

УТВЕРЖДАЮ
ВрИО директора ФБУН ЦНИИЭ
Роспотребнадзора академик РАН,
доктор медицинских наук,
профессор Акимкин В.Г.

«15» сентября 2018 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека на диссертационную работу Карцева Николая Николаевича «Микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика энтеротоксигенных и шига-токсин продуцирующих *Escherichia coli*, выделенных в Российской Федерации в 2011-2016 гг», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – «микробиология»

Актуальность темы исследования.

Острые кишечные инфекции (ОКИ), по - прежнему, представляют одну из наиболее актуальных проблем инфекционной патологии. По данным ВОЗ, ежегодно в мире регистрируется более 4 миллиардов случаев ОКИ, из них 60 % заболевших составляют дети до 3-х лет. Среди причин смертности детей острые кишечные инфекции стойко занимают 2-3-е место после заболеваний верхних дыхательных путей и ВИЧ-инфекции. Проблема ОКИ не менее значима и для отечественного здравоохранения. Вместе с тем, в течение двух последних десятилетий в нашей стране наблюдается отчетливое снижение регистрации эшерихиозов, тогда как, они широко распространены во всем мире и не утрачивают своих лидирующих позиций, особенно в этиологической структуре ОКИ у детей. Подавляющее большинство заболевших эшерихиозами (75%) - дети в возрасте до 14 лет. Снижение числа выявления эшерихиозов в настоящее время обусловлено, прежде всего, диагностическими сложностями. Дифференцировать различные группы диареогенных *Escherichia coli* при проведении классических микробиологических исследований в клинической

практике в последние годы стало затруднительно. Наиболее распространенным в практическом здравоохранении рутинным методом выявления диареогенных групп *E. coli* является определение их серогруппы/серотипа с последующим косвенным определением принадлежности изолята к одной из известных групп диареогенных *E. coli*. Прямые методы обнаружения специфических факторов вирулентности осуществляются с помощью биопроб, методов выявления специфических токсинов, способности адгезии к культурам клеток, а также выявления генов, кодирующих факторы вирулентности, с помощью ПЦР, применяются редко. В нашей стране клинико-эпидемиологические особенности и вопросы дифференциальной диагностики ОКИ, вызванных различными типами эшерихий, особенно энтеротоксигенными, энтерогеморрагическими, диффузно-прикрепляющимися изучены недостаточно, что требует продолжения исследований по данной проблеме и определения значимости диареогенных *Escherichia coli* в этиологии ОКИ у детей в современных условиях.

Диссертационная работа Карцева Н.Н. посвящена актуальной научной проблеме – микробиологической и молекулярно-генетической характеристике штаммов диареогенных *Escherichia coli*, выделенных в Российской Федерации в период с 2011-2016 годы. Методы, используемые диссертантом для решения поставленных задач, следует считать вполне адекватными для выполнения диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Степень новизны, обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

В ходе выполнения диссертационной работы автором получены новые данные о фенотипических и генетических особенностях штаммов диареогенных эшерихий, выделенных на территории Российской Федерации. В ходе исследования впервые был выделен и изучен штамм *E. coli* серогруппы O26, несущий ген термоллабильного энтеротоксина. Определены сиквенс-типы энтеротоксигенных штаммов *E. coli*, выделенных на территории Российской Федерации, среди которых 11 новых сиквенс-типов, не описанных ранее в мире. Установлено, 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. Описан новый этиологический агент геморрагического колита у детей - гибридный штамм *E. coli* серотипа O101:H33, содержащий гены, характерные для энтерогеморрагических и энтеротоксигенных штаммов *E. coli* одновременно. У штамма *E. coli* серотипа O101:H33, продуцирующего шига-токсин, определён новый сиквенс-тип ST145.

Связь новизны исследования с планами соответствующих отраслей науки.

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.» выполнена в рамках научно-исследовательской работы лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» (НИР 037 Роспотребнадзора 2011-2015 гг. «Совершенствование методов идентификации и изучение биологических, молекулярно-генетических, биохимических характеристик возбудителей клостридиозов, легионеллеза и листериоза и др. бактериальных пищевых инфекций, в том числе культур с атипичными свойствами», НИР 039 Роспотребнадзора 2011-2015 гг. «Совершенствование генодиагностики и генотипирования возбудителей бактериальных инфекций» и НИР049 Роспотребнадзора 2016-2020 гг. «Мониторинг и изучение свойств возбудителей пищевых и госпитальных инфекций, разработка средств их диагностики»). Работа включает в себе комплексное исследование, направленное на усовершенствование и оптимизацию приёмов и методов индикации диареогенных эшерихий.

Значимость для науки и производства полученных автором диссертации результатов.

Полученные в ходе выполнения диссертационной работы новые данные значимы в научном и прикладном отношении. Созданная и охарактеризованная коллекция штаммов патогенных *E. coli* разных патогрупп, депонированные в международных базах данных нуклеотидные последовательности и сиквенс-типы охарактеризованных штаммов могут быть использованы в научных и практических целях. Разработанные и утвержденные Методические рекомендации учрежденческого уровня «Индикация и выделение шига-токсинов продуцирующих *Escherichia coli* из клинического материала и продуктов питания с помощью полимеразной цепной реакции и иммуномагнитной сепарации» могут быть использованы диагностическими лабораториями для определения патогрупп, генов вирулентности и серогрупповой принадлежности диареогенных *E. coli*. Разработанная тест-система для идентификации *E. coli* серогруппы O101 методом ПЦР с электрофоретической и гибридизационно-флуоресцентной детекцией может заменить используемую в настоящее время серологическую идентификацию эшерихий серогруппы O101.

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

Результаты диссертационной работы были представлены, доложены и обсуждены на 11 Всероссийских и международных конференциях: Международной научно-практической конференции «От теории - к практике: вопросы современной ветеринарии, биотехнологии и медицины» (Саратов, 20-21 сентября 2011 г.); IV ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням, получен Диплом II степени в рамках конкурса молодых учёных (Москва, 26-28 марта 2012 г.); Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты анализа риска здоровью населения» (Пермь, 16-18 мая 2012 г.); III Межрегиональной научно - практической конференции «Инфекционные болезни взрослых и детей.

Актуальные вопросы диагностики, лечения и профилактики» (Астрахань, 24-25 сентября 2012 г.); 9th Annual Workshop of the National Reference Laboratories for *E. coli* in the EU (Рим, Италия, 20–21 октября 2014 г.); VII ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 30 марта - 1 апреля 2015 г.); Международной научно-практической конференции «Перспективы сотрудничества государств-членов Шанхайской организации сотрудничества в противодействии угрозе инфекционных болезней» (Сочи, 25-26 мая 2015 г.); Российско-китайской научно-практической конференции по медицинской микробиологии и клинической микологии (XVIII Кашкинские чтения, Санкт-Петербург, 9-11 июня 2015 г.); VIII Ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 28-30 марта 2016 г.); II Национальном конгрессе бактериологов «Состояние и тенденции развития лабораторной диагностики инфекционных болезней в современных условиях» (Санкт-Петербург, 27-29 сентября 2016 г.); Научно-практической конференции «Современные технологии в клинической микробиологии» (Москва, 01 марта 2017 г.).

Апробация диссертации состоялась на заседании межлабораторного семинара ФБУН ГНЦ ПМБ 12 сентября 2017 г. Основное содержание работы отражено в 15 научных публикациях, в том числе 6 статей в рецензируемых изданиях, 2 тезисов в рецензируемых изданиях, 7 тезисов в материалах Всероссийских и международных конференций.

Диссертация написана в традиционной форме и включает в себя Введение, Обзор литературы, описание Материалов и методов, четыре главы Собственных исследований, Заключение, Выводы, Практические рекомендации, Перспективы дальнейшей разработки темы, Списка сокращений и Списка литературы, включающего 195 источников, из них 14 работ отечественных и 181 работу зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 16 рисунками и 20 таблицами, включает одно Приложение.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы.

На основании результатов диссертационной работы Карцева Н.Н. может быть рекомендовано при анализе случаев ОКИ на этапе первичного неселективного обогащения образцов клинического материала и пищевых продуктов определять наличие O-серогрупп-специфичных генов основных доминирующих серогрупп шига-токсин продуцирующих штаммов *E. coli* методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флюоресцентной детекцией. При изучении вспышечных и спорадических случаев энтеротоксигенных и энтерогеморрагических эшерихиозов можно рекомендовать проведение мультилокусного сиквенс-типирования выделенных патогенных штаммов *E. coli* по схеме университета Warwick, на основании проведённого сиквенс-типирования осуществлять филогенетическую реконструкцию взаимосвязей выделенных штаммов.

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 продуцирующих *Escherichia coli*, выделенных в Российской Федерации в 2011-2016 гг», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 -

микробиология, по актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями Постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. №335, от 02 августа 2016 г. №748, от 29 мая 2017 г. №650, от 28 августа 2017 г. №1024 «О внесении изменений в Положение о присуждении учёных степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор Карцев Николай Николаевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 - микробиология.

Отзыв заслушан и одобрен на заседании ученого совета ФБУН «ЦНИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора (протокол №1 от 27.02.2018)

Заведующий лабораторией молекулярной диагностики и эпидемиологии кишечных инфекций Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,
доктор медицинских наук



Подколзин Александр Тихонович

Адрес: 111123, Москва, ул. Новогиреевская 3а
Тел.: +7(495)6721201
E-mail: crie@pcr.ru

Подпись Подколзина Александра Тихоновича «Заверяю»:

Ученый секретарь Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека



Никитина Т.С.

«15» сентября 2018 г.