

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе Университета
ИТМО,
доктор технических наук, профессор

В. О. Никифоров

« 11 »

2021 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации – Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Университет ИТМО) на диссертацию **Цветковой Ирины Анатольевны** на тему **«Генотипическая характеристика *Streptococcus pneumoniae*, принадлежащих к эпидемическим генетическим линиям»**, представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 – микробиология.

Актуальность темы выполненной работы. *Streptococcus pneumoniae* – комменсальный микроорганизм для человека, который входит в состав назофарингеальной микробиоты. До эры применения антибиотиков пневмококк считался одним из важнейших патогенов человека. Однако в настоящее время, несмотря на применение антипневмококковых полисахаридных конъюгированных вакцин и антибиотиков, пневмококковая инфекция остается частой причиной заболеваемости и смертности во всем мире. Пневмококки могут вызывать инфекции разной степени тяжести: отиты, синуситы, менингиты и пневмонии, а также генерализованную септическую инфекцию.

Актуальность исследования Цветковой Ирины Анатольевны определяется необходимостью получения новых данных по генотипической характеристике

штаммов *S. pneumoniae*, циркулирующих в Российской Федерации и ассоциированных с эпидемическими генетическими линиями в глобальной популяции пневмококка. Диссертационная работа посвящена изучению вирулентных штаммов *S. pneumoniae*, а также штаммов, резистентных к антибиотикам различных классов. Генетическая характеристика выполнена на уровне полногеномного секвенирования. Изучаемые штаммы *S. pneumoniae* выделены в период с 1980 по 2017 гг. Данный временной период охватывает различные этапы антипневмококковой вакцинации в мире, а также начальный период антипневмококковой вакцинации в России. Полученные результаты позволят оценивать дальнейшие изменения, касающиеся как эпидемиологической ситуации в России, так и генетических процессов, детерминирующих ответ популяции пневмококка на методы профилактики и лечения. Полученные данные актуальны и соответствуют требованиям современной науки и практики.

Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации. Автор диссертационного исследования был проведен анализ штаммов *S. pneumoniae*, циркулирующих в Российской Федерации и ассоциированных с эпидемическими генетическими линиями в глобальной популяции пневмококка. Было установлено, что мировая популяция *S. pneumoniae* представлена тремя глобальными группами A, B1 и B2, ассоциирующимися преимущественно с разными серотипами. Наибольший вклад в деление на данные группы вносят гены, продукты которых отвечают за процессинг секретируемых пневмококком белков (сигнальная пептидаза 1), а также гены, продукты которых регулируют поток глюкозы в клетку (глюкокиназа и глюкозо-6-фосфат-1-дегидрогеназа).

Установлено, что происходившие в 2000 – 2010 гг. изменения в структуре популяции пневмококков, циркулирующих в Российской Федерации, были обусловлены изменениями в структуре глобальной популяции в ответ на массовую вакцинацию полисахаридными конъюгированными антипневмококковыми вакцинами в различных регионах мира.

Выявлена глобальная тенденция к распространению после 2000 г. генетических линий, ассоциированных с инвазивностью.

Установлено, что особенности метаболизма углеводов и ароматических аминокислот (пневмококки способны синтезировать фенилаланин, тирозин и триптофан) детерминируют регуляцию клеточных процессов пневмококка и фенотипические особенности, в том числе вирулентный потенциал пневмококка. Серотип-специфичная вакцинация, приводящая к исключению из циркуляции распространенных генетических линий пневмококка, обладающих большей способностью к адаптации за счет энерго-обеспечивающих систем (АТФ, НАДФН, фосфотрансферазные системы), может приводить к распространению генетических линий, характеризующихся большей вирулентностью.

Показана ассоциация вариабельности гена *strH*, кодирующего экспрессируемую на поверхности клеточной стенки экзо- β -D-N-ацетилглюкозаминидазу, с инвазивностью. Установлено, что белок StrH – потенциальный кандидат в мишени для белковой антипневмококковой вакцины.

Значимость для науки и практики результатов, полученных автором диссертации.

Практическая и научная ценность диссертационной работы Цветковой И.А. заключается в получении научных данных, дополняющих и уточняющих существующие представления об эволюции *S. pneumoniae*, его метаболических особенностях и возможностях адаптации.

Полученные Цветковой И.А. данные отражают состояние структуры популяции *S. pneumoniae* на момент начала антипневмококковой вакцинации в России и позволят в дальнейшем оценивать изменения, касающиеся как эпидемиологической ситуации в России, так и генетических процессов, детерминирующих ответ популяции пневмококка на методы профилактики и лечения.

Депонированные последовательности секвенированных геномов *S. pneumoniae* в GenBank (международный уровень внедрения) могут быть использованы в дальнейших работах по изучению особенностей эпидемически значимых генетических линий данного микроорганизма.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений. Диссертационная работа Цветковой И.А. обобщает большое количество

литературных данных. Достоверность полученных результатов определяется репрезентативным объемом выборки изолятов *S. pneumoniae*, проведением исследовательских работ на сертифицированном оборудовании и использованием современных биоинформатических методов для обработки данных. В ходе работы были использованы молекулярно-биологические, эпидемиологические, биоинформатические, статистические методы исследований.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы. Проведенные автором исследования имеют теоретическое значение, так как дополняют и уточняют существующие представления об эволюции *S. pneumoniae*, его метаболических особенностях и возможностях адаптации. Полученные результаты позволяют в дальнейшем оценивать изменения в ходе мониторинга эпидемиологической ситуации в России, а также анализировать генетические процессы, детерминирующие ответ популяции пневмококка на методы профилактики и лечения пневмококковых заболеваний. Подходы филогенетического анализа могут быть использованы в практической и научной работе.

Общая характеристика диссертационной работы.

Диссертация изложена в двух томах (Том 2 – Приложения). Первый том содержит 175 страниц машинописного текста и состоит из общей характеристики работы, 3 глав, заключения и выводов, списка публикаций по теме диссертации, списка сокращений и списка использованной литературы. Список литературы включает 347 источников литературы. Том 2 содержит 254 страницы машинописного текста и состоит из 9 приложений. Диссертация иллюстрирована 28 таблицами и 119 рисунками (первый том включает 20 таблиц и 43 рисунка, Том 2 включает 8 таблиц и 76 рисунков).

В разделе «Общая характеристика работы» автор раскрывает актуальность работы, описывает степень разработанности темы исследования, формулирует цель и задачи исследования, отражает научную новизну работы, теоретическую и практическую значимость, описывает методологию и методы исследования, формулирует положения, выносимые на защиту, описывает степень достоверности и апробации результатов, а также личное участие автора в получении результатов.

В обзоре литературы («Глава 1») отражены современные данные о клинической значимости *S. pneumoniae*, приведена его фенотипическая, генетическая характеристика, дано представление об особенностях метаболизма и физиологии пневмококка, дано представление о процессах и механизмах, обуславливающих диверсификацию генетических линий пневмококка, а также свойства вирулентности и резистентности к антибиотикам.

В Главе 2, посвященной описанию материалов и методов, дана подробная информация об объектах исследования, используемом подходе для формирования выборки, информация об изучаемых и референсных штаммах *S. pneumoniae*. Описаны используемые методики со ссылками на первоисточники, приведена информация об используемых приборах, реактивах, применяемом для анализа программном обеспечении.

Глава 3, посвященная результатам исследования, состоит из 5 подглав. В первой подглаве приведен анализ структуры популяции *S. pneumoniae*, циркулирующих в России. Представлено описание генетических линий пневмококка, распространенных в России. Установлена связь (при ее наличии) циркулирующих в России пневмококков, представляющих редкие сиквенс-типы, с повсеместно распространенными клонами. Установлено деление глобальной популяции пневмококка на три группы и выявлены гены, детерминирующие деление популяции на глобальные группы, генетические линии, серотипы. Автором проанализированы возможные генетические процессы (рекомбинации, тип ассоциированной с генетической линией системы рестрикции-модификации), связанные с диверсификацией популяции пневмококка на идентифицированные глобальные группы и генетические линии.

Вторая подглава третьей главы посвящена анализу ассоциаций циркулирующих в России генетических линий с принадлежностью к серотипу и наличию резистентности к антибиотикам различных классов. Выполнен анализ детерминант резистентности для штаммов, ассоциированных со сниженной чувствительностью к антибиотикам различных классов. Проанализирована динамика распространения резистентных штаммов пневмококка в России в различные периоды времени.

Третья подглава третьей главы посвящена анализу частоты рекомбинаций, свойственной для изучаемых генетических линий пневмококка. Подтверждена связь частоты рекомбинаций с типом капсулы. Сделано предположение о том, что наличие резистентности к бета-лактамным антибиотикам ассоциируется с частотой рекомбинаций для данной генетической линии.

Четвертая подглава Главы 3 посвящена анализу рекомбинаций генов пенициллин-связывающих белков (*pbp2x*, *pbp2b* и *pbp1a*) - в областях, кодирующих транспептидазные домены. Подтверждены данные предыдущих исследований о событиях рекомбинаций в данных доменах между *S. mitis* и *S. pneumoniae*. Также идентифицированы следы независимых рекомбинаций.

В пятой подглаве Главы 3 обсуждаются результаты анализа детерминат вирулентности пневмококка, связь вирулентности с метаболическим типом. Обсуждаются возможные белки-кандидаты, которые могут быть использованы в качестве мишеней для белковой антипневмококковой вакцины.

В разделе «Заключение и выводы» подведен итог проделанной работы, обобщены и проанализированы полученные данные. Выводы, сформулированные автором, отражают результаты диссертационного исследования и соответствуют поставленным задачам. Текст диссертационной работы хорошо иллюстрирован. Общее впечатление о работе положительное.

Тема диссертационного исследования, основные положения и выводы, представленные автором, полностью соответствуют специальности 1.5.11 – «микробиология».

По материалам диссертации опубликовано 15 печатных работ, из них 3 статьи – в российских и международных изданиях, индексируемых базами Scopus и Web of science, и 12 тезисов и статей, опубликованных в других изданиях, материалах всероссийских и международных научных конференций.

Принципиальных замечаний по существу диссертационной работы Цветковой Ирины Анатольевны нет. В процессе ознакомления с диссертацией и авторефератом возник ряд замечаний редакционного характера.

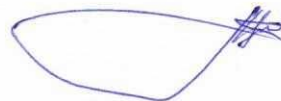
Заключение

Диссертационная работа Цветковой Ирины Анатольевны на тему «Генотипическая характеристика *Streptococcus pneumoniae*, принадлежащих к эпидемическим генетическим линиям», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 – «микробиология», является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научно-практической задачи, связанной с генотипической характеристикой штаммов *S. pneumoniae*, циркулирующих в Российской Федерации и ассоциированных с эпидемическими генетическими линиями в глобальной популяции пневмококка. Представленные на защиту положения диссертации можно квалифицировать как научное достижение в современной микробиологии.

По актуальности, научной новизне, методическому уровню, практической значимости диссертация соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г., с изменениями, опубликованными в Постановлениях Правительства РФ от 24.04.2016 г. №355, от 02.06.2016 г. №748, от 29.05.2017 г. №650, от 28.08.2017 г. №1024, от 01.10.2018 г. №1168, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Цветкова Ирина Анатольевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 – «микробиология».

Отзыв ведущей организации на диссертацию Цветковой Ирины Анатольевны подготовлен кандидатом биологических наук, доцентом (квалификационная категория «ординарный доцент») химико-биологического кластера Университета ИТМО Кошель Еленой Ивановной.

Доцент химико-биологического кластера
Университета ИТМО,
кандидат биологических наук



Кошель Е.И.

Отзыв рассмотрен и одобрен на заседании Химико-биологического кластера Университета ИТМО (протокол № 5 от 10 ноября 2021 года).

Директор химико-биологического кластера
Университета ИТМО,
доктор химических наук



Виноградов А.В.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО»
(Университет ИТМО) Министерства науки и высшего образования Российской
Федерации

197101, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., д. 49,
лит. А.

Телефон: +7 (812) 480-00-00

Email: od@itmo.ru

Подпись
удостоверяю
Менеджер ОПС
Гарькина В.А.

Виноградов А.В.

Гарькина

10.11.2021

