



Федеральная служба по надзору в сфере защиты
прав потребителей и благополучия человека

Федеральное казённое учреждение
здравоохранения «Ставропольский научно-
исследовательский противочумный
институт» Федеральной службы по надзору
в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека
(ФКУЗ Ставропольский противочумный институт
Роспотребнадзора)

355035, г. Ставрополь, ул. Советская, д.13-15

Тел/факс: (865-2) 26-03-12

E-mail: stavnipchi@mail.ru

ОКПО 01897080 ОГРН 1022601949930

ИНН 2636000641 КПП 263601001

15.09.2021 № 16-30-06/11-1646-2021
на № _____ от _____

Председателю диссертационного
совета 64.1.002.01
ФБУН ГНЦ ПМБ

академику РАН, д.м.н., профессору

И.А. Дятлову

[О направлении отзыва ведущей
организации на диссертацию]

Уважаемый Иван Алексеевич!

Направляю отзыв ведущей организации на диссертацию Буй Тхи Лан
Ань «Характеристика штаммов *Burkholderia pseudomallei* и
близкородственных буркхольдерий, выделенных на территории
Социалистической Республики Вьетнам, и совершенствование алгоритмов их
идентификации», представленную на соискание учёной степени кандидата
биологических наук по специальности 1.5.11 – микробиология.

Приложение: отзыв на 5 л. – 2 экз.

Директор института,
член-корр. РАН

А.Н. Куличенко

Василенко Н.Ф.
(8652) 26-03-12

УТВЕРЖДАЮ»
Директор ФКУЗ Ставропольский
противочумный институт,
член-корр. РАН, д.м.н.,
профессор
А.Н. Куличенко
2021 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального казённого учреждения здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека о научно-практической ценности диссертации БУЙ ТХИ ЛАН АНЬ «Характеристика штаммов *Burkholderia pseudomallei* и близкородственных буркхольдерий, выделенных на территории Социалистической Республики Вьетнам, и совершенствование алгоритмов их идентификации», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 – микробиология

Актуальность темы диссертационного исследования. Возбудитель мелиоидоза *Burkholderia pseudomallei* относится к группе особо опасных инфекций и включён в список потенциальных агентов биотерроризма как в Российской Федерации, так и за рубежом. Естественной средой обитания *B. pseudomallei* являются почва и воды стоячих и медленно текущих водоёмов тропических и субтропических регионов мира. Клинические проявления мелиоидоза у людей разнообразны, летальность составляет от 50 до 90 % (при септическом шоке). Возбудитель мелиоидоза распространён в странах Юго-Восточной Азии и Австралии, немногочисленные случаи мелиоидозной инфекции зарегистрированы на Филиппинах, в Африке, Америке и Европе. Способен поражать многие виды животных.

Вьетнам был одной из первых стран, в которой описан мелиоидоз. Природные условия преобладающей части Вьетнама являются оптимальными для сапрофитического существования возбудителя. К настоящему времени потенциал различных естественных экотопов как экологических резервуаров *B. pseudomallei* во Вьетнаме практически не изучен и систематического изучения данной проблемы не проводилось. Кроме того, в стране отмечается низкая информированность об этой опасной инфекции как среди медицинских работников, так и среди населения. Другая важная проблема – неправильная идентификация *B. pseudomallei*, в связи с отсутствием высокоэффективных коммерческих автоматизированных систем биохимической идентификации

возбудителя мелиоидоза. Отсюда следует, что для понимания спектра генетического и фенотипического разнообразия региональных штаммов *B. pseudomallei*, важного для повышения эффективности лабораторной диагностики инфекции, необходимо расширение объёма исследований как клинических, так и почвенных штаммов возбудителя.

В связи с этим, актуальность избранной темы диссертации, целью которой было комплексное изучение диагностически значимых генетических и фенотипических особенностей вьетнамских природных и клинических штаммов *B. pseudomallei*, не вызывает сомнений.

Новизна исследований и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Диссертация отличается использованием новаторских решений и существенной новизной полученных результатов. Так, впервые показан широкий диапазон морфологической вариабельности вьетнамских штаммов *B. pseudomallei*. В отличие от штаммов северо-восточного Таиланда, вьетнамские изоляты возбудителя мелиоидоза не имеют единого доминантного морфотипа и у разных штаммов доминируют разные морфологические варианты колоний. Обнаружены морфотипы, не представленные среди основных морфотипов штаммов северо-восточного Таиланда.

Впервые во Вьетнаме обнаружены редко встречающиеся штаммы *B. Pseudomallei*, полностью или умеренно чувствительные к гентамицину и штаммы *B. thailandensis*, экспрессирующие *B. pseudomallei*-подобный капсульный полисахарид. Впервые показан потенциал теста на утилизацию малоната, входящего в панель тестов для автоматизированного анализа, для дифференциации *B. pseudomallei* и *B. thailandensis*. Установлена генетическая гетерогенность вьетнамской популяции возбудителя мелиоидоза как между двумя макрорегионами страны, так и внутри каждого из них.

Впервые показано, что клональные комплексы, включающие исследованные в настоящей работе штаммы, содержат сиквенс-типы (ST) штаммов всех известных эндемичных по мелиоидозу регионов мира, причем в трёх из них ST штаммов из Вьетнама являются комплексобразующими. Выявлено 6 новых, так называемых «молодых» ST, до настоящего времени нигде более не обнаруженных и имеющих терминальную локализацию на филогенетических линиях.

Впервые во Вьетнаме разработаны собственные генодиагностические тест-системы для выявления и идентификации возбудителя мелиоидоза.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов. Данные, полученные в ходе выполнения работы, представляют научный интерес и имеют практическую значимость.

Автором получены экспериментальные данные, подтверждающие гипотезу, что субрегион Меконга (Таиланд, Лаос, Камбоджа и Вьетнам) исторически являлся горячей точкой эволюции *B. pseudomallei* в Юго-Восточной Азии, а также свидетельства эволюционных событий, продолжающихся в популяции вьетнамских штаммов *B. pseudomallei* и в настоящее время («молодые» ST).

Созданный набор клинических и почвенных штаммов возбудителя мелиоидоза и близкородственных буркхольдерий использован в работе Референс-центра по мониторингу за возбудителем мелиоидоза ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора для тестирования разработанных экспериментальных серий Диагностикума для выявления возбудителей мелиоидоза и сапа в реакции латексагглютинации и генодиагностического набора «Амплиген*Burkholderia/pseudomallei*-PB».

Использование расширенного набора штаммов *B. thailandensis*, отсутствующих в коллекциях Российской Федерации, позволяет проводить объективную оценку специфичности разрабатываемых средств выявления возбудителя мелиоидоза. Секвенированы, аннотированы и депонированы в GenBank NCBI шотган полногеномные сиквенсы 7 клинических и 6 почвенных штаммов *B. pseudomallei* и штамма *B. ceracia* PT02. В международной базе данных PubMLST размещены аллельные профили 16 штаммов *B. pseudomallei* и одного – *B. ceracia*. (международный уровень внедрения).

Материалы диссертации были использованы при подготовке практического руководства «Лабораторный скрининг и идентификация *Burkholderia pseudomallei*» под редакцией А. В. Топоркова, А. Н. Кузнецова, Х. Зы Нгуен, изданного на русском и вьетнамском языках.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений. Диссертация выполнена в рамках совместной российско-вьетнамской НИР № государственной регистрации АААА-А18-118032790070-8. Основные положения диссертации и выводы соответствуют задачам исследования и базируются на авторских данных, изложенных в контексте современных представлений о филогении возбудителя мелиоидоза. Полученные данные представляются убедительными, а научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, являются вполне обоснованными. Достоверность материалов диссертации подтверждена достаточным количеством исследованных штаммов (109 клинических и 27 природных штаммов *Burkholderia spp.* из коллекции Института тропической медицины Российско-Вьетнамского Тропического научно-исследовательского и

технологического центра (г. Ханой), экспериментальными данными и результатами их обработки в современных компьютерных программах.

Личный вклад соискателя. Автором совместно с научным руководителем к.б.н., доцентом И.Б. Захаровой разработаны алгоритм выполнения и структура диссертационной работы. Непосредственно автором был проведён анализ литературы по проблеме исследования. Вклад соискателя в получение и обработку экспериментальных данных является основным. Соискателем выполнена окончательная идентификация всех клинических и почвенных штаммов возбудителя мелиоидоза, вошедших в коллекцию буркхольдерий комплекса «*B. pseudomallei*» из различных регионов Вьетнама.

Оценка структуры и содержания диссертации, соответствия требованиям, предъявляемым к диссертациям. Диссертация написана по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, включающих материалы и методы, 5 глав экспериментальных исследований, заключения, выводов, перечня сокращений и списка литературы. Рукопись диссертационной работы изложена на 126 листах компьютерного текста и иллюстрирована 17 таблицами и 27 рисунками. Следует отметить высокое качество рисунков. Список литературы включает 122 источника, в том числе 6 на русском языке и 116 на английском, за последние 20 лет – 105 (86,1 %) источников.

В целом, диссертация производит благоприятное впечатление своей завершённой, поскольку все поставленные задачи решены, как следует из выводов, и цель исследования достигнута, а также системностью подхода и последовательностью решения задач. Работа написана хорошим языком, текст достаточно выверен.

Аннотация диссертации полностью соответствует основным положениям диссертации.

Основные результаты диссертационных исследований изложены в 16 опубликованных работах, в том числе 2 – в рецензируемых периодических изданиях, индексируемых WoSCC и SCOPUS, 1 – в практическом руководстве, 1 – в коллективной монографии, 2 – в других зарубежных журналах и 10 – в тезисах материалов международных и Всероссийских научных конференций.

Рекомендации по использованию результатов диссертационного исследования. Результаты диссертационного исследования могут быть использованы в качестве научной основы при проведении презумптивной идентификации *B. pseudomallei* с учётом вариабельности признака устойчивости к гентамицину. Созданная коллекция буркхольдерий комплекса «*B. pseudomallei*» может быть использована при разработке средств

диагностики мелиоидоза. Полученные данные о географической приуроченности сиквенс-типа *B. pseudomallei* по макрорегионам страны могут быть полезны при изучении различных аспектов эпидемиологии мелиоидоза.

Заключение

Диссертационная работа Буй Тхи Лан Ань «Характеристика штаммов *Burkholderia pseudomallei* и близкородственных буркхольдерий, выделенных на территории Социалистической Республики Вьетнам, и совершенствование алгоритмов их идентификации», выполнена на актуальную тему, является самостоятельной и завершённой научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи комплексного изучения диагностически значимых генетических и фенотипических особенностей вьетнамских природных и клинических штаммов *B. pseudomallei*, имеющей существенное значение для совершенствования лабораторной диагностики мелиоидоза.

Работа Буй Тхи Лан Ань полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. (с изменениями и дополнениями), предъявляемым к кандидатским диссертациям, соответствует паспорту специальности 1.5.11 – микробиология, а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по заявленной специальности.

Отзыв обсуждён и одобрен на межлабораторной конференции лаборатории эпидемиологии, лаборатории диагностики бактериальных инфекций и лаборатории диагностики вирусных инфекций ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора (Протокол от 15.09.2021 года № 8).

Заместитель директора
по научной и противоэпидемической
работе, д.м.н., профессор

О.В. Малецкая

Главный научный сотрудник лаборатории
эпидемиологии, д.б.н., профессор

Н.Ф. Василенко

Заведующий лабораторией диагностики
вирусных инфекций, к.б.н.

А.С. Волынкина

Подписи О.В. Малецкой, Н.Ф. Василенко и А.С. Волынкиной заверяю:
Начальник отдела кадров ФКУЗ Ставропольский противочумный институт
Роспотребнадзора



С.М. Исмаилова

Сведения о ведущей организации:

Федеральное казённое учреждение здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
(ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора)

355035, г. Ставрополь, ул. Советская, д.13-15

Тел/факс: (865-2) 26-03-12

E-mail: stavnipchi@mail.ru