

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Киреевой Александры Геннадьевны на тему «Генетические детерминанты патогенности штаммов стрептококков групп А, С и G, циркулирующих во Вьетнаме», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология

Диссертационное исследование Киреевой Александры Геннадьевны выполнено на актуальную тему, так как посвящено улучшению эпидемиологической ситуации по стрептококковым заболеваниям на основе систематизации данных микробиологического мониторинга глобальной и территориальных популяций стрептококков различных видов с использованием комплекса молекулярно-генетических методов исследования для изучения эволюции возбудителя, своевременной оценки клинической и эпидемиологической значимости циркулирующих штаммов возбудителя. Популяции стрептококков, относящихся к серогруппам А, С и G обладают выраженной генетической неоднородностью. Специфические для штаммов генетические характеристики обуславливают различия в иммунном ответе хозяина на инфекцию, спектре лекарственной устойчивости, клинические, патогенетические и эпидемиологические особенности заболевания.

Достоверность полученных автором результатов не вызывает сомнения. В работе изучены 132 штамма стрептококков групп А, С и G, выделенных в 2012-2014 гг. от детей младшего школьного возраста (7-10 лет) во время экспедиций в различные регионы Вьетнама; клинические изоляты СГА генотипов *emm1* (47 штаммов) и *emm12* (38 штаммов) из коллекции ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», выделенные в Санкт-Петербурге и Пекине (Китай) от детей школьного возраста, больных скарлатиной, гнойным синуситом, тонзиллитом, а также носителей; 34 штамма СГА различных типов из коллекции ГБОУ ВПО Первый Московский

государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова МЗ РФ, выделенных в 2008-2011 гг. при инвазивных инфекциях мягких тканей в отделении гнойной хирургии ГБУЗ «ГКБ им. И.В. Давыдовского ДЗМ» (Москва).

Автор применяла современные молекулярно-генетические (ПЦР, *emt*-типирование, полногеномное секвенирование) и микробиологические (идентификация изолятов стрептококков, определение лекарственной чувствительности стрептококков к антибактериальным препаратам диско-диффузионным методом на твердых питательных средах и методом серийных разведений в жидкой среде) методы исследования. Все использованные методы адекватны поставленным задачам. Для анализа полногеномных последовательностей использовали современные алгоритмы биоинформатического анализа.

Объективность и обоснованность научных положений и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации, определяется четкими методологическими подходами к решению поставленных задач. Целью работы Киреевой А.Г. явилось изучение генетического разнообразия стрептококков, выявление мобильных генетических элементов, ассоциированных с устойчивостью к антимикробным химиопрепаратам, установление генотипов, ассоциированных с лекарственной устойчивостью возбудителя во вьетнамской популяции штаммов с использованием комплекса молекулярно-генетических методов исследования.

В соответствии с целью исследования автором поставлены и решены 5 задач: собрать коллекцию штаммов стрептококков среди детей младшего школьного возраста во Вьетнаме и провести видовую идентификацию; провести генотипирование штаммов и определить принадлежность штаммов к филогенетическим линиям и генетическим кластерам; провести анализ фенотипической и генотипической устойчивости штаммов стрептококков различных видов к основным антибактериальным препаратам на территории

Вьетнама; выявить ассоциированные с лекарственной устойчивостью генотипы штаммов и оценить их эпидемиологическую значимость с учетом региональных особенностей.

### Научная новизна

Работа несомненно обладает научной новизной. Автором проведен молекулярно-генетический мониторинг генотипов *Streptococcus pyogenes* во Вьетнаме, в котором установлено увеличение доли штаммов *emm12* генотипа, принадлежащих к китайской эпидемичной клональной линии III (clade III) (HKU383 (98,95% гомологии), характеризующейся наличием ICE *emm-12* и бактериофага ФНКУ.vir. Скрининг имеющихся в ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» коллекций штаммов *S. pyogenes*, циркулирующих на территории России и Китая, на присутствие этих двух элементов показал, что ICE-*emm12* встречался довольно часто у штаммов, выделенных в Пекине. Он обнаружен у 11 из 21 проанализированных штаммов *emm12* генотипа и у 11 из 30 проанализированных штаммов *emm1* генотипа. Появление этого элемента у штаммов *emm1* генотипа зафиксировано и ранее в Китае. Известно, что это событие сильно повлияло на структуру популяции и способствовало увеличению доли штаммов этого генотипа с 3,8% в 2011 г. до 48,6% в 2014 г. Среди российской коллекции штаммов элемент ICE-*emm12* обнаружен лишь у 1 из 35 проанализированных штаммов *emm12* генотипа, выделенных в Санкт-Петербурге, и у 1 из 32 штаммов *emm88.2* генотипа, выделенных в Москве. При этом впервые наблюдали этот элемент у штамма *S. pyogenes* с генотипом отличным от *emm12* или *emm1*. Гены, кодирующие стрептококковые суперантигены (SSA и SpeC) и ДНКазу Spd1, детектированы у всех исследуемых штаммов, выделенных в Пекине, кроме одного. У 41 штамма из 50 они найдены в составе бактериофага ФНКУ.vir. Среди российских штаммов бактериофаг ФНКУ.vir обнаружен у 1 штамма *emm1* генотипа и у 1 штамма *emm12* генотипа, выделенных в Санкт-Петербурге.

С помощью полногеномного секвенирования у штаммов *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* выявлены ранее неизвестные мобильные генетические элементы, ответственные за перекрестную резистентность к макролидам и линкозамидам. Последовательности геномов этих штаммов *Streptococcus dysgalactiae* subspecies *equisimilis* депонированы в международную базу GenBank B82 (GenBank Acc. № GCA\_016888305.1), V123 (GenBank Acc. № GCA\_016888325.1), NT15 (GenBank Acc. № GCA\_016888365.1).

### **Научно-практическая значимость**

Проведенный на территории Вьетнама мониторинг распространения стрептококков среди здоровых детей позволил получить новые данные о генетическом разнообразии и детерминантах устойчивости возбудителя к антимикробным химиопрепаратам. Выявлены связи между лекарственной устойчивостью и принадлежностью штаммов к различным генотипам, что имеет важное практическое значение, так как позволяет оценить клиническую и эпидемиологическую значимость возбудителя. Предложенный алгоритм выявления основного *emm12* генотипа эпидемичной китайской клональной линии III (clade III) может быть использован для слежения за циркуляцией штаммов этого генотипа и характеристики динамики пространственно-временной структуры популяции *S. pyogenes* и имеет большое эпидемическое значение. Особенно важным является получение новых данных о механизмах формирования лекарственной устойчивости к клиндамицину, препарату, применяемому при лечении тяжелых инвазивных инфекций, представляющих угрозу для жизни, таких как синдром токсического шока и некротический фасциит.

Результаты диссертационного исследования внедрены в работу отдела молекулярной микробиологии ФГБНУ «ИЭМ» и лаборатории инновационных методов микробиологического мониторинга НОЦ «Молекулярные основы взаимодействия микроорганизмов и человека» НЦМУ «Центр персонализированной медицины» для выявления у штаммов бактерий

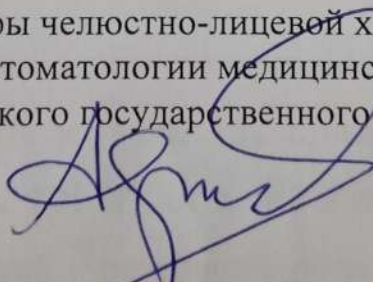
мобильных элементов, значимых с позиции распространения антибиотикорезистентности.

### Заключение

Представленные в автореферате данные позволяют охарактеризовать диссертацию Киреевой Александры Геннадьевны на тему «Генетические детерминанты патогенности штаммов стрептококков групп А, С и G, циркулирующих во Вьетнаме» как законченную научно-квалификационную работу, имеющую значение для эффективной борьбы со стрептококковыми заболеваниями. Содержание диссертации соответствует паспорту научной специальности 1.5.11. Микробиология (биологические науки).

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости диссертационная работа Киреевой Александры Геннадьевны полностью отвечает требованиям пунктов 9-13 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года, предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Киреева Александра Геннадьевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Профессор кафедры челюстно-лицевой хирургии  
и хирургической стоматологии медицинского института  
Санкт-Петербургского государственного университета  
д.м.н., профессор



Афиногенов Геннадий Евгеньевич

Подпись доктора медицинских наук, профессора Афиногенова Геннадия Евгеньевича заверяю.

Подпись руки *Афиногенова*  
*Геннадия Евгеньевича*  
**УДОСТОВЕРЯЮ**  
Валентин, специалист по кадрам  
*Валентин* *В.В. Дверкина*  
10 06 2024

