

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Буй Тхи Лан Ань на тему: «Характеристика штаммов *Burkholderia pseudomallei* и близкородственных буркхольдерий, выделенных на территории Социалистической Республики Вьетнам, и совершенствование алгоритмов их идентификации», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 – микробиология

Проблема мелиоидоза – особо опасной инфекции, как правило, приводящей к развитию сепсиса и летальному исходу, крайне актуальна для Вьетнама как одного из эндемичных по этой болезни регионов мира. Об этом свидетельствует выделение в последние годы от больных довольно большого числа штаммов возбудителя – *Burkholderia pseudomallei*, который также находит благоприятные условия для длительного существования в объектах окружающей среды (почвах и стоячих водоемах). Сложность выделения и идентификации буркхольдерий связана с вариабельностью их культурально-морфологических и биохимических признаков, особенно в случаях атипичных региональных штаммов. Несмотря на достигнутые в последние годы успехи в улучшении лабораторной диагностики мелиоидоза во Вьетнаме, ее эффективность все еще оставляет желать лучшего. Методы генодиагностики также требуют значительного совершенствования.

Представленная к защите диссертационная работа посвящена комплексному изучению диагностически значимых фено- и генотипических признаков вьетнамских штаммов *B.pseudomallei* в целях разработки наиболее адекватных протоколов для их выявления и идентификации.

Для решения поставленных задач на первом этапе был детально изучен диапазон изменчивости культурально-морфологических признаков и диагностически значимых показателей антибиотикорезистентности большой группы штаммов различного происхождения, выделенных в нескольких провинциях Вьетнама. Следует отметить, что почвенные штаммы были выделены лично диссертантом и при этом путем сравнительных исследований эффективности методов первичной обработки образцов подобран оптимальный по соотношению «эффективность – трудоемкость» метод прямого культивирования.

Популяция оказалась вариабельной по фенотипическим свойствам, в ее состав входили как типичные, так и атипичные штаммы, что указывало на недостаточность подходов к идентификации, традиционно используемых в лабораториях страны. Применение метода ПЦР позволило выявить ошибки первичной идентификации и видовой дифференциации при использовании коммерческих автоматических биохимических анализаторов. Данные ПЦР были подтверждены результатами MLST и анализа секвенированных автором полных геномов и их участков.

Соискателем выполнен большой объем исследований по сравнительной оценке эффективности разных методов при выявлении не только типичных, но и атипичных штаммов, которые представляют особые сложности идентификации,

поскольку часто утрачивают свойства, считающиеся диагностически значимыми (например, чувствительность к гентамицину) либо, наоборот, приобретают (устойчивость к амоксициллин/клавулонату).

Интересные результаты получены при мультилокусном сиквенс-типировании выборки клинических и почвенных штаммов возбудителя. Были выявлены как известные сиквенс-типы, характерные и для других эндемичных по мелиоидозу регионов мира, так и так и новые («молодые»), ранее нигде не обнаруженные. Таким образом, вьетнамская субпопуляция оказалась гетерогенной не только по фенотипическим, но и по генотипическим свойствам. Эти приоритетные данные имеют не только теоретическую значимость, но и практическую, указывая на географическую приуроченность определенных сиквенс-типов к тем или иным территориям Вьетнама, что может оказать помощь при поиске в них и идентификации штаммов *B.pseudomallei*.

Исследования, направленные на поиск потенциальных детерминант резистентности к аминогликозидам, привели к выявлению точковых миссенс-мутаций в ряде генов, наличием которых, очевидно, обусловлены изменения в экспрессии чувствительности/устойчивости к гентамицину.

Поскольку ранняя диагностика мелиоидоза имеет решающее значение для исхода заболевания, возникает острая необходимость более широкого внедрения в практику молекулярно-генетических методов. Соискателем самостоятельно сконструированы несколько пар праймеров для выявления *B.pseudomallei* методами ПЦР и LAMP. Они обладали достаточно высокой специфичностью и чувствительностью при работе с чистыми культурами, однако дальнейшая апробация показала, что при детекции возбудителя в пробах почвы предпочтение следует отдавать ПЦР, тогда как применение LAMP по ряду причин признано нецелесообразным. Автором разработан соответствующий ПЦР-протокол, обладающий более высокими показателями диагностической эффективности.

Отдельную ценность представляет создание коллекции охарактеризованных штаммов буркхольдерий комплекса «*B. pseudomallei*», которая может быть использована при дальнейшем совершенствовании средств диагностики мелиоидоза.

Обращает на себя внимание большой объем проделанной работы, высокий методический уровень проведенных исследований, корректное и наглядное представление полученных данных и их грамотное обсуждение, что является показателем научной зрелости соискателя. Выводы полностью соответствуют поставленным задачам.

Изложенное позволяет заключить, что представленная к защите диссертация Буй Тхи Лан Ань является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных исследований решена важная для здравоохранения Вьетнама научно-практическая задача идентификации штаммов *B. pseudomallei* и их дифференциации от близкородственных видов. По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, объему и методическому уровню проведенных исследований, качеству изложения и репрезентативности фактиче-

Главный научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора,
доктор биологических наук,
старший научный сотрудник

Epica

Федеральное казённое учреждение здравоохранения «Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора (ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт)

e-mail monakhova ev@antiplague.ru

Ростовский-на-Дону противочумный
институт Роспотребнадзора

Bobich

05.10.2021 г.

