

ОТЗЫВ

на автореферат кандидатской диссертации Карцева Николая Николаевича «МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНТЕРОТОКСИГЕННЫХ И ШИГА-ТОКСИН ПРОДУЦИРУЮЩИХ *ESCHERICHIA COLI*, ВЫДЕЛЕННЫХ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2011-2016 ГГ», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 03.02.03 — микробиология

Актуальность.

Escherichia coli – синантропные микроорганизмы желудочно-кишечного тракта человека. Они находятся в эпителиальной слизи, выстилающей кишечник, и, как правило, состоят в симбиотических отношениях с хозяином. Однако высокая пластичность генома этого вида бактерий дает огромный потенциал для развития и появления штаммов патогенных микроорганизмов из комменсальных штаммов. К появлению новых вариантов *E. coli* ведет обмен разных типов бактерий между собой и с другими представителями семейства *Enterobacteriaceae* мобильными генетическими элементами. Большое разнообразие факторов вирулентности привело к появлению разных патогенных групп, которые обладают различным физиопатологическим поведением. Патогенные изоляты *E. coli* являются основной причиной бактериальных диарей во всем мире.

Кишечные инфекции, вызываемые шига-токсинпродуцирующими штаммами *Escherichia coli* (STEC) — актуальная проблема общественного здравоохранения многих стран мира, включая высокоразвитые: США, Канаду, страны Европейского союза, Японию и др. Начиная с 1990-х гг. заболевания, обусловленные STEC-штаммами, регистрируют и в Российской Федерации. Способность производить шига-токсины (STX) является важной особенностью вирулентности шига-токсин производящей кишечной палочки (STEC). Эти мощные цитотоксины способны блокировать синтез белка путем инактивации рибосомы, и их действие на клетки-мишени несет ответственность за наиболее тяжелые последствия, вызванные болезнью, например, геморрагический колит (ГК) и угрожающий жизни гемолитико-уремический синдром (ГУС). Наибольшую опасность, особенно для детей младшего возраста и пожилых людей, представляет ГУС, при котором у больного развиваются острая почечная недостаточность, тромбоцитопения и гемолитическая анемия. Смертность среди пациентов с ГУС может достигать 10% и более; у 10–50% пациентов, перенесших ГУС, в течение длительного периода имеют место осложнения в

виде хронической почечной недостаточности, диабета, невралгических нарушений и других патологий. Эффективных методов лечения STEC-инфекций до настоящего времени не предложено; применение антибиотиков не рекомендуется, поскольку их использование повышает риск возникновения ГУС у детей и пожилых пациентов. Классический представитель ЕНЕС-группы — *E. coli* серотипа O157:H7, наиболее опасный патоген, с которым связаны крупные вспышки кишечных инфекций, зарегистрированные в разное время во многих странах мира, включая США, Канаду, Японию, европейские государства. В эти эпидемиологические вспышки были вовлечены сотни и тысячи человек, во всех случаях среди больных ГУС имели место летальные исходы. Кроме серотипа *E. coli* O157:H7 спорадически вспышечные случаи ГК могут вызывать *E. coli* других серогрупп, среди которых наиболее часто встречаются O26, O55, O103, O111, O121 и O145. *E. coli* этих серогрупп вызывают менее тяжелые формы болезни, чем *E. coli* O157:H7, однако обусловленные ими ГК и ГУС также могут сопровождаться летальными исходами. Известно, что STEC-штаммы, содержащие различные типы и аллельные варианты генов *stx*, заметно различаются по инфекционной способности и степени тяжести вызываемых ими заболеваний. Биологические и генетические свойства таких штаммов в настоящее время изучены слабо и нуждаются в дальнейших исследованиях.

В последние годы для эпидемиологического анализа вспышечных случаев кишечных инфекций на территории Российской Федерации, широко используют генетический анализ штаммов возбудителей. В связи с этим актуальность исследования, выполненного Карцевым Николаем Николаевичем, не вызывает сомнения. Поставленная автором цель и задачи конкретны и реализованы в полном объеме, что подтверждают полученные результаты, выводы и практические рекомендации.

Новизна исследования, полученных результатов, выводов, сформулированных в диссертационном исследовании.

В рамках работы получены новые данные о биологических и генетических особенностях штаммов диареегенных эшерихий, продуцирующих шига- и энтеротоксины, касающиеся их биохимических свойств, лекарственной чувствительности и генетических маркеров патогенности.

Установлена этиологическая роль *E. coli* серогрупп O26 и O142 в возникновении ряда эпизодов энтеротоксигенной инфекции, что является вкладом в изучение этиологической структуры данного заболевания. Диагностирована вспышка геморрагического колита и гемолитико-уремического синдрома у детей, вызванная одновременно энтерогеморрагическими штаммами *E. coli* двух серотипов: O157:H7 и O101:H33 и выявлен новый

этиологический агент геморрагического колита у детей - гибридный штамм *E. coli* серотипа O101:H33.

Определены сиквенс-типы энтеротоксигенных штаммов *E. coli*, среди которых 11 новых сиквенс-типов, не описанных ранее в мире (ST1043, ST1312, ST3697, ST3707, ST3708, ST3709, ST3710, ST3755, ST3756, ST3757 и ST4509), и известный сиквенс-тип ST4. У штамма *E. coli* серотипа O101:H33, продуцирующего шига-токсин, определён новый, ранее не описанный сиквенс-тип ST145.

Показано, что на территории Российской Федерации циркулируют антибиотикорезистентные энтеротоксигенные штаммы *E. coli*, несущие гены эпидемически значимых бета-лактамаз *bla*TEM и *bla*CTX-M-15, а также интегроны класса 1 с генетическими каскадами, определяющими устойчивость к аминогликозидам и сульфаниламидам – [*dfrA17-aadA5*] и [*dfrA12-aadA2*]. Выявлены мультирезистентные штаммы энтеротоксигенных *E. coli*, устойчивые к пяти функциональным классам антибактериальных препаратов и имеющие одновременно гены бета-лактамаз и интегроны класса 1.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов. Результаты диссертации представляют несомненный интерес для практики. Полученные в ходе работы данные свидетельствующие о продолжающейся в настоящее время эволюции патогенных штаммов *E. coli*. Обнаружение диссертантом новых вариантов этиологически значимых агентов расширяет знания в области эпидемиологии энтеротоксигенной инфекции и инфекции, вызванной штаммами *E. coli*, продуцирующими шига-токсины.

В Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболensk» депонированы 27 штаммов *E. coli*. В международной базе данных GenBank депонированы нуклеотидные последовательности генов вирулентности энтеротоксигенных *E. coli*, генов «домашнего хозяйства» *E. coli*, продуцирующих шига-токсин, детерминант антибиотикорезистентности *E. coli*, последовательность гена *wzm*O101 – ABC транспортёра пермеазы O-антигена штамма *E. coli* O101:H33.

В международной базе данных MLST аннотированы 11 энтеротоксигенных штаммов *E. coli*, имеющих новые сиквенс-типы: ST1043, ST1312, ST3697, ST3707, ST3708, ST3709, ST3710, ST3755, ST3756, ST3757 и ST4509, новые штаммы с сиквенс-типом ST4, а также шига-токсин продуцирующие штаммы *E. coli*, имеющие сиквенс-типы ST330 и ST11. В международной базе данных MLST Референс-центра по изучению *E. coli*, продуцирующих шига-токсины, аннотированы два новых сиквенс-типа штаммов *E. coli*, продуцирующих шига-токсин: ST145 и ST146.

Разработана тест-система, позволяющая идентифицировать ген синтеза специфического О-полисахарида штамма *E. coli* серогруппы O101 методом ПЦР с электрофоретической и гибридизационно-флуоресцентной детекцией. Разработаны и утверждены Методические рекомендации «Индикация и выделение шига-токсин продуцирующих *Escherichia coli* из клинического материала и продуктов питания с помощью полимеразной цепной реакции и иммуномагнитной сепарации», используемые для определения патогрупп, генов вирулентности и серогрупповой принадлежности диареогенных *E. coli*. Создана и охарактеризована рабочая коллекция из 405 штаммов патогенных *E. coli*, которая может быть использована в научных и практических целях в качестве источника контрольных и референс-культур при оценке новых антимикробных препаратов, бактериофагов, бактериоцинов и других антимикробных субстанций; для валидации новых методов детекции патогенных эшерихий, а также сравнительной характеристики вновь выделяемых патогенных эшерихий, в том числе - атипичных.

Достоверность результатов исследования.

Проведен достаточный объем исследований (на 810 штаммах *Escherichia coli*) с применением высокочувствительных и специфичных методик. Достоверность полученных в результате комплексного исследования и статистического анализа данных не вызывает сомнения, так как была обеспечена проведением экспериментов на сертифицированном оборудовании, использованием современных микробиологических, молекулярно-генетических, статистических и биоинформационных методов исследований.

Научные положения диссертации обсуждались в рамках конференций и съездов на местном, межрегиональном и международном уровнях. Основное содержание работы отражено в 15 печатных работах, в том числе: 8 - в рецензируемых изданиях и 7 - в сборниках материалов конференций.

Заключение. Таким образом, диссертационная работа Карцева Николая Николаевича на тему «Микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика энтеротоксигенных и шига-токсин продуцирующих *Escherichia coli*, выделенных в Российской Федерации в 2011-2016 гг.» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора ветеринарных наук, профессора Светоча Эдуарда Арсеньевича и кандидата биологических наук Фурсовой Надежды Константиновны, содержащей новое решение актуальной научной задачи – изучение энтеротоксигенных и шига-токсин продуцирующих эшерихий, имеющей существенное значение для микробиологии.

Диссертационная работа Карцева Николая Николаевича «Микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика энтеротоксигенных и шига-токсин продуци-

