



УТВЕРЖАЮ
Начальник НИЦ

(Воинская часть 23527, г. Киров)
48 ЦНИИ Минобороны России
полковник медицинской службы

А.К.Федотов

« 31 » июля 2017 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической ценности диссертации Касьян Жанетты Андреевны на тему «Разработка методических подходов и диагностических препаратов для определения видов и биоваров бруцелл на основе молекулярно-генетических технологий», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 - микробиология

Бруцеллез является особо опасной зооантропонозной инфекционной болезнью, распространенной практически во всем мире, которая наносит вред здоровью людей и значительный экономический ущерб животноводству. Возбудитель бруцеллеза относится к роду *Brucella*, который в свою очередь подразделяется на 12 видов: *B. abortus*, *B. canis*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. neotomae*, *B. melitensis*, *B. ceti*, *B. pinnipedialis*, *B. microti*, *B. inopinata*, *B. papionis*, *B. vulpis*. На территории Российской Федерации зарегистрирована циркуляция 6 видов бруцелл: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ovis* и *B. canis*. Наиболее вирулентными для человека являются *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*. Поэтому при проведении лабораторной диагностики бруцеллеза важное значение имеет не только выделение культуры патогена, но и её идентификация с определением видовой принадлежности.

Отсутствие специфической клинической симптоматики, лабильность и полиморфизм проявлений инфекции существенно затрудняют своевременную и достоверную диагностику бруцеллеза. Идентификация и дифференциация возбудителей бруцеллеза, согласно действующим в нашей стране руководящим документам, осуществляется в несколько этапов с помощью бактериологического, биологического, серологического и других методов исследования. При этом разработка новых методов лабораторной диагностики для определения видов и биоваров бруцелл на основе молекулярно-генетических технологий является актуальной задачей, решаемой Ж. А. Касьян в своей диссертационной работе.

Научная значимость полученных результатов заключается в том, что впервые:

- получены новые данные по встречаемости отдельных генов у штаммов бруцелл разных видов с учетом их принадлежности к биоварам. На основании проведенного анализа *in silico* и *in vitro* определены перспективные ДНК-мишени для разработки способов молекулярной идентификации возбудителя бруцеллеза: *BR0262*, *BRA0420*, *BMEI1426*, *BMEI0994*, *BMEI0711*, *BRA0541*;

- показана высокая диагностическая чувствительность – не менее 1×10^4 м.к./мл и специфичность – 99 % разработанного набора реагентов для дифференциации видов и групп видов *B. abortus*, *B. ovis*; *B. melitensis*; *B. suis*, *B. canis*; *B. neotomae* методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов в режиме реального времени при исследовании культур микроорганизмов, проб биологического материала и объектов окружающей среды;

- оптимизирован способ определения видовой принадлежности бруцелл методом ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени, позволяющий дифференцировать основные 6 видов возбудителя бруцеллеза: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. ovis*, *B. canis*, *B. suis*, *B. neotomae*;

- применение комплекса методических приемов, предложенных соискателем и основанных на выявлении и изучении вариабельности различных участков генома бруцелл, позволило с высокой точностью подтвердить либо уточнить таксономическое положение природных штаммов возбудителя бруцеллеза из фонда «Государственной коллекции патогенных бактерий» ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора;

- с использованием комплекса молекулярно-генетических подходов у ряда штаммов *B. abortus* и *B. suis* вновь выявлены амплификационные и рестрикционные профили.

Практическая значимость определяется тем, что

- разработан набор реагентов для идентификации штаммов *Brucella spp.* методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов в режиме реального времени «Ген *Brucella* - идентификация - РГФ» (Регистрационное удостоверение № РЗН 2014/1948 15.09.2014 г.);

- подготовлены и утверждены Технические условия ТУ 9398-045-01898109-2013 и Инструкция по применению (приказ Росздравнадзора от 15 сентября 2014 г. № 6451) на «Набор реагентов для идентификации штаммов *Brucella spp.* методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов в режиме реального времени «Ген *Brucella* – идентификация – РГФ»;

- с использованием разработанных методических подходов уточнено таксономическое положение 44 природных штаммов бруцелл из фонда «Государственной коллекции патогенных бактерий» ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора. Внесены изменения в паспорта данных

культур. Определена видовая и биоварная принадлежность выделенных проб из биологического материала от сельскохозяйственных животных.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации: целесообразно при дальнейших исследованиях проб биологического материала, а также изолятов бруцелл применять разработанный соискателем набор реагентов с целью идентификации и дифференциации штаммов *Brucella spp.*

Выводы выполненного исследования, сформулированные соискателем, логически вытекают из результатов диссертационной работы и полностью соответствуют поставленным задачам. Сформулированные положения, выносимые на защиту, научно обоснованы. Достоверность полученных экспериментальных данных не вызывает сомнения, так как обеспечена использованием стандартных методов исследования, средств измерений, приборов и оборудования, прошедших государственную и ведомственную поверку, а также применением методов статистического анализа результатов.

Материалы диссертации представлены на VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика – 2014» (г. Москва, 2014); на VII ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням с международным участием (г. Москва, 2015); XII Межгосударственной научно-практической конференции государств-участников СНГ «Достижения в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия в государствах – участниках СНГ в рамках реализации стратегии ВОЗ по внедрению ММСП (2005 год) до 2016 года» (г. Саратов, 2016 год); II Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы болезней, общих для человека и животных» (г. Ставрополь, 2017 год); IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика – 2017» (г. Москва, 2017 год); на научно-практических конференциях «Итоги и перспективы фундаментальных и прикладных исследований в институте «Микроб» (г. Саратов, 2014, 2015, 2017 гг.); Материалы диссертации вошли в научные отчеты по законченным техническим и медицинским испытаниям наборов реагентов.

По теме диссертационной работы опубликовано 8 работ, из них 3 - в периодических изданиях из «Перечня ведущих рецензируемых научных журналов», рекомендованных ВАК Министерства образования и науки России.

В целом соискатель провел необходимый объем теоретических и экспериментальных исследований, позволяющий достигнуть цели, поставленной в диссертационной работе.

По тексту диссертационной работы имеются опечатки. Однако это не снижает общее положительное впечатление о работе.

Вывод: диссертация Касьян Жанетты Андреевны является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи по

разработке методических подходов и диагностических препаратов для определения видов и биоваров бруцелл на основе молекулярно-генетических технологий, имеющей существенное значение для Российской науки. По уровню решения поставленных задач, объему проведенных исследований и научной значимости полученных результатов диссертационная работа полностью соответствует требованиям п. п. 9, 10, 11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 с изменениями от 21.04.2016 № 335, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 - микробиология.

Отзыв составили:

Ведущий научный сотрудник
доктор биологических наук,
старший научный сотрудник



Воробьев Алексей Анатольевич

Старший научный сотрудник
доктор медицинских наук,
доцент



Ошапкина Вероника Юрьевна

Отзыв рассмотрен и одобрен на заседании научно-технического совета НИЦ (войсковая часть 23527, г. Киров) 48 ЦНИИ Минобороны России 24 июля 2017 г., протокол № 6.

Ученый секретарь научно-технического совета
НИЦ (войсковая часть 23527, г. Киров)
48 ЦНИИ Минобороны России
научный сотрудник
кандидат медицинских наук,
старший научный сотрудник




Зиганшин Ренат Шайхуллович

« 31 » июля 2017 г.