

**Федеральное бюджетное учреждение науки «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека**

«УТВЕРЖДАЮ»

**Директор ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии»
доктор медицинских наук**


В.Б. Зиятдинов
« 01 » декабря 2020 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации Бржозовской Екатерины Анатольевны «Фенотипические и молекулярно-генетические характеристики носоглоточных *Streptococcus pneumoniae* с множественной лекарственной устойчивостью, выделенных у детей в 2010-2017 гг.», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – Микробиология.

Актуальность темы диссертационного исследования

Диссертационная работа Бржозовской Екатерины Анатольевны посвящена анализу уровня антибиотикорезистентности к широкому спектру антимикробных препаратов среди пневмококков с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) и исследованию серотипового состава анализируемой выборки, а также особенностей формирования устойчивости и ее распространения среди идентифицированных серотипов *S. pneumoniae* и молекулярных механизмов устойчивости в популяции пневмококков,

испытывающей постоянное давление под действием противопневмококковой вакцинации и антибиотикотерапии. Для получения сведений о антибиотиках, к которым демонстрировали устойчивость подавляющая часть исследуемых изолятов МЛУ-пневмококков, автором было проведено исследование минимальной подавляющей концентрации к 10 группам антимикробных препаратов методом микроразведений антибиотика в бульоне.

В связи с успешным развитием молекулярно-генетических технологий в последние годы возросло число работ, посвященных исследованию генетических особенностей и эволюции *S. pneumoniae*, претерпевающих изменения под влиянием вакцинации и антимикробной терапии. При помощи метода мультилокусного сиквенс-типирования МЛУ-изолятов *S. pneumoniae* было выявлено 12 новых сиквенс-типов (ST) и 7 новых аллелей генов домашнего хозяйства пневмококков. Кроме того, становится возможным исследовать феномен замещения серотипов пневмококков, выявить события переключения капсульного локуса *cps* и распространения успешных невакцинных клонов. В связи с этим, в работе был охарактеризован редкий клон пневмококков ST2754 и пневмококк серотипа 15А, обладающий нетипичным сиквенс-типом, возникший в результате переключения локуса полисахаридной капсулы *cps*.

Связь работы с планом соответствующих научных исследований

Исследование Бржозовской Е.А. выполнено в соответствии с планом научно-исследовательской работы ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, тема диссертационной работы «Фенотипические и молекулярно-генетические характеристики носоглоточных *Streptococcus pneumoniae* с множественной лекарственной устойчивостью, выделенных у детей в 2010-2017 гг.», утверждена на заседании Ученого совета ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России 26 января 2016 года (протокол №1).

Научная новизна исследования и полученных результатов

Очевидная научная новизна проведенного диссертационного исследования определяется эпидемиологической составляющей работы - впервые были охарактеризованы серотипы циркулирующих МЛУ-изолятов пневмококков и выявлены преобладающие ПКВ13-серотипы - 19F, 6B, 14, 19A, 23F, а также серотипы, не входящие в 13-валентную пневмококковую конъюгированную вакцину, а именно серотипы 23A, 13, 28F и 11A. В исследовании впервые проведено изучение профиля антибиотикорезистентности МЛУ-пневмококков с определением минимальной подавляющей концентрации к десяти группам антибиотиков, автором описаны преобладающие фенотипы устойчивости и механизмы резистентности.

В процессе исследования впервые охарактеризован новый клон пневмококков ST2754 серотипа 13, получивший распространение в РФ. Также обнаружен пневмококк серотипа 15A ST14599 с множественной лекарственной устойчивостью, возникший в результате переключения локуса полисахаридной капсулы *cps* у пневмококка серотипа 19A. Проведена характеристика его генома с использованием секвенирования нового поколения, последовательность была аннотирована и депонирована в международную базу данных GenBank (регистрационный номер WMIJ01000000).

На основе полученных в диссертационной работе результатов выявлено 12 новых сиквенс-типов и 7 новых аллелей генов домашнего хозяйства пневмококков, информация о которых была экспортирована в международную базу данных PubMLST. Всего в эту базу данных была депонирована информация о 21 изоляте пневмококков. Таким образом, научная новизна диссертационной работы Бржозовской Е.А. и полученных ею результатов не вызывает сомнений. О достоверности полученных результатов, сформулированных выводов и научных положений свидетельствует и

использование современных методов оценки и анализа данных полногеномного секвенирования и применение адекватных методов статистической обработки полученных данных.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов

Результаты, полученные в диссертационном исследовании Бржозовской Екатерины Анатольевны, позволяют получить актуальные сведения об уровне антибиотикорезистентности циркулирующих педиатрических штаммов *S. pneumoniae* и преобладании среди анализируемой коллекции МЛУ-пневмококков ПКВ13 серотипов. Полученные данные свидетельствуют о влиянии вакцинации на изменение серотипового состава. Определены антибиотики, к которым подавляющее большинство МЛУ-изолятов *S. pneumoniae* сохраняют чувствительность, а именно цефтриаксон, цефтаролин, фторхинолоны и ванкомицин, что следует принимать во внимание при выборе терапии инфекций, ассоциированных с резистентными пневмококками.

Экспансия в России редкого МЛУ-клона ST2754 и описание рекомбинантного изолята серотипа 15А нового ST14599, появившегося в результате геномной перестройки локуса полисахаридной капсулы *cps* свидетельствуют о пластичности популяции пневмококков под воздействием селективного давления антибиотикотерапии и вакцинации. Вышеизложенное определяет значимость работы Бржозовской Е.А. для теоретической медицины и медико-биологических наук и вносит фундаментальный вклад в понимание эволюции *S. pneumoniae*.

Результаты диссертационной работы внедрены в научно-практическую работу лаборатории молекулярной микробиологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, используются в работе лаборатории клинической бактериологии Российской детской клинической больницы ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, а также внедрены в обучающие материалы по рациональной антибиотикотерапии кафедры общей

патологии медико-биологического факультета ФГАУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России.

Личный вклад автора

Диссертационная работа и автореферат являются самостоятельным научным трудом автора. Личный вклад автора осуществлялся на всех этапах выполнения диссертационной работы, что представлено в публикациях, в докладах на конференциях и внедрениях в клиническую практику. Автором выбрано направление исследования, подготовлен обзор данных отечественной и зарубежной литературы, сформулированы цели и задачи диссертационной работы, определен набор необходимых для получения объективных результатов лабораторных методов исследования, проведен сбор и анализ данных, а также выполнено обобщение полученных результатов.

Соответствие специальности

Диссертационная работа Бржозовской Е.А. на тему «Фенотипические и молекулярно-генетические характеристики носоглоточных *Streptococcus pneumoniae* с множественной лекарственной устойчивостью, выделенных у детей в 2010-2017 гг.» соответствует специальности 03.02.03 – микробиология.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Полученные результаты и выводы диссертационной работы, несомненно, имеют важное научно-практическое значение и могут быть рекомендованы для внедрения в клиническую практику, а также в программы мониторинга уровня резистентности пневмококков. Представленные на основе полученных результатов научные положения и практические рекомендации внедрены в работу лаборатории молекулярной микробиологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России и используются в работе лаборатории клинической бактериологии Российской детской клинической больницы ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России. Результаты исследования используются в учебной программе по

рациональной антибиотикотерапии кафедры общей патологии медико-биологического факультета ФГАУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России.

Публикации

Основные результаты настоящего диссертационного исследования отражены в 7 публикациях, в том числе 7 статей опубликованы в журналах, рекомендованных ВАК. Четыре публикации опубликованы в журналах индексируемых базами данных Web of Science и Scopus.

Содержание диссертации и степень ее завершенности

Диссертационная работа Бржозовской Екатерины Анатольевны построена традиционно и изложена на 120 страницах и состоит из введения, обзора литературы, посвященному устойчивости *S. pneumoniae* к различным антимикробным препаратам, серотиповому разнообразию и стратегии противопневмококковой вакцинации; также работа содержит главу «Материалы и методы», в которой приводятся описание используемых в данной диссертационной работе современных методов, глав с собственными результатами исследования, а также их обсуждением и списка используемой литературы, состоящего из 184 отечественных и зарубежных источников. Материал излагается в логичной последовательной форме и снабжен иллюстративным материалом, включающим 9 рисунков и 12 таблиц.

Во введении автор предоставляет информацию об актуальности диссертационной работы на основе краткого аналитического обзора литературы, исходя из которого автор четко формулирует цель и задачи диссертационной работы и информативно излагает научную новизну, а также теоретическую и практическую значимость работы. Также во введении четко изложены основные положения, методология исследования, приведена информация о личном вкладе автора, апробации основных результатов исследования и полноте их представления в научных публикациях.

Первая глава представляет собой аналитический обзор литературы, посвященный описанию уровня резистентности *S. pneumoniae* к различным группам антимикробных препаратов, наиболее часто встречающимся механизмам устойчивости, эпидемиологии серотипов, вакцинации. Кроме того, приводятся данные о явлении замещения серотипов под действием внешних факторов на пневмококковую популяцию.

Во второй главе «Материалы и методы» автором описываются используемые современные бактериологические и молекулярно-генетические методы, а также дается описание метода полногеномного секвенирования и программ и ресурсов биоинформационной обработки данных, а также статистических методов.

Далее следует раздел «Результаты и обсуждение» - наиболее объемная часть диссертационной работы, состоящая из трех глав собственных исследований. Диссертант подробно описывает полученные в ходе работы результаты, посвященные распространенности резистентности к антибиотикам и эпидемиологии серотипов МЛУ-пневмококков. Автор приводит перечень доминирующих серотипов пневмококков, обладающих наибольшей устойчивостью, а также приводит данные спектра устойчивости к 10 исследуемым группам антибиотиков методом микроразведений антибиотика в бульоне среди изучаемой коллекции МЛУ-*S. pneumoniae*. Далее соискатель представляет анализ генотипов не-ПКВ13 серотипов пневмококков с множественной лекарственной устойчивостью и приводит характеристику появившегося редкого клона ST2754 серотипа 13. Так, 478 анализируемых МЛУ-изолятов пневмококков были представлены 24 серотипами, из которых 44 изолята были носителями 16 не-ПКВ13-серотипов, представленных 23 сиквенс-типами, пять из которых (14416, 14599, 14692, 14693 и 14694) были описаны впервые). Большинство генотипов МЛУ-не-ПКВ13-пневмококков характеризовалось устойчивостью к макролидам, линкозамидам, тетрациклинам и сульфаниламидам. Также была выявлено, что отсутствием типичной связи генотип-серотип выделялись МЛУ-пневмококки

распространенного в исследуемой в диссертационной работе ST2754. Заключительная глава собственных результатов посвящена описанию изолята пневмококка серотипа 15А с множественной лекарственной устойчивостью, возникшего в результате переключения локуса полисахаридной капсулы *cps* у пневмококка серотипа 19А.

Представленные в диссертационной работе выводы в полной мере отражают полученные результаты, являются обоснованными и соответствуют проведенным в рамках работы исследованиям. Большинство результатов, представленных в диссертационной работе, опубликованы в реферируемых зарубежных и российских журналах и представлены на отечественных и международных конференциях. В целом, все представленные в работе данные достоверны. Список использованной литературы состоит из достаточного количества литературных источников, а именно из 25 ссылок на отечественные работы и публикации и 159 ссылок на зарубежные источники.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертационная работа выполнена на высоком научном и методическом уровне. Все материалы в работе Бржозовской Екатерины Анатольевны изложены в логичной последовательности, цели и задачи четко сформулированы автором, корректны и соответствуют объему проведенных исследований. Объем изучаемой выборки МЛУ-изолятов *S. pneumoniae* является достаточным для проведения статистического анализа. В работе используются как классические бактериологические методы, так и современные молекулярно-генетические методы исследования.

У ведущей организации отсутствуют принципиальные замечания, однако возникло несколько вопросов к диссертанту:

1. Какое влияние оказывает вакцинация ПКВ13 на серотиповой состав пневмококков с множественной лекарственной устойчивостью?
2. Чем объясняется высокий процент выделения МЛУ-изолятов *S. pneumoniae* таких не-ПКВ13-серотипов, как 13, 11А, 23А и 28F?

3. Какова, по мнению автора, перспектива молекулярно-эпидемиологического мониторинга циркулирующих штаммов *S. Pneumoniae*?

Тем не менее, поставленные вопросы не носят принципиального характера и не оказывают влияния на общую оценку представленной диссертационной работы Бржозовской Екатерины Анатольевны, а отражают перспективность дальнейшего развития данной тематики. Таким образом, автором выполнено значительное по объему оригинальное квалификационное научное исследование, результаты которого имеют как теоретическую, так и практическую ценность.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Бржозовской Екатерины Анатольевны «Фенотипические и молекулярно-генетические характеристики носоглоточных *Streptococcus pneumoniae* с множественной лекарственной устойчивостью, выделенных у детей в 2010-2017 гг.», выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора РАН Маянского Николая Андреевича и представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология, является законченной и самостоятельной научно-квалификационной работой с высокой степенью научной новизны и полученные в ходе данной работы результаты тщательно проанализированы и не вызывают сомнений. Ценность научной работы соискателя можно квалифицировать как достаточно высокую.

По актуальности темы, новизне полученных в работе результатов, научной и практической значимости диссертация полностью соответствует требованиям п. 16 «Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденным приказом ректора ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России Сеченовский Университет) от 31.01.2020 г. №0094/Р,

предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Бржозовская Екатерина Анатольевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Отзыв ведущей организации на диссертационную работу Бржозовской Е.А. «Фенотипические и молекулярно-генетические характеристики носоглоточных *Streptococcus pneumoniae* с множественной лекарственной устойчивостью, выделенных у детей в 2010-2017 гг.» обсужден и одобрен на заседании Ученого совета ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора РФ (протокол № 6 от 26.11.2020).

Доктор медицинских наук,
03.02.03 – микробиология (медицинские науки),
заместитель директора по
инновационному развитию
ФБУН «Казанский научно-исследовательский
институт эпидемиологии и микробиологии»
Роспотребнадзора РФ
30.11.2020

Г.Ш. Исаева

Федеральное бюджетное учреждение науки «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 420015, г. Казань, ул. Большая Красная, д.67; 8 (843) 236-67-81; e-mail: kniem@mail.ru,

Подпись заверяю
Начальник ОК

01.12.2020

