

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию
Кузиной Екатерины Сергеевны
на тему: «Интегроны классов 1 и 2 в штаммах мультирезистентных
грамотрицательных бактерий»
по специальности 1.5.11. Микробиология
на соискание учёной степени кандидата биологических наук

Актуальность избранной темы.

Формирование устойчивости к антимикробным препаратам началось вслед за началом широкого использования антибиотиков. В последние годы проблема антибиотикорезистентности переходит в разряд надвигающейся катастрофы. Основной причиной этого явления стало широкое, и порой необоснованное, использование антибиотиков.

Эволюция микроорганизмов позволяет им приспосабливаться к любым условиям, в том числе противостоять действию антибактериальных препаратов. При этом происходит передача факторов, определяющих резистентность у бактерий, не только по вертикали, но и по горизонтали. Наиболее быстрое распространение механизмов устойчивости осуществляется с помощью мобильных генетических элементов: плазмид, транспозонов, IS- и ISCR-элементов, а также интегронов. Именно интегроны преимущественно задействованы в формировании новых полирезистентных вариантов возбудителей инфекций, из которых наибольшее распространение получили грамотрицательные бактерии, входящие в группу ESKAPE: *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter* spp.

Как известно из последних данных, распространенность инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, возросла на 10-50% за период от начала пандемии COVID-19, по сравнению с ранее рассчитанными трендами. Её основными возбудителями являются всё те же грамотрицательные бактерии. Вместе с тем, ещё более быстрыми темпами росла резистентность штаммов бактерий, циркулирующих в медицинских учреждениях, а также переходящих во внегоспитальную среду.

Понимание молекулярных механизмов развития резистентности бактерий

может помочь оценить и прогнозировать эпидемиологическую ситуацию по распространению антибиотикорезистентности в бактериальных популяциях и, как следствие, оптимизировать схемы терапии инфекционных заболеваний.

Поэтому выбранная Екатериной Сергеевной тема диссертационного исследования крайне важна и своевременна.

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

Положения и выводы диссертационной работы обоснованы полностью раскрытой целью научного исследования и выполненными задачами, поставленными для ее достижения. Для правильного выбора цели исследования автором диссертационной работы проанализирован следующий объем источников литературы (всего 243 источника, из которых 13 – отечественных, 230 – зарубежных). Все данные, полученные в ходе выполнения задач исследования, подвергнуты теоретическому анализу с учетом уже имеющихся знаний в сфере научных интересов автора. Положения, выносимые на защиту, и полученные выводы имеют логическое подтверждение в тексте и хорошо иллюстрированы таблицами и рисунками. Каждое положение и вывод имеют смысловое и фактическое обоснование и логично связаны между собой единой целью исследования.

Рекомендации по использованию результатов диссертации лаконично и четко прописаны в соответствующем разделе работы, выполнимы и могут быть использованы специалистами учреждений различного профиля.

Достоверность и новизна полученных результатов.

Достоверность полученных результатов основана на большом объеме проведенных исследований, выполненных на высоком методическом уровне. Так, работа была выполнена с использованием необходимых референс-штаммов и клинических штаммов грамотрицательных бактерий в количестве 2 065, которые были выделены в г. Москве и других регионах России в 2003-2019 гг. Соискателем использованы следующие методы исследования: микробиологические, молекулярно-генетические, биоинформатические и статистические методы исследования.

Положения и выводы диссертационного исследования основаны на достоверных статистических данных.

Теоретическая значимость полученных автором результатов заключается в следующем:

- Автором впервые идентифицированы 4 новых интегрона класса 1 и 1 новый интегрон класса 2.
- Описан резистом мультirezистентного изолята *Klebsiella pneumoniae*, выделенного в Москве в 2019 г., который включает в себя одновременно интегроны класса 1, ген цефалоспоридазы и гены карбапенемаз трех классов.
- У 20% здоровых сотрудников микробиологической лаборатории описано носительство штаммов грамотрицательных бактерий, несущих интегроны класса 1 и класса 2, а также гены бета-лактамаз.
- Автором созданы: коллекция из 2 065 мультirezистентных штаммов грамотрицательных бактерий, выделенных от людей в Российской Федерации в 2003-2020 гг., электронный каталог и база данных «Разнообразие интегронов в клинических штаммах грамотрицательных бактерий» (зарегистрирована ФИПС №2020621657 от 31.07.2020 г.).
- В Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболensk» депонированы 149 референс-штаммов грамотрицательных бактерий, охарактеризованных на наличие генетических детерминант антибиотикорезистентности (Справки о депонировании 2018-2021 гг.).
- В базу данных GenBank размещены 220 нуклеотидных последовательностей генов антибиотикорезистентности и 30 полногеномных последовательностей штаммов грамотрицательных бактерий.
- Впервые в России описано носительство гипервирулентных *K. pneumoniae* сиквенс-типа ST23 капсульного типа K1.
- Автором показан неуклонный рост с годами доли интегронов класса 1 в бактериальных штаммах возбудителей инфекций.

Полученные данные вносят вклад в понимание роли интегронов классов 1 и 2 в формирование фенотипов множественной лекарственной устойчивости у

грамотрицательных бактерий, возбудителей госпитальных инфекций; вклад бессимптомного носительства генетических детерминант антибиотикорезистентности у госпитализированных пациентов.

Практическая значимость результатов исследования заключается в следующем:

- Разработан и испытан лабораторный образец мультиплексной ПЦР тест-системы для детекции интегронных структур: генов интеграз классов 1 и 2, аминогликозид-модифицирующих ферментов *aacA4*, *aadA1*, *aadA5*, дигидрофолат-редуктаз *dfrA1*, *dfrA7*, *dfrA12* и стрептотрицинацетилтрансферазы *sat2* в геномах грамотрицательных бактерий.
- Автором разработаны Методические рекомендации «Лабораторный образец ПЦР тест-системы в реальном времени для детекции генов интегронных классов 1 и 2 у грамотрицательных бактерий».
- Показано, что изоляты, выделенные из трахеальных мазков, более показательны для исследования генов антибиотикорезистентности, чем полученные из ректальных мазков.
- Материалы диссертационной работы используются в Национальном медицинском исследовательском центре нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко, а также в учебной Программе дополнительного профессионального образования «Бактериология. Основы биологической безопасности и практика работ с микроорганизмами I-IV групп патогенности» при ФБУН ГНЦ ПМБ (справка от 06.07.2022 г.).

Оценка содержания диссертации, её завершенность.

Материалы диссертационной работы изложены на 179 страницах машинописного текста и состоят из Введения, Обзора литературы, Результаты и обсуждения, Заключение, Выводов, Списка литературных источников и 4-х Приложений.

Работа иллюстрирована 44-мя рисунками и 31-ой таблицей. Каждый раздел диссертации логично перетекает в следующий. Диссертация хорошо оформлена, имеет четкий, лаконичный научный стиль. Таблицы и рисунки

наглядно представляют результаты и их анализ. Все поставленные автором задачи выполнены в полном объеме.

По теме диссертации опубликовано 26 научных работ, из них 5 статей в международных реферируемых научных журналах и 20 тезисов в материалах международных и Всероссийских научных конференций; зарегистрирована 1 База данных. В публикациях содержится полный объем информации, касающейся темы диссертации.

Соответствие автореферата основному содержанию диссертации.

Автореферат полностью соответствует основному содержанию диссертации.

Соответствие диссертации и автореферата требованиям ГОСТ Р 7.0.11-2011 «Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Диссертация и автореферат диссертации. Структура и правила оформления». М.: Стандартинформ. – 2012. Диссертация и автореферат Екатерины Сергеевны соответствует всем правилам написания и оформления соответствующих научных работ, установленным в нормативных документах.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации.

Неоспоримым достоинством диссертации является актуальность выбранной темы, высокий научно-методический уровень проведенных исследований, адекватный анализ полученных результатов и хороший научный стиль изложения обработанной информации.

Недостатков в содержании и оформлении диссертации не выявлено.

Вопрос для дискуссии:

Уважаемая Екатерина Сергеевна, считаете ли Вы возможным на основании полученных Вами данных, что сотрудники медицинских учреждений могут быть источником распространения гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae*?

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным

«Положением о присуждении ученых степеней» по пунктам:

10) Диссертация написана автором самостоятельно, обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты и положения, выдвигаемые для публичной защиты. Личный вклад автора в работу составляет более 80 %.

11) Основные научные результаты диссертации опубликованы в 5-ти международных реферируемых научных журналах. Материалы диссертационной работы используются в Национальном медицинском исследовательском центре нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко, а также в учебной Программе дополнительного профессионального образования «Бактериология. Основы биологической безопасности и практика работ с микроорганизмами I-IV групп патогенности» при ФБУН ГНЦ ПМБ (справка от 06.07.2022 г.).

14) При использовании методик или полученных ранее отдельных результатов автор диссертации ссылается на автора и источник заимствования материалов.

З а к л ю ч е н и е:

Диссертация Екатерины Сергеевны Кузиной на тему: «Интегроны классов 1 и 2 в штаммах мультирезистентных грамотрицательных бактерий», выполненная под руководством Фурсовой Надежды Константиновны, кандидата биологических наук, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи — оценки распространенности и разнообразия интегров классов 1 и 2 в геномах мультирезистентных клинических штаммов грамотрицательных бактерий, выделенных в Российской Федерации в 2003-2019 гг., имеющей существенное значение для соответствующей отрасли знаний, а именно: понимание роли интегров классов 1 и 2 в формирование фенотипов множественной лекарственной устойчивости у грамотрицательных бактерий, что соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., с изменениями, утвержденными постановлениями Правительства РФ № 335 от 21.04.2016,

№ 748 от 02.08.2016, № 650 от 29.05.2017, № 1024 от 28.08.2017, № 1168 от 01.10.2018, № 426 от 20.03.2021, № 1539 от 11.09.2021, предъявляемым ВАК РФ к кандидатским диссертациям, а ее автор Екатерина Сергеевна Кузина заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Официальный оппонент,
Краева Людмила Александровна,
доктор медицинских наук, 1.5.11. Микробиология,
197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14,
тел. 7 (812) 498 09 39, 7 (904) 610 21 54,
lykraeva@yandex.ru
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии
имени Пастера Роспотребнадзора,
заведующая лабораторией медицинской бактериологии

Л. А. Краева

28 ноября 2022 г.

Подпись Л. А. Краевой удостоверяю

Начальник отдела кадров



Л. В. Чебакова