

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО ПИМУ Минздрава России

д.м.н., доцент

А.С. Благодеров

« 20 » сентября 2021



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической ценности диссертационной работы Макаровой Марии Александровны на тему «Гетерогенность популяции патогенных *Escherichia coli* – возбудителей кишечных инфекций и заболеваний внекишечной локализации», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология

Актуальность темы выполненной работы

Инфекции, вызванные *E. coli*, имеют высокую социально-экономическую значимость и являются проблемой здравоохранения во всех странах. Низкие темпы снижения заболеваемости острых кишечных инфекций, обусловленных *E. coli*, увеличение числа серологических вариантов, несущих генетические детерминанты вирулентности и резистентности к антибиотикам, значительная контаминация объектов окружающей среды представляют комплекс медико-социальных и экологических проблем. Важное эпидемиологическое значение эшерихиозов как острых кишечных инфекций обусловлено их способностью к широкому эпидемическому распространению. В настоящее время появились новые и гибридные патогруппы, детекция которых возможна только молекулярными методами по наличию конкретных генов вирулентности. Детекция *E. coli*, вызывающих заболевания внекишечной локализации проводится по родовым и видовым фенотипическим свойствам, без учета патогенного потенциала изолята. В России молекулярные методы оценки этиологической значимости штаммов и прогнозирования рисков развития жизнеугрожающих осложнений в настоящее время не используют. Несмотря на многолетнее и разностороннее изучение патогенных *E. coli*, многие аспекты биологии этого вида требуют более углубленного анализа и подтверждения на современном уровне знаний. В настоящее время установлено, что патогенные для человека *E. coli* отличаются от представителей нормобиоты наличием конкретных генов вирулентности. Именно это определяет особенности эпидемиологии, патогенеза и клинических проявлений вызываемых ими заболеваний. Поэтому, результаты лабораторной диагностики, основанной на ограниченном числе фенотипических тестов, не позволяют достоверно оценить этиологическую значимость штаммов эшерихий с учетом их серологической принадлежности к определенной группе, варианту или биовару. Учитывая вышесказанное, тема диссертационной работы Макаровой М. А., посвященная

изучению гетерогенности *Escherichia coli* – возбудителей инфекционных заболеваний человека, является своевременной и актуальной.

Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Основу научной новизны результатов, полученных Макаровой М.А., составляет характеристика биологических свойств патогенных *E. coli* – возбудителей кишечных инфекций и заболеваний внекишечной локализации.

Впервые в РФ охарактеризованы более 1700 штаммов, выделенных из различных биологических материалов больных и здоровых лиц с использованием современных молекулярных методов детекции патогенетически значимых генов вирулентности, резистентности к антибиотикам и принадлежности к филогенетическим группам. Данные о гетерогенности генетических свойств существенно расширили сведения о циркулирующих возбудителях острых кишечных инфекций, использование которых будет основой для разработки эффективных методов лабораторной диагностики, лечения, профилактики и проведения противоэпидемических мероприятий при возникновении очагов с групповой заболеваемостью.

С использованием комплекса молекулярных подходов впервые выявлена циркуляция штаммов энтероаггративных *E. coli*, ранее не диагностируемой патогруппы в Российской Федерации; получены результаты мирового уровня о сочетанном потенциале вирулентности, характерном для штаммов - возбудителей диарей и заболеваний мочевыводящих путей.

Впервые представлена комплексная характеристика 301 штаммов *E. coli* – возбудителей заболеваний внекишечной локализации (ExPEC), включая возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. По сочетанию 17 генов, кодирующих факторы патогенности, выявлены 206 индивидуальных генотипов вирулентности, что свидетельствует о значительной вариабельности патогенного потенциала ExPEC. Показано, что 12% штаммов содержали маркеры неблагоприятного прогноза течения заболевания (гены *afa*, *pap*, *sfa*, *kps*, *ibeA*), наличие которых является прогностическим признаком риска хронического течения инфекций мочевых путей и острых жизнеугрожающих состояний (уросепсис, менингит).

Представлены суммарные данные о резистентности к антибиотикам и механизмах устойчивости к цефалоспорином III-IV поколений и карбапенемам в субпопуляциях патогенных и комменсальных *E. coli*. Показано, что около 50% популяции *E. coli* характеризуются множественной резистентностью к клинически значимым препаратам. Полученные данные являются важным инструментом для эпидемиологических исследований при оценке общего пула генов резистентности в популяции *E. coli* и мониторинга клинически и эпидемически значимой резистентности.

С использованием современных научно обоснованных принципов изучения популяционной структуры *E. coli* диссертантом установлено, что на территории РФ циркулируют штаммы, принадлежащие к международным клонам высокого

риска – шигатоксин – продуцирующие *E. coli* (STEC O26:H11-B1-ST21) – возбудитель диарейных заболеваний человека и животных и ExPEC O25:H4-B2-ST131 – возбудитель заболеваний внекишечной локализации.

Впервые выявлен факт колонизации кишечника здоровых лиц *E. coli* - потенциальными возбудителями заболеваний внекишечной локализации, что показывает эпидемиологическую значимость микробиоты кишечника как скрытого резервуара патогенных *E. coli* с множественной резистентностью к антимикробным препаратам, в том числе, международного клона высокого эпидемического риска O25:H4 B2 ST131.

В целом, материалы, адекватные методы исследований, объем проведенных экспериментов обеспечили выполнение поставленных перед диссертантом задач. Научное обоснование выводов и рекомендаций, полностью соответствуют задачам и положениям, выносимым на защиту, и отражают содержание работы.

Связь новизны исследования с планами соответствующих отраслей науки

Диссертационная работа Макаровой М.А. выполнена в соответствии с планом НИР 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, № государственной регистрации АААА-А16-116061410035-6. Исследования проведены на оборудовании, имеющем сертификаты качества, свидетельства и аттестаты по метрологической поверке.

Значимость для науки и практики данных, полученных автором диссертации

Полученные в ходе выполнения диссертационной работы новые данные значимы в научном, практическом и прикладном отношении.

Теоретическая значимость работы заключается в том, что на основании результатов исследования научно обоснованы критерии оценки патогенного потенциала штаммов *E. coli*, вызывающих инфекционные заболевания человека и колонизирующих кишечник здоровых людей. В результате проведенного диссертационного исследования дано теоретическое обоснование и получено практическое подтверждение значимости использования комплекса методов (культуральных и молекулярных) при лабораторной диагностике заболеваний, обусловленных *Escherichia coli*, для характеристики антигенных, вирулентных

свойств, выявления принадлежности штаммов к различным генетическим линиям – международным клональным комплексам (так называемым «успешным клоном» широкого пандемического распространения во многих странах).

Выполненная работа раскрывает перспективное направление для дальнейших исследований в области молекулярной эпидемиологии: проведение молекулярно-генетического мониторинга циркуляции и завоза на территории Российской Федерации высоковирулентных, резистентных к антибиотикам возбудителей с новыми или измененными свойствами, а также облигатных представителей микробиоты кишечника человека как скрытого резервуара патогенных *E.coli* – возбудителей гнойно-септических заболеваний, инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, с множественной резистентностью к антибиотикам, в том числе международных клонов высокого эпидемического риска.

Работа имеет несомненную практическую значимость. Полученные данные о резистентности к антибиотикам штаммов, выделенных из различных по эпидемиологической характеристике источников, значительно расширяют научные представления о глобальности проблемы резистентности к антибиотикам в Российской Федерации не только для заболеваний внекишечной локализации, но и для диарейных заболеваний, способных к широкому эпидемическому распространению, что существенно дополняет характеристику всей популяции *E. coli*. Данные о распространенности бета-лактамаз расширенного спектра имеют важное практическое значение, поскольку позволяют актуализировать рекомендации по антибактериальной терапии, разработать универсальные методы выявления клональной принадлежности штаммов.

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, применением комплекса современных стандартизованных лабораторных методов. Для выполнения поставленных задач были использованы микробиологические (культуральные, серологические, иммунохроматографические), молекулярно-генетические (включая полногеномное секвенирование) методы с высокой чувствительностью и специфичностью, оптимальными методологическими подходами к их использованию. Репрезентативность выборок штаммов и объем проведенных исследований достаточный для корректной статистической обработки данных, использование специализированного программного обеспечения и международных баз данных, позволяют считать результаты работы достоверными.

Основные результаты диссертационной работы и ее научно-практическое значение отражены в 60 печатных работах, из них 26 статей и 15 тезисов в

рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК, пять статей - в других изданиях и 14 тезисов в сборниках трудов и материалах конференций, доложены на 27 конгрессах и научно-практических конференциях международного, всероссийского и регионального уровней.

Получен патент на изобретение, семь свидетельств о регистрации электронных баз данных. Материалы диссертации учтены при разработке методических указаний, четырех клинических рекомендаций, методических и практических рекомендаций, вошли в справочники, разделы Национального руководства и трех монографий, использованы при разработке двух учебно-методических пособий.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты и выводы диссертационного исследования Макаровой М.А. могут быть использованы в преподавании курса микробиологии и эпидемиологии при чтении лекций и проведении практических занятий в медицинских ВУЗах и учебных программах последипломного дополнительного образования врачей-инфекционистов, эпидемиологов и врачей клинической лабораторной диагностики.

Результаты и выводы диссертационного исследования должны быть учтены в работе Управлений Роспотребнадзора и Центров гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора при анализе эпидемиологической ситуации и прогнозировании течения эпидемического процесса острых кишечных инфекций, вызванных *E. coli*, на территории России.

Полученные автором результаты должны быть внедрены в повседневную деятельность лабораторий лечебно-профилактических медицинских организаций, проводящих диагностические исследования, а также в работу врачей общей практики и инфекционистов при обследовании пациентов с подозрением на острые кишечные и гнойно-септические инфекции. Выполненная работа раскрывает перспективное направление для дальнейших исследований в области молекулярной эпидемиологии: проведение молекулярно-генетического мониторинга циркуляции и завоза на территории РФ высоковирулентных, резистентных к антибиотикам возбудителей с новыми или измененными свойствами, а также облигатных представителей микробиоты кишечника человека как скрытого резервуара патогенных *E.coli* – возбудителей гнойно-септических заболеваний, инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, с множественной резистентностью к антибиотикам, в том числе международных клонов высокого эпидемического риска.

Соответствие специальности

По тематике диссертации, методам исследования, научным положениям и выводам диссертационная работа Макаровой М.А. 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».

Оценка содержания и оформления диссертации

Диссертационная работа Макаровой М.А. изложена на 251 страницах машинописного текста в традиционном стиле и включает введение, обзор литературы, пять глав собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений, список цитируемой литературы и 12 приложений. Диссертация иллюстрирована 45 таблицами и 15 рисунками. Список литературы включает 372 источников, из которых 102 – отечественных и 250 зарубежных. Структура и содержание диссертации, научные положения, полученные результаты, выводы и рекомендации в необходимом объеме представлены в автореферате и полностью соответствуют тексту диссертации. Оформление диссертации и автореферата полностью соответствуют требованиям ВАК РФ.

Недостатки в содержании и оформлении диссертации не выявлены.

Принципиальных замечаний по работе нет. Возникшие вопросы носят дискуссионный или уточняющий характер и указывают на актуальность проведенных исследований. Они не снижают высокой научной и практической ценности диссертации.

Отдавая должное проделанной работе и оценивая ее положительно, хотелось бы узнать мнение автора по следующим вопросам:

Вопрос 1. Как Вы оцениваете перспективу дальнейших исследований и прикладного использования особенностей биологических свойств *E. coli* для профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи?

Вопрос 2. Как в практике врача бактериолога можно оптимизировать рутинное лабораторное исследование для предупреждения и выявления заносов резистентных к антибиотикам *E. coli* – возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи?

Заключение

Диссертационная работа Макаровой Марии Александровны на тему «Гетерогенность популяции патогенных *Escherichia coli* – возбудителей кишечных инфекций и заболеваний внекишечной локализации» на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология, является законченным научным трудом, в котором на основании выполненных автором обширных исследований и разработок осуществлено решение важной научно-практической проблемы – совершенствования лабораторной диагностики заболеваний, обусловленных *E. coli* с учетом оценки патогенного потенциала штаммов, вызывающих заболевания кишечной, внекишечной локализации и колонизирующих кишечник здоровых лиц, завоза и циркуляции на территории Российской Федерации штаммов, принадлежащих к международным клонам высокого эпидемического риска.

Диссертационная работа Макаровой Марии Александровны «Гетерогенность популяции патогенных *Escherichia coli* – возбудителей кишечных инфекций и заболеваний внекишечной локализации», 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 ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016, № 748 от 02.08.2016, № 650 от 29.05.2017, № 1024 от 28.08.2017, № 1168 от 01.10.2018, № 426 от 20.03.2021 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а ее автор Макарова Мария Александровна заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Отзыв заслушан и одобрен на заседании кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России (протокол № 1 от 31.08.2021).

Отзыв составил:

Профессор кафедры

эпидемиологии, микробиологии и

доказательной медицины

ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России

доктор биологических наук, доцент

Заславская Майя Исааковна

Подпись доктора биологических наук, доцента Заславской М.И. заверяю

Ученый секретарь ФГБОУ ВО

«ПИМУ» Минздрава России

доктор биологических наук



Андреева Наталья Николаевна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России)

Минина и Пожарского пл., 10/1, г. Нижний Новгород, 603950, БОКС-470

тел.: (831) 422-12-50; факс: (831) 439-01-84

<http://pimunn.ru/>

e-mail: rector@pimunn.ru