

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора Мавзютова Айрата Радиковича на диссертационную работу 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 исследования

Пневмококковая инфекция остается серьезной проблемой здравоохранения во всем мире. С *Streptococcus pneumoniae* связывают этиологию острых средних отитов, синуситов, неинвазивных и инвазивных пневмоний пневмония, менингитов и бактериального сепсиса. Широкое использование пневмококковых конъюгированных вакцин (ПКВ) для профилактики пневмококковых инфекций оказало существенное влияние на эпидемиологию пневмококка. В частности, произошло значительное снижение циркуляции вакцинных вариантов *S. pneumoniae*. Однако вместе с тем «давление» вакцин привело к феномену «замещения» вакцинальных серотипов и повышению эпидемических рисков, обусловленных «невакцинными» вариантами *S. pneumoniae* (Weinberger D., Malley R., Lipsitch M, 2011; Брико Н.И., 2017; Таточенко В.К., 2018; Муравьев А.А., 2019). В настоящее время в России отмечается снижение доли «вакцинных» серотипов и рост распространенности ранее не встречавшихся «невакцинных» серотипов *S. pneumoniae* (Sidorenko S., 2020). В целом, данные о молекулярной эпидемиологии пневмококков в России, как в период до внедрения антипневмококковой вакцинации, так и на момент начала вакцинации, ограничены. В особенности в разрезе эволюции эпидемически значимых вирулентных или устойчивых к антибиотикам пневмококков.

В этой связи характеристика геномов эпидемически значимых линий для прогнозирования динамики изменений структуры региональной популяции пневмококков представляется исключительно актуальной.

Научная новизна диссертационного исследования

Автором диссертационного исследования охарактеризованы штаммы *S. pneumoniae*, циркулирующие в Российской Федерации, характеризующиеся инвазивными свойствами, а также штаммы *S. pneumoniae*, устойчивые к антибиотикам различных классов. При этом показана определенная связь

российских штаммов с распространенными в мире эпидемически значимыми клонами. Необходимо отметить, что мировая популяция *S. pneumoniae* представлена тремя глобальными группами, при этом впервые выявлены ключевые гены, вариабельность которых детерминирует расщепление популяции пневмококка.

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 ПКВ7 в различных регионах мира. Происходивший в этот период рост устойчивости к бета-лактамам и макролидным антибиотикам связан с преимущественным глобальным распространением серотипа 19А, не входящего в состав ПКВ7.

Выявлена глобальная тенденция к распространению после 2000 г. генетических линий, ассоциированных с инвазивностью (группа В2).

Установлено, что особенности метаболизма углеводов и ароматических аминокислот 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, 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.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы Цветковой И.А. заключается в систематизации данных о штаммах *S. pneumoniae*, циркулирующих в России в различные временные периоды, определении их филогенетического положения относительно штаммов *S. pneumoniae*, принадлежащих глобально распространенным эпидемически значимым линиям.

Получены новые данные о метаболических типах пневмококка, дополняющие и уточняющие существующие представления об особенностях *S. pneumoniae*, его физиологии и возможностях адаптации.

В работе отражена структура популяции *S. pneumoniae* поствакцинального антипневмококкового периода в России, что крайне ценно для отслеживания изменений эпидемиологической ситуации в России детерминирующих их генетических процессов.

В международную базу GenBank депонировано 45 полногеномных последовательностей *S. pneumoniae*, циркулирующих в России,

Краткая характеристика основного содержания диссертации

Диссертационная работа Цветковой И.А. диссертация изложена в двух томах. Первый том содержит 175 страниц машинописного текста, структура работы выстроена по классической схеме и включает следующие разделы: Общая характеристика работы; Обзор литературы; Глава, описывающая материалы и методы исследований; Глава, содержащая результаты и обсуждение результатов; Заключение, Выводы; Список публикаций по теме диссертации; Список сокращений и Список использованной литературы. Список литературы включает 347 источников литературы. Том 2 содержит 254 страницы машинописного текста и состоит из 9 приложений. Работа иллюстрирована таблицами и рисунками. Содержание автореферата соответствует основным положениям полного текста диссертации.

В разделе «Общая характеристика работы» раскрыта актуальность проводимого исследования, сформулированы цель, задачи работы и положения, выносимые на защиту.

В Обзоре литературы («Глава 1») представлены данные о фенотипических и генетических особенностях *S. pneumoniae*, способах типирования пневмококка; охарактеризованы факторы вирулентности пневмококка и описаны механизмы, обуславливающие резистентность к антибиотикам.

В разделе «Материалы и методы исследования» (Глава 2) описаны использованные автором методики, оборудование и расходные материалы, а также данные об изучаемых и референсных штаммах *S. pneumoniae*. Представлена информация о программном обеспечении и web-ресурсах, использованных при анализе полученных в ходе работы данных.

Практическая часть диссертационной работы (Глава 3, «Результаты и обсуждение») состоит из 5 подглав, содержание каждой из которых соответствует поставленным задачам. В первой подглаве приведен анализ структуры популяции *S. pneumoniae*, циркулирующих в России. Установлено, что мировая популяция *S. pneumoniae* делится на три глобальные группы, которые ассоциируются преимущественно с разными серотипами. Выявлена

тенденция к распространению после 2000 г., на фоне вакцинации ПКВ7, генетических линий, ассоциированных с инвазивностью (группа В2). Установлено, что на фоне вакцинации в мире вакцинами ПКВ7 и ПКВ13, в России происходило распространение инвазивных изолятов редких генетических линий, многие из которых ассоциировались с невакцинными серотипами. Дана детальная характеристика геномов изучаемых штаммов пневмококков, в том числе: частота и особенности рекомбинационных событий, структура систем рестрикции-модификации ДНК, наличие профагов в геноме. Идентифицированы гены, варибельность которых вносит основной вклад в деление популяции пневмококка на изучаемые группы (три-глобальные группы, генетические линии, серотипы, вирулентные штаммы и штаммы от носителей). Показано, что особенности метаболизма углеводов детерминируют вирулентный потенциал пневмококка.

Вторая подглава третьей главы посвящена анализу российской популяции пневмококков, ассоциирующихся с устойчивостью к антибиотикам различных классов. Проанализирована динамика распространения устойчивых к антибиотикам генетических линий пневмококка в России, в различные периоды времени.

В третьей подглаве представлен анализ полногеномных паттернов рекомбинаций у устойчивых к бета-лактамам антибиотикам штаммов пневмококка. Установлено, что резистентные к бета-лактамам антибиотикам генетические линии ассоциируются с высокой частотой рекомбинаций, имеющих клональное предковое происхождение. Показано, что рекомбинации в генах, кодирующие первичные мишени бета-лактамов антибиотиков, *Pbp1A*, *Pbp2B* и *Pbp2X*, ассоциируются с множеством адаптивных рекомбинаций. При этом ассоциация резистентности к бета-лактамам антибиотикам с серотипами может быть связана с высокой частотой рекомбинаций, отмеченной для серотипов 23F, 19F, 19A, 35B, 6A, 6E.

Четвертая подглава Главы 3 посвящена сравнительному анализу генов пенициллин-связывающих белков (*pbp2x*, *pbp2b* и *pbp1a*) пневмококков, принадлежащих эпидемическим генетическим линиям, с целью установления возможного донора детерминант резистентности в анализируемой популяции пневмококков. Подтверждены данные предыдущих исследований о событиях рекомбинаций в областях, кодирующих транспептидазные домены, между *S. mitis* и *S. pneumoniae*.

В пятой подглаве Главы 3 обсуждаются гены вирулентности, вариабельность которых детерминируют деление популяции пневмококка на инвазивные штаммы и штаммы, полученные от здоровых носителей. Автор обсуждает гены, продукты которых могут быть потенциальными мишенями для создания белковой антипневмококковой вакцины.

В разделе «Заключение и выводы» подведен итог работы, обобщены полученные данные о структуре популяции *S. pneumoniae* в России.

Положения, выносимые на защиту и выводы, представленные в работе, логичны и вытекают из поставленной цели и задач. Они отражают суть проведенного анализа, обоснованы достаточным объемом проанализированных данных и являются логичным завершением работы. 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.

Соответствие специальности

Диссертационная работа Цветковой И.А. «Генотипическая характеристика *Streptococcus pneumoniae* эпидемически значимых генетических линий» представлена к защите по специальности 1.5.11 (микробиология) и соответствует формуле специальности, охватывающей проблемы теоретических основ жизнедеятельности микроорганизмов (наследственности, изменчивости, метаболизма, закономерности взаимоотношения с окружающей средой и живыми организмами, распространения в природе, взаимодействия с факторами внешней среды и живыми организмами) в областях: «Эволюция микроорганизмов, установление их филогенетического положения», «Исследование микроорганизмов на популяционном уровне».

Замечания по диссертационной работе

Замечаний по существу диссертационной работы Цветковой И.А. нет.

В процессе рецензирования диссертационной работы возник ряд вопросов:

1. Какой вклад интегративных конъюгативных элементов в патогенность изучаемых генетических линий пневмококка в России?
2. Насколько отличаются анализируемые генетические линии пневмококка в России по содержанию профагов в геномах. Есть ли вклад профагов в патогенность изучаемых российских штаммов пневмококка?

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, по актуальности, объёму, новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов 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 ВАК РФ 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».

ОФИЦИАЛЬНЫЙ ОППОНЕНТ

Заведующий кафедрой фундаментальной и прикладной микробиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России), заслуженный деятель науки РБ доктор медицинских наук, профессор

16.11.2021г.



Мавзютов Айрат Радикович

Адрес ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России:

450008, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3

Тел.: +7(347)272-11-60,

e-mail: rectorat@bashgmu.ru, ufalab@mail.ru

