 статей в изданиях, включенных ВАК Министерства образования и науки РФ в Перечень российских рецензируемых научных журналов для опубликования основных научных результатов диссертации. Опубликованные работы отвечают тематике диссертационного исследования и полностью раскрывают его содержание.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Egorova, S.** Ceftriaxone-Resistant Salmonella enterica Serotype Newport, France / S. Egorova, M. Timinouni, M. Demartin, S.A. Granier, J.M. Whichard, V. Sangal, L. Fabre, A. Delaune, M. Pardos, Y. Millemann, E. Espie, M. Achtman, P.A.D. Grimont, F-X. Weill / *Emerging infectious diseases*. – 2008. – V. 14. – № 6. – P. 954-957.
2. Кафтырева, Л.А. Резистентность к дезинфектантам энтеробактерий -возбудителей зооантропонозных инфекций / Л.А. Кафтырева, **С.А. Егорова**, М.А. Макарова // *Дезинфекционное дело*. – 2008. – № 3. – С. 12-14.
3. Кафтырева, Л.А. Характеристика биологических свойств возбудителя брюшного тифа, зарегистрированного на ряде территорий Российской Федерации в 2005-2007 гг. / Л.А. Кафтырева, **С.А. Егорова**, М.А. Макарова, З.Н. Матвеева, А.А. Яковлев, Т.И. Шестакова, Л.Ю. Петрова, В.Н. Алексеенко, С.И. Котлярова, Т.А. Гречанинова, Е.В. Кича, Л.А. Липатова, Т.М. Кузьмина, Н.С. Казановская, Е.Ю. Яровикова // *Эпидемиология и инфекционные болезни*. – 2009. – № 1. – С. 35-37.
4. Логинова, М.А. Исследование молекулярно-генетических и фенотипических характеристик клинических изолятов возбудителя брюшного тифа, выделенных в Санкт-Петербурге и Ленинградской области в 2005-2006 гг. / М.А. Логинова, Я.А. Кибирев, И.В. Парамонов, Н.Т. Васильев, В.П. Бондарев, И.В. Борисевич, И.В. Дармов, С.Н. Янов, И.В. Маракулин, В.И. Хмелевской, А.А. Сулопаров, А.Б. Жебрун, Л.А. Кафтырева, **С.А. Егорова**, Л.Ю. Петрова, Т.И. Шестакова, Л.А. Липатова // *Эпидемиология и инфекционные болезни*. – 2009. – № 6. – С. 33-38.
5. Кафтырева, Л.А. Резистентность энтеробактерий к антимикробным препаратам выбора при лечении острых кишечных инфекций / Л.А. Кафтырева, **С.А. Егорова**, Е.А. Кожухова, М.А. Макарова, Н.С. Козлова, З.Н. Матвеева, Т.И. Шестакова, Л.Ю. Петрова, Е.В. Кича // *Казанский медицинский журнал*. – 2009. – т. XC. – № 5. – С. 699-704.
6. Забровская, А.В. Устойчивость к антимикробным препаратам сальмонелл, выделенных от животных и из продуктов в Ленинградской области в 2004-2010 гг. / А.В. Забровская, Л.А. Кафтырева, **С.А. Егорова**, Л.В. Селиванова, Л.Ю. Мальшева, Н.А. Антипова, А.Н. Борисенкова, О.Б. Новикова // *Международный вестник ветеринарии*. – 2011. – № 3. – С. 15-18.
7. Кафтырева, Л.А. Аналитические возможности лабораторий стационаров в детекции механизмов резистентности к антибактериальным препаратам штаммов энтеробактерий / Л.А. Кафтырева, **С.А. Егорова**, М.А. Макарова, Л.В. Сужаева, А.В. Забровская, Ю.С. Светличная // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. – 2014. – № 1 (74). – С. 23-27.
8. Кафтырева, Л.А. Особенности резистентности к антимикробным препаратам возбудителя брюшного тифа, зарегистрированного на территории Российской Федерации в 2005-2016 гг. / Л.А. Кафтырева, **С.А. Егорова**, М.А. Макарова, С.В. Тюленев, Г.Ф.

Трифопова, О.В. Калинина // Профилактическая и клиническая медицина. – 2017. – № 2 (63). – С. 14-19.

9. **Егорова, С.А.** Методические особенности определения чувствительности штаммов *Salmonella* к антимикробным препаратам / С.А. Егорова, Л.А. Кафтырева // Клиническая лабораторная диагностика. – 2019. – Т. 64. – № 6. – С. 368-375.

10. **Егорова, С.А.** Устойчивость к антимикробным препаратам и клинически значимые механизмы резистентности штаммов *Salmonella*, выделенных в 2014-2018 гг. в Санкт-Петербурге, Россия / С.А. Егорова, Л.А. Кафтырева, Л.В. Сужаева, А.В. Забровская, Е.В. Войтенкова, З.Н. Матвеева, Ю.В. Останкова, И.В. Лихачев, Н.В. Сатосова, Р.В. Кицбабашвили, Е.В. Смирнова, Л.И. Семченкова, Т.Е. Быстрая, С.Е. Сокольник, Н.П. Уткина, Л.Ю. Сихандо // Клиническая лабораторная диагностика. – 2019. – Т. 64. – № 10. – С. 620-626.

11. **Егорова, С.А.** Современные методы субтипирования сальмонелл при расследовании вспышек сальмонеллезов / С.А. Егорова, К.В. Кулешов, Л.А. Кафтырева // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2019. – № 3. – С.36-42.

12. **Egorova, S.A.** The antimicrobial susceptibility, resistance mechanisms and phylogenetic structure of *S. Typhi* isolated in 2005-2018 in the Russian Federation / S.A. Egorova, K.V. Kuleshov, L.A. Kaftyreva, Z.N. Matveeva // Инфекция и иммунитет. – 2020. – Т.10. – № 1. – С. 99-110.

13. **Егорова, С.А.** Современные тенденции развития устойчивости бактерий рода *Salmonella* к клинически значимым антимикробным препаратам (обзор литературы) / С.А. Егорова, Л.А. Кафтырева, В.В. Помазанов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2020. – Т. 65. – № 5. – С. 308- 315.

14. Кафтырева, Л.А. Детекция международных клонов высокого риска *Salmonella* и *Escherichia coli*, возбудителей заболеваний, передающихся с пищевыми продуктами, в Российской Федерации / Л.А. Кафтырева, С.А. Егорова, М.А. Макарова // Инфекция и иммунитет. – 2020. – Т.10. – № 3. – С. 565-569.

Рекомендации по скринингу устойчивости к хинолонам у штаммов *Salmonella* и характеристика чувствительности *S. Typhi* к этой группе антимикробных препаратов учтены при разработке российских методических и клинических рекомендаций «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (версии 2014, 2015 и 2018 гг.). Результаты работы вошли в государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Материалы диссертации вошли в учебное пособие «Методические особенности определения чувствительности штаммов *Salmonella* к антимикробным препаратам» и внедрены в учебный процесс кафедры медицинской микробиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» МЗ РФ при проведении сертификационных циклов повышения квалификации врачей-бактериологов. Разработанные алгоритмы детекции механизмов резистентности вошли в информационное письмо «Методические особенности определения чувствительности бактерий *Salmonella* к фторхинолонам и азитромицину» и внедрены в работу бактериологических лабораторий стационаров Санкт-Петербурга.

Материалы диссертации вошли в справочник «Лабораторная диагностика инфекционных болезней» (под ред. В.И. Покровского, М.Г. Твороговой, Г.А. Шипулина), национальное руководство «Клиническая лабораторная диагностика» (под ред. В.В. Долгова, В.В. Миньшикова), монографию «Актуальные направления и перспективы Российско-Вьетнамского сотрудничества в сфере обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия» (под ред. А.Ю. Поповой), аналитические обзоры «Инфекционная заболеваемость в Северо-Западном федеральном округе России.

Закономерности и особенности эпидемического процесса в современный период» (Санкт-Петербург: Феникс, 2007), «Эпидемиологические и микробиологические особенности брюшного тифа в Российской Федерации» (Санкт-Петербург: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2011), «Микробиологический мониторинг резистентности клинически значимых микроорганизмов к антимикробным препаратам» (Санкт-Петербург: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2012), «Брюшной тиф в Российской Федерации» (Санкт-Петербург: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2013), «Брюшной тиф в Российской Федерации» (Санкт-Петербург: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2018).

Диссертация «Мониторинг чувствительности бактерий рода *Salmonella* к антибиотикам с учетом молекулярных механизмов резистентности» Егоровой С.А. рекомендуется к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Заключение принято на заседании Ученого совета 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.

Присутствовало на заседании 25 чел. из 29 членов Ученого Совета.

Результаты голосования: «за» – 25 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось» – 0 чел., протокол № 3 от 04 марта 2020 г.

Председатель Ученого совета,
директор ФБУН НИИ эпидемиологии и
микробиологии имени Пастера,
профессор, академик РАН

Тотоян Арег Артемович

Секретарь Ученого совета,
ученый секретарь ФБУН НИИ эпидемиологии и
микробиологии имени Пастера,
к.м.н.

Трифонова Галина Федоровна

