

Отзыв

официального оппонента

доктора медицинских наук, профессора Сомовой Ларисы Михайловны на диссертацию Андриянова Павла Алексеевича на тему «Микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика штаммов эмерджентных сапронозных бактерий *Elizabethkingia anophelis* и *Delftia tsuruhatensis*, обладающих фенотипом множественной лекарственной устойчивости», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. микробиология (биологические науки).

Актуальность темы исследования

Эмерджентные инфекционные болезни представляют собой новые или ранее известные инфекции, которые в последнее время стали значительно более распространенными или расширили свой географический охват. В условиях глобализации и изменений климата наблюдается рост числа новых и вновь появляющихся инфекционных заболеваний, что требует углубленного научного анализа и разработки эффективных стратегий мониторинга, профилактики и лечения. Наряду с вирусными агентами, возбудители эмерджентных бактериальных инфекций представляют глобальную угрозу здоровью человека, животных и растений.

Сапронозы, или заболевания, вызываемые микроорганизмами, обитающими в окружающей среде, занимают значительное место среди эмерджентных инфекций. Эти патогены могут приспосабливаться к новым экологическим нишам и передаваться человеку через различные факторы, такие как загрязненная вода, почва или пищевые продукты. Изучение механизмов адаптации сапронозных бактерий и факторов, способствующих их распространению, является ключевым для предотвращения вспышек этих инфекций.

Одним из актуальных направлений научных исследований в данной области является выявление новых патогенных штаммов, анализ их генетических особенностей и механизмов устойчивости к антибиотикам. Современные методы молекулярной диагностики и геномики предоставляют уникальные возможности для детального изучения патогенов. Это позволяет прогнозировать потенциальные угрозы и разрабатывать целевые профилактические меры.

Главной угрозой, исходящей от эмерджентных инфекций, является недостаточное понимание их этиологии, биологических особенностей возбудителей и сложности лечения ввиду частой множественной устойчивости к антибиотикам. Вспышки таких инфекций могут не только повысить

летальность при инфекционной патологии, но и оказать значительное социальное влияние. Примеры таких возбудителей, вызывающих тяжелые внутри- и внебольничные инфекции, включают *Elizabethkingia anophelis* и *Delftia tsuruhatensis* - бактерии, которые проявляют широкий спектр устойчивости к антибиотикам, что затрудняет лечение. Информация о данных патогенах ограничена, включая их механизмы устойчивости и вирулентности. Это делает изучение таких эмерджентных сапронозных возбудителей актуальной задачей.

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

Научные положения и выводы, представленные автором, основаны на результатах экспериментальных данных, полученных в ходе анализа штаммов эмерджентных возбудителей, выделенных из сырого молока, а также на *in silico* анализе, проведенном с помощью современных средств и баз данных, имеющих в открытом доступе. Сравнение собственных данных и данных литературы позволяет обосновать принадлежность эмерджентных возбудителей *Elizabethkingia anophelis* и *Delftia tsuruhatensis* к возбудителям сапронозов, обладающих свойствами убиквитарности, полигостальности и экологической пластичности. Для доказательства того, что выделенные штаммы *Elizabethkingia anophelis* и *Delftia tsuruhatensis* имеют фенотип множественной лекарственной устойчивости, были использованы методы дискодиффузионного анализа и биоинформатические методы выявления различных генов в геномах, что соответствует современным подходам. Геномный анализ этих штаммов выявил разнообразный репертуар факторов устойчивости и гомологов факторов вирулентности, что коррелирует с фенотипом и клиническими проявлениями, описанными в литературе. Также в ходе сравнительного геномного анализа была показана консервативность факторов вирулентности среди филогенетически близких и отдаленных штаммов. Автор обращает внимание на наличие у изучаемых микроорганизмов генов устойчивости к антибиотикам в коровом геноме, и это позволяет обосновать утверждение о том, что загрязнение окружающей среды и продуктов питания антибиотиками может способствовать отбору микроорганизмов, обладающих природной множественной лекарственной устойчивостью.

Таким образом, выносимые автором положения и выводы обоснованы результатами экспериментальных исследований, а также анализом литературных данных. Объем проведенной работы соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Научная новизна исследования

В рамках диссертационной работы Андриянова П.А. впервые на территории России был выделен и охарактеризован штамм эмерджентного патогена *Elizabethkingia anophelis*. Этот штамм был изолирован из сырого коровьего молока, что открывает новые горизонты для понимания путей передачи данного патогена и акцентирует важность контроля качества молока и молочных продуктов на наличие бактерий, обладающих резистентностью к множеству антибиотиков.

В результате сравнительного филогенетического анализа выделенных штаммов *E. anophelis* и *Delftia tsuruhatensis*, обладающих МЛУ фенотипом, в геномах данных бактерий обнаружены гомологи генов известных факторов патогенности, описанных у других видов, но не выявленных у данных возбудителей. Эти гены включают элементы, ответственные за синтез липополисахаридов, капсулы, пилей IV типа, белков стресса; а также эффекторов систем секреции IV и VI и др. Важно отметить, что в геномах исследованных штаммов были выявлены многочисленные гены, связанные с устойчивостью к противомикробным препаратам, включая системы эффлюкса и гены бета-лактамаз. Эти генетические характеристики в большей степени определяют выявленный фенотип множественной лекарственной устойчивости (МЛУ).

Теоретическая и практическая значимость исследования

Теоретическая и практическая значимость исследования заключается в разработке подхода к выделению эмерджентных возбудителей с множественной устойчивостью из продуктов питания, в комплексном изучении свойств возбудителей эмерджентных инфекций *Elizabethkingia anophelis* и *Delftia tsuruhatensis* с применением методов как классической микробиологии, так и современных биоинформатических методов анализа генома. В целом, результаты работы подчеркивают значимость мониторинга и исследования эмерджентных патогенов, поскольку они могут обладать высокой устойчивостью к антибиотикам и представлять угрозу для здоровья человека, особенно в условиях, где возможен контакт с потенциальными резервуарами (и источниками) патогенов.

Соответствие диссертации паспортам научных специальностей

Диссертация, выполненная Андрияновым Павлом Алексеевичем, соответствует пунктам 1, 3, 5, 8, 11, 12, 20 паспорта научной специальности 1.5.11 «Микробиология» (1. Систематика и филогения микроорганизмов; 3. Биологическое разнообразие микроорганизмов, включая разнообразие типов энергетического обмена и источников углерода; 5. Физиология и метаболизм

микроорганизмов, в том числе физиология и физико-химические параметры роста микроорганизмов; 8. Микробная экология и биогеохимия; 11. Геномный и метагеномный анализ микроорганизмов и их сообществ; 12. Патогенные микроорганизмы, факторы вирулентности и патогенности; 20. Санитарная микробиология).

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем

Материалы диссертации полно представлены в печати. По материалам диссертационной работы опубликовано 3 статьи в рецензируемых журналах Scopus/WoS, рекомендованных ВАК для публикации к защите. Также опубликовано 3 тезиса в сборниках конференций с международным участием.

Структура и содержание диссертации

Диссертационная работа построена по классическому типу и включает разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов и выводы. Список литературы содержит 205 источников. Работа изложена на 143 страницах, иллюстрирована 14-ю рисунками и 8 таблицами.

Во введении диссертации обоснована актуальность исследования, сформулированы его цели и задачи. Также отмечены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, основные положения, выносимые на защиту. Здесь же представлена информация о публикациях автора по теме диссертации и отражен его личный вклад в исследование.

Раздел «Обзор литературы» (глава 1) содержит подробный научный обзор по проблеме диссертационной работы. Изначально представлена информация о концепции эмерджентности с основными понятиями и общими механизмами возникновения “новых” патогенов, указаны основные факторы, способствующие этому процессу. Затем представлена информация об объектах исследования: *Elizabethkingia anophelis* и *Delftia tsuruhatensis*. Описание данных видов бактерий структурировано, информация представлена в виде классического микробиологического описания, также сделан уклон на экологию, эпидемиологию и клинические проявления инфекций.

В главе 2 отражены материалы и методы исследования, которые могут быть разделены на 3 подхода: классическая микробиология, молекулярно-биологические методы и биоинформатический анализ.

В главе 3: «Результаты собственных исследований» отражены полученные в ходе работы результаты. Представлена информация о таксономическом разнообразии бактерий, выделенных из сырого молока путем посева на среды без и с добавлением антибиотиков. Обоснован выбор штаммов

для дальнейшего исследования. В дальнейшем описаны результаты углубленного исследования 2 штаммов *Elizabethkingia anophelis* и *Delftia tsuruhatensis*, а именно их фенотипические особенности. Затем изложены результаты полногеномного анализа данных штаммов с акцентом на анализ различных факторов, филогеномный анализ и сравнительный геномный анализ.

В главе 4 «Обсуждение результатов» представлен анализ полученных в ходе работы данных о фенотипических и генотипических особенностях штаммов *Elizabethkingia anophelis* и *Delftia tsuruhatensis*. Проведено их сравнение с актуальными результатами исследований, представленными в научной литературе.

Заключение и выводы в работе Андриянова П.А. в полной мере отражают результаты исследований.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат полностью отражает основные результаты и содержание диссертации.

Основные замечания и вопросы по рассматриваемой работе

Эмерджентные сапронозы сейчас – это давно забытое старое: вспомним о крупной (свыше 300 человек!) вспышке псевдотуберкулеза, первоначально названного дальневосточной скарлатиноподобной лихорадкой (ДСЛ), впервые возникшей во Владивостоке в марте 1959 года, когда заражение больных произошло алиментарным путем в результате употребления молочного продукта – творога, длительное время хранившегося в морозильной камере. И ведь тогда возбудитель инфекции *Yersinia pseudotuberculosis* был идентифицирован только через 8 лет, благодаря использованию холодового культивирования. *Приоритет в изучении возбудителей сапронозов* принадлежит отечественным микробиологам-эпидемиологам Г.П. Сомову и В.Ю. Литвину! В этой связи в диссертационной работе Андриянова П.А. стоило дать ссылки на этих ученых: **1)** статью - Сомов Г.П. Еще раз о сапронозах. Журн. микробиол. **1985**; №5. С. 98-103; и **2)** монографию - Сомов Г.П., Литвин В.Ю., Сапрофитизм и паразитизм патогенных бактерий (экологические аспекты). Новосибирск, **1988**. 208 с. Ими же впервые указаны характерные черты возбудителей сапронозов: *термоадаптивность, экологическая пластичность, убиквитарность и полигостальность*, о которых упоминается в работе соискателя. Эти свойства возбудители сапронозов проявляют благодаря их психрофильности, т.е. способности размножаться при относительно низкой температуре (0-8⁰С). При оценке *практической значимости* результатов работы следовало указать на то, что употребление сырого, а не пастеризованного, коровьего молока опасно для здоровья человека, не только из-за возможного

инфицирования его патогенными, но и нозокомиальными бактериями. Тем более, что это созвучно с 1-м положением, выносимом на защиту, а также с 1 и 2 выводами работы.

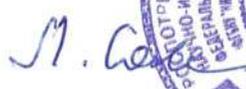
Приведенные замечания не умаляют ценности диссертации П.А. Андриянова. Считаю, что результаты, полученные соискателем с использованием современных молекулярно-генетических методов исследования, с полным основанием позволяет квалифицировать теоретическую значимость диссертационной работы как ***вклад, расширяющий представления об адаптационных механизмах возбудителей сапронозов – потенциальных агентов биологического неблагополучия популяции человека.***

Заключение

Диссертационная работа Андриянова Павла Алексеевича, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. – Микробиология (биологические науки), выполненная под руководством научного руководителя, доктора биологических наук Ермолаевой Светланы Александровны, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей актуальное решение проблемы эмерджентных (“новых”) бактериальных патогенов на примере исследования микрофлоры сырого коровьего молока с применением комплексного подхода, включающего классическую микробиологию, молекулярно-биологические подходы, а также геномику и биоинформатический анализ. Таким образом, диссертационная работа Андриянова Павла Алексеевича «Микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика штаммов эмерджентных сапронозных бактерий *Elizabethkingia anophelis* и *Delftia tsuruhatensis*, обладающих фенотипом множественной лекарственной устойчивости», по своей актуальности, новизне, теоретической и практической значимости соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, установленным Положением о присуждении ученых степеней, утвержденным Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 и последующих редакций Постановлений Правительства РФ (№335 от 21.04.2016; №748 от 02.08.2016; №1024 от 28.08.2016; 1168 от 01.10.2018; №426 от 20.03.2021; 1539 от 11.09.2021; №1690 от 26.09.2022, N 415 от 18.03.2023, N 1786 от 26.10.2023, N 62 от 25.01.2024 и N 1382 от 16.10.2024 , с изменениями и дополнениями, вступившими в силу с 01.01.2025), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Андриянов Павел Алексеевич заслуживает

присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. – Микробиология.

доктор медицинских наук, профессор,
главный научный сотрудник
лаборатории патоморфологии
ФГБНУ «Научно-исследовательский
институт эпидемиологии и
микробиологии имени Г.П. Сомова»
Роспотребнадзора.


Сомова Лариса Михайловна


690087, Россия, Приморский край, город Владивосток, Сельская ул., д.1

Тел. +7 914 068 17 49

Эл. Почта l_somova@mail.ru

« 21 » марта 2025 г.

Подпись заверяю:

Ученый секретарь

ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии
имени Г.П. Сомова» Роспотребнадзора.

к.б.н.





Ляпун И. Н