

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

комиссии диссертационного совета Д 350.002.01 при Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора Российской Федерации по докторской диссертации **Хохловой Ольги Евгеньевны** на тему: «Молекулярно-генетические особенности нозокомиальных и внебольничных MRSA и их роль в развитии инфекционных заболеваний различного генеза», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология

### **Соответствие специальности, по которой совету предоставлено право защиты.**

Диссертация Хохловой Ольги Евгеньевны выполнена на современном научно-методическом уровне с использованием широкого спектра методов исследований: бактериологических, молекулярно-генетических, серологических, биоинформационных и методов статистической обработки результатов. Комиссия считает, что исследования по определению клональной принадлежности штаммов MRSA; установлению роли молекулярно-генетических особенностей штаммов MRSA в развитии инфекционных заболеваний различного генеза, представленные в данной диссертационной работе, имеют важное значение для фундаментальной науки в плане эволюции MRSA и их вирулентности и антибиотикорезистентности, а также в направлении совершенствования существующих методов определения клональной принадлежности штаммов MRSA, для оптимизации профилактики и лечения инфекций, вызванных MRSA.

Члены комиссии считают, что диссертация Хохловой Ольги Евгеньевны полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г., в редакции постановления Правительства РФ №335 от 21.04.2016 г., предъявляемым к докторским диссертациям, и рекомендуется к защите по специальности 03.02.03 – микробиология.

### **Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных автором.**

По теме диссертации опубликовано 59 печатных работ, 23 из которых представлены в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК; получен один патент.

Присвоения авторства чужого научного труда (плагиата), результатом которого может быть нарушение авторско-правового и патентного законодательства, в данной диссертации не обнаружено.

Диссертационная работа изложена на 415 страницах машинописного текста и включает следующие разделы: содержание, введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы исследования, список используемых

сокращений, список цитируемой литературы. Список литературы включает 543 источника, в том числе 69 - отечественных и 474 – зарубежных авторов.

### **Значимость материалов диссертации для науки и практики.**

#### **Актуальность**

На сегодняшний день актуальны инфекции, вызванные штаммами MRSA. Инфекции, вызванные MRSA, варьируют от неинвазивных заболеваний, таких как инфекции кожи и мягких тканей, до тяжелых состояний, таких как остеомиелит, эндокардит и сепсис. В США количество инфекций, вызванных MRSA, составляет в среднем 80 тыс. случаев в год, со смертностью примерно 11 тыс. случаев, общие затраты на лечение MRSA-инфекций на порядок выше. В мире распространены штаммы HA-MRSA, связанные с оказанием медицинской помощи, штаммы CA-MRSA, являющиеся амбулаторными, и штаммы LA-MRSA, связанные с животноводством. При этом MRSA принадлежат к определенным клональным линиям. Штаммы MRSA, распространенные в разных странах, могут совпадать или не совпадать по профилям вирулентности и антибиотикорезистентности. Поэтому необходимо регулярно проводить мониторинг распространения генетических вариантов, спектра генов вирулентности и механизмов резистентности штаммов MRSA. Необходимо изучать структуру генома штаммов MRSA в целях определения особенностей и взаимосвязи с тяжестью патологических процессов, вызываемых MRSA, а также прогноза эволюции штаммов. Разработка доступных методов типирования, применимых в ПЦР-лаборатории и направленных на выявление наиболее часто встречающихся генетических вариантов MRSA, необходима для современного здравоохранения.

#### **Научная новизна**

Автором оценена значимость *S. aureus*, включая MRSA, в развитии инфекционных заболеваний разной нозологии. Хохловой О.Е. изучена микрофлора и ее антибиотикорезистентность, а также роль этого вида бактерий в развитии инфекций кожи и мягких тканей (ИКМТ), остеомиелита, пневмонии, сепсиса, инфекционных осложнений у онкологических больных. Автором охарактеризована клональная структура штаммов MRSA, выделенных от пациентов с различными нозологиями, и от практически здоровых жителей г. Красноярска, Красноярского края, выявлена их связь с российскими и глобальными клонами MRSA; оценена эпидемическая значимость выделенных штаммов для территории г. Красноярска и Красноярского края, Российской Федерации и мира. Хохловой О.Е. получены сведения о генетическом профиле вирулентности и механизмах антибиотикорезистентности штаммов MRSA, выделенных от госпитализированных пациентов и здоровых носителей г. Красноярска и Красноярского края. Хохловой О.Е.

установлена частота горизонтального переноса мобильных генетических элементов, детерминирующих резистентность к антимикробным химиопрепаратам. Получены данные об уровне экспрессии генов вирулентности и регуляторных генов штаммов MRSA, выделенных от госпитализированных пациентов и здоровых носителей г. Красноярска и Красноярского края.

Автором получены данные о полной структуре генома двух штаммов MRSA: внебольничного представителя линии ST8, выделенного от больного, госпитализированного в стационар г. Красноярска; и госпитального представителя линии ST239, выделенного от больного, госпитализированного в стационар г. Красноярска; установлены особенности структуры геномов данных штаммов и их взаимосвязь с эволюцией MRSA и их вирулентностью, и антибиотикорезистентностью.

Хохловой О.Е. определены маркеры и разработаны варианты мультиплексной ПЦР и ПЦР для быстрого скрининга генетических вариантов MRSA, наиболее распространенных в г. Красноярске и Красноярском крае, а также на территории РФ.

#### **Практическая значимость**

Диссертационная работа Хохловой О.Е. имеет выраженное прикладное значение и направлена на разработку современных генетических решений по оптимизации существующих методов определения клональной принадлежности штаммов MRSA, распространенных на территории г. Красноярска, Красноярского края; автором разработан и предложен вариант М-ПЦР для детекции принадлежности штаммов к варианту ST239 и вариант ПЦР - для детекции принадлежности к варианту ST8.

Соискателем создана уникальная коллекция штаммов нозокомиальных и внебольничных MRSA, в том числе штаммов, которые могут быть использованы как контрольные на международном уровне. Хохловой О.Е. получена научная информация о структуре геномов штаммов MRSA - представителей двух распространенных клональных линий, которая позволяет отслеживать эволюцию глобальных линий MRSA, распространенных во всем мире.

Полученные Хохловой О.Е. научные данные о выявлении 10,4 % штаммов MRSA, относящихся к категориям «vancomycin-intermediate» *Staphylococcus aureus* (VISA) и «heterogenous VISA» (hVISA), что свидетельствует о необходимости определения минимальных подавляющих концентраций (МПК) к ванкомицину в рутинной практике, в частности, с помощью метода E-теста.

Проведенные научные исследования Хохловой О.Е. явились важным основанием для оптимизации профилактики и лечения инфекций, вызванных MRSA. Полученные Хохловой О.Е. данные о микрофлоре гнойно-воспалительных заболеваний,

