



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ
ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА

Федеральное казенное учреждение здравоохранения
«Иркутский ордена Трудового Красного
Знамени научно-исследовательский
противочумный институт Сибири и Дальнего Востока»

**ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт Роспотребнадзора**

664047 Иркутск, Трилиссера, 78

Тел. 22-01-35, факс 22-01-40

E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

<http://www.irkutsk.ru/chumin>

ОКПО 01898090, ОГРН 1023801543017

ИНН/КПП 3811015807/381101001

УТВЕРЖДАЮ:

директор ФКУЗ Иркутский научно-
исследовательский противочумный
институт

докт. мед. наук, профессор
Балахонов С.В.



29 марта 2018 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации о научно-практической значимости диссертационной работы Левченко Дарьи Александровны «Анализ результатов микробиологического мониторинга холерных вибрионов в объектах окружающей среды на территории Российской Федерации с 1989 по 2016 гг.», представленной на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03-микробиология

Актуальность темы исследования. Настоящий период VII пандемии холеры характеризуется существованием эндемичных очагов на Азиатском, Африканском и Американском континентах, а также регистрацией эпидосложнений в странах, ранее свободных от неё, связанных с заносами этой инфекции на новые территории. Важное значение имеет изменчивость самого возбудителя – появление в 90-х годах прошлого столетия высокопатогенных генетически изменённых вариантов вибриона Эль Тор, содержащих гены классического холерного токсина, обладающих высокой адаптацией во внешней среде. Распространение в мире таких вариантов вибриона Эль Тор привело к возникновению на новых территориях длительно текущих вспышек с тяжелой клиникой.

Проявления холеры в нашей стране имеют завозной характер с развитием в ряде случаев местных эпидосложнений, в т. ч. за счёт экологических факторов эпидемического процесса. Привлекает внимание обнаружение в объектах окружающей среды на фоне эпидблагополучия высокопатогенных вариантов возбудителя холеры, а также нетоксигенных штаммов, содержащих токсинорегулируемые пили адгезии. Выделение из поверхностных водоёмов штаммов холерного вибриона O1, не содержащих ген холерного токсина, но имеющих кластер VPI (*tcpA* и *toxT*) может иметь значение в этиологии вспышек и спорадических случаев диарейных заболеваний. Это связано с

наличием у изолятов ряда генетических детерминант дополнительных токсинов, количество и уровень экспрессии которых может различаться (Монахова Е.В. 2012; Осина Н.А. с соавт., 2013; Ali M. et al., 2012; и др.). Для сравнения популяций нетоксигенных штаммов холерного вибриона, используются молекулярно-биологические методы с разной дискриминирующей силой (Смирнова Н.И. с соавт., 2015; Кульшань Т.А. с соавт. 2015; и др). В настоящее время отсутствует единый подход, позволяющий комплексно охарактеризовать и систематизировать многолетние данные изучения различных по происхождению и токсигенности штаммов *V. cholerae* O1, O139 из объектов окружающей среды (ООС) территории России по фенотипическим и генотипическим свойствам. Не установлено минимальное количество генетических детерминант, определение которых даёт достоверное представление о происхождении, сходстве/различии штаммов и позволяет проводить их генотипирование с привязкой к временному и территориальному форматам, что помогает оценить способность изолированных ООС нетоксигенных штаммов к переживанию на территории субъектов Российской Федерации.

С учётом изложенного тема диссертационной работы Дарьи Александровны Левченко “Анализ результатов микробиологического мониторинга холерных вибрионов в объектах окружающей среды на территории Российской Федерации с 1989 г по 2016 г.”, цель которой заключается в изучении фенотипического и генотипического разнообразия штаммов холерных вибрионов O1, O139 различной эпидзначимости, выделенных за 27 лет из объектов окружающей среды различных регионов бывшего СССР, федеральных округов и субъектов России, актуальна и отвечает требованиям современной науки и практики. В соответствии с целью исследования определены задачи по выяснению разных сторон вопроса.

Новизна полученных результатов и выводов диссертации. Новизна исследования и полученных автором результатов заключается в разработке способа идентификации нетоксигенных штаммов холерного вибриона Эль Тор методом ПЦР-генотипирования на основе детекции минимального количества (14) генов-мишеней, что позволяет достоверно классифицировать и систематизировать штаммы при микробиологическом мониторинге за холерой. Приоритетность способа подтверждена заявкой на изобретение (№2017127665 от 01.08.2017 г.). По результатам ПЦР-анализа, проведённого с использованием набора минимального количества генетических детерминант, подтверждена гетерогенность нетоксигенных штаммов *V. cholerae* и установлен у выборки из 408 нетоксигенных вибрионов Эль Тор 81 генотип, составивший десять кластеров, обнаруживающихся в водных ООС на территории ФО и субъектов РФ на протяжении от одного года до нескольких лет.

Новизмой работы является создание пополняемой База данных (БД) ГИС “Холера 1989-2014”, содержащей данные для систематизации результатов микробиологических и молекулярно-биологических исследований штаммов холерных вибрионов из ООС. ГИС обеспечивает сравнительный анализ выделенных штаммов холерных вибрионов разной токсигенности по фенотипу и генотипу, что способствует повышению эффективности мониторинга на территории РФ в текущий период и в перспективе.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов. На основе характеристики штаммов *V. cholerae* O1, O139, поступивших в референс-центр с территории Российской Федерации, разработана пополняемая БД ГИС “Холера 1989-2014” (Свидетельство №2014621055, 2014 г.), позволяющая оценить ситуацию по контаминации ООС штаммами *V. cholerae* O1, O139 в динамике по ФО, субъектам и конкретным водным объектам. Указанная БД ГИС интегрирована в геоинформационный портал ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора и используется в НИР специалистов лаборатории диагностики ООИ (акт внедрения от 02.05.2017 г.). С помощью разработанной БД ГИС проведён сравнительный анализ фено-и генотипических свойств штаммов *V. cholerae* O1 и O139 из

ООС с учётом их количества и повторяемости выделения по годам на территории России за 27-летний период.

Разработаны методические рекомендации “ПЦР-генотипирование нетоксигенных штаммов холерных вибрионов” (утв. 05.04.2017 г.) и используются в работе сотрудников лаборатории диагностики ООИ ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт” Роспотребнадзора (акт внедрения от 02.05.2017 г.) и лаборатории холеры ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (акт внедрения от 27.04.2017 г.). Полученные при выполнении диссертационного исследования материалы могут быть использованы в учебном процессе при подготовке специалистов по программе дополнительного профессионального образования.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений. Положения, выносимые на защиту, выводы и заключение диссертации обоснованы, отражают результаты проделанной работы и соответствуют поставленным целям и задачам. Достоверность полученных результатов основана на информационно-аналитической методологии комплексного подхода к учёту результатов с применением ГИС-технологий. О достоверности результатов работы говорит значительный объём проведённых исследований (1158 штаммов холерного вибриона O1 и O139 серогрупп) на прошедшем метрологическую поверку оборудовании с применением современных бактериологических методов, MALDI-TOF масс-спектрометрии, расширенного ПЦР-анализа (для детекции набора из 39 генов), VNTR-типирования, проведения кластерного анализа (на основе VNTR и ПЦР-генотипирования) и др., статистической обработки полученных данных (при использовании соответствующих программ) и личный вклад автора в разработку проблемы.

Анализ литературных данных, определение цели и задач работы, выполнение бактериологических, серологических, молекулярно-биологических исследований, анализ, систематизация и статистическая обработка результатов, оформление патента и методических рекомендаций, подготовка публикаций, написание диссертации и автореферата проводились лично автором или при его непосредственном участии. Фаготипирование штаммов выполнялось совместно с зав. лабораторией бактериофагов к.м.н. Н.Е. Гаевской. VNTR-генотипирование и создание БД ГИС - совместно с руководителем группы вирусологии к.м.н. А.С. Водопьяновым.

Оценка содержания диссертации, её завершенность в целом, предложения по оформлению. Диссертационная работа Д.А. Левченко выполнена в лаборатории микробиологии холеры ФКУЗ “Ростовский-на-Дону противочумный институт” Роспотребнадзора в рамках трёх плановых тем НИР: “Изучение циркуляции холерных вибрионов в водоёмах и стоках г. Ростова-на-Дону с комплексной оценкой эпидемической опасности выделенных культур” (№ гос. регистрации 1020.0800412); Разработка ГИС “Распространение холерных вибрионов в объектах окружающей среды на территории России 1989-2004, 2009-2014 гг.” (№ гос. регистрации 01201002618); “Характеристика биологических свойств и генетической организации холерных вибрионов, выделенных из объектов окружающей среды на территории Ростовской области” (№ гос. регистрации 01201352135).

Диссертация построена по традиционному плану, изложена на 157 страницах, содержит введение, обзор литературы, описание материала и методов исследования, пяти глав собственных исследований, заключения, выводов, списка сокращений и списка литературы. Список литературы представлен 211 работами, из которых 156 отечественных и 55 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 30 таблицами и 22 рисунками.

Раздел “Введение” содержит основную информацию о проделанной работе. В нём представлены обоснование актуальности выполнения работы, цель и задачи исследования,

научная новизна и практическая ценность работы, данные о публикациях, структуре и объёме диссертации, выносимых на защиту основных положениях.

В главе “Обзор литературы”, состоящей из четырёх подразделов, представлены тенденция и особенности эпидемиологической ситуации по холере на современном этапе развития седьмой пандемии в мире и на территории Российской Федерации, позволяющие оценить ситуацию по холере в мире, как неблагополучную. Подчёркивается тенденция возникновения заболеваний и редких вспышек холеры на территории страны, обусловленная заносами с эндемичных территорий без распространения (Онищенко Г.Г. с соавт., 2007 и др.). В этой связи определённое значение приобретают эволюционные изменения генома холерного вибриона Эль Тор (Смирнова Н.И. с соавт., 2005, 2007, 2008, 2011; Ерошенко Г.А. с соавт., 2008; Савельев В.Н. с соавт., 2012; Ali M. et al 2012; Thompson C.C. et al. 2011 и др.). Отмечены единичные случаи обнаружения в водных ООС токсигенных (при отсутствии эпидосложнений по холере) и ежегодное выделение десятков нетоксигенных штаммов вибриона Эль Тор, не содержащих ген холерного токсина, но имеющих кластер *VPI* (*tcpA* и *toxT*), что определило неустойчивую обстановку по холере в России (Ломов Ю.М. с соавт, 2012; Монахова Е.В. 2012; Москвитина Э.А. с соавт. 2014; 2015) с регистрацией вспышки и единичных случаев диарейных заболеваний в Каменском районе Ростовской области в 2005 г. и в Республике Калмыкия (2011г). При этом вероятность образования геновариантов с повышенным эпидпотенциалом в условиях поверхностных водоёмов нашей страны характеризуется как крайне низкая, но высокая для эндемичных по холере стран. Ежегодное выделение нетоксигенных штаммов вибриона Эль Тор в летний период из водных экосистем подтверждает возможность вовлечения ООС в эпидпроцесс при заносе токсигенных штаммов с эндемичных территорий и указывает на необходимость выявления мест контаминации холерными вибрионами O1, O139 водных объектов и их устранения (Балахонов С.В. с соавт. 2010, 2012, 2013, 2014 и др.).

При оценке эпидзначимости штаммов *V. cholerae* O1 помимо основных факторов патогенности (*ctxA* и *tcpA*) рассматриваются генетические детерминанты дополнительных токсинов *Zot*, *Ace* и адгезин *Cep*, гены которых входят в состав полного и неполного профага *CTXφ*, гемагглютинин-протеаза (HAP), цитотонический фактор *Cef*, цитотоксический фактор *RtxC*, *VPI-2* с геном нейраминидазы, *mshA*, шигаподобный (*slt1*) и термостабильный (*stn/sto*) токсины системы секреции III типа (*TTSS*, *Ves-V. cholerae* secretion), которая родственна кластеру генов *TTSS2*, обнаруженных у пандемического клона *V. parahaemolyticus*, система секреции шестого типа (*T6SS*), в состав которой входят гены *vasA*, *vasK*, *vasF* (Монахова Е.В. с соавт., 2005, 2006; Boyd E.F. et al., 1996; Wu Z. et al., 2000). В связи с этим важное место занимает детекция в расширенном диапазоне детерминант факторов патогенности нетоксигенных штаммов, что при разработке современных БД ГИС позволяет комплексно оценить изолированные на территории России штаммы холерных вибрионов на основе их биологических свойств, в.т.ч. на молекулярном уровне.

Начиная с 90-х годов XX века БД ГИС используются в здравоохранении разных стран мира. ГИС связаны с системой управления мероприятиями ВОЗ в случаях ЧС, имеющих международное значение. Диссертант приводит примеры внедренных БД по социально-значимым паразитозам в РФ, электронный паспорт природного очага чумы, БД стационарно неблагополучных по сибирской язве населённых пунктов Республики Казахстан, БД “Сибирская язва. Зона затопления ложа водохранилища Богучанской ГЭС” на платформе ArcGis и др. Диссертант останавливается также на этапах систематизации результатов мониторинговых исследований во время VII пандемии холеры: 1) создание “Справочника-кадастра” (Мединский Г.М. с соавт., 1991); 2) БД ГИС “Распространение холерных вибрионов в ООС на территории РФ в 2005-2008 гг.” (Голубев В.П. с соавт., 2010). Внедрение в практику этих двух документов явилось основой создания и

применения ГИС-технологии в научно-техническом обеспечении эффективности мониторинга за холерой. Во ФКУЗ “Ростовский-на-Дону противочумный институт” Роспотребнадзора референс-центре по мониторингу за холерой существует ряд различных БД, позволяющих давать оценку эпидобстановке по холере на глобальном и территориальном уровнях. БД ГИС дают возможность проводить биоинформационный анализ в аспекте многолетних данных о циркуляции в водных ООС штаммов *V. cholerae* O1, O139 и холерных вибрионов не O1/не O139 серогрупп. Проведенный анализ литературы позволил сформулировать актуальность, цель и задачи диссертационной работы.

Собственные исследования диссертанта выполнены с применением описанных в главе “Материалы и методы” микробиологического, MALDI-TOF масс-спектрометрического, молекулярно-генетических и др. методов исследования. В работе использовано 1158 штаммов холерных вибрионов O1, O139 серогрупп, изолированных из ООС на территориях 45 субъектов РФ с 1989 по 2016 гг. В качестве контрольных использованы штаммы *V. cholerae* El Tor M 878; и *V. cholerae* O1 *classicae* P-1391; *V. cholerae* non O1/non O139 P9741. Для углубленной генотипической характеристики взята репрезентативная выборка, состоящая из 408 нетоксигенных штаммов, изолированных на территории РФ. ПЦР-генотипирование штаммов проводилось с применением праймеров для детекции набора из 39 генов.

Генотипирование нетоксигенных штаммов холерных вибрионов O1 Эль Тор *ctxA⁻tcpA⁺* осуществлялось методом VNTR. Кластерный анализ распределения аллелей локусов VNTR и ПЦР-генотипов приведён с использованием метода UPGMA и разработанной геоинформационной системы “Холера. Штаммы-VNTR” (Водопьянов А.С. с соавт. 2007). Статистическая обработка результатов исследования проведена с помощью компьютерной программы “Статистика”. Расчёт дискриминирующей силы вычислялся по формуле Симпсона (Struelens M.Y. et al., 1996).

В главе 3 представлены материалы проведённого ретроспективного анализа результатов мониторинга холерных вибрионов O1, O139 в объектах окружающей среды на территории Российской Федерации с 1989 по 2016 гг. Составлен перечень ФО и их субъектов, где регистрировалось выделение из ООС холерных вибрионов O1, O139 серогрупп разной эпидзначимости. Показано, что за этот период из ООС вибрионы Эль Тор изолированы на территориях всех ФО (за исключением трёх административных территорий России – Республика Бурятия, а также Калининградская и Псковская области, где штаммы начали обнаруживаться с 2013 г.). Обращает на себя внимание выделение на территории России из ООС токсигенных штаммов в период эпидблагополучия (всего 15 штаммов). Вызывает недоумение, почему в эту группу, согласно данным диссертанта, вошли 3 эпидемических штамма вибриона Эль Тор из поверхностных водоёмов Сахалинской области (р. Хомутовка и сточные воды) и 1 эпидемический штамм из Приморского края (бухта Горностай залива Петра Великого Японского моря), выделенные в 1999 г. в период эпидосложнений после заноса возбудителя на эти территории.

Подавляющее большинство холерных вибрионов O1, O139 из объектов окружающей среды территорий РФ составляют нетоксигенные штаммы (1143), периодически выделяющиеся в девяти субъектах. Ежегодное выделение штаммов O1 и R-варианта отмечалось только в трёх субъектах (Республика Калмыкия, Забайкальский край и Ростовская область). Наибольшее количество изолятов из ООС обнаруживалось на территории ЮФО (Республика Калмыкия-28,7%, Ростовской области-13,1%), ДФО (Приморского края-10,7%) и Краснодарского края – 9,8%.

На основе анализа повторяемости по годам выделения нетоксигенных штаммов холерных вибрионов O1, O139 и R-вариантов диссертантом установлены ООС, в которых холерные вибрионы либо переживают от года до нескольких лет, либо представляют собой новые заносы. К таким водоёмам относятся реки Москва, Дон, Темерник,

Элистинка, Волга, Нева (место впадения в Финский залив), Амур. Полученные данные позволили диссертанту говорить о том, что водные экосистемы ЮФО (Республика Калмыкия и Ростовская область) имеют наиболее благоприятные условия для переживания в них нетоксигенных штаммов вибриона Эль Тор, но не исключая при этом новые заносы.

Глава 4 диссертации посвящена сравнительному анализу фено-и генотипических свойств штаммов холерных вибрионов, изолированных из ООС на территории страны. Определение фенотипических свойств 1158 штаммов из ООС показало, что культуры холерного вибриона O1 типичны по родовым и видовым свойствам в.т.ч по результатам использования MALDI-TOF масс-спектрометрии. Наиболее высокий процент выделенных культур вибриона Эль Тор относится к серовару Огава (52%), затем Инаба (41%), к серовару Гикошима – 1%, холерные вибрионы R-варианта составляют 5,0% и вибрионы O139 – 0,9%. Количество устойчивых штаммов вибриона Эль Тор к фагам Эль Тор и С составляет 81,7%. Принадлежность к фаготипу удалось установить у 15,3% (177) штаммов.

Диссертантом установлено, что культуры, принадлежащие к 5, 13, 16 и 17 фаготипам, обнаруживаются на протяжении не более двух- трёх лет; штаммы 4, 10, 11, 14 и 19 фаготипов – не более одного года, а изоляты Эль Тор 15 фаготипа выделяются из ООС разных регионов России на протяжении почти всего периода.

В работе показано, что все токсигенные штаммы из ООС содержат кластеры *CTX ϕ* , *RTX*, *tol*, гены RS1, RS2-элементов островов патогенности VPI-1 и VPI-2, T6SS, а также гены *cef*, *hapR*, *toxR*, *mshA*, *wbe*, но не содержат *stn/sto*, *slt*, *tdh*, *trh*, *wbf*, остальные гены (T3SS) наличествуют в разных сочетаниях. Биоинформационный анализ результатов секвенирования показал, что большинство токсигенных штаммов относится к генетически изменённым (Писанов Р.В. с соавт., 2015). Исключение составляют два типичных штамма, выделенных из ООС в Ростовской области в 1999 г. – *V. cholerae* O1 *classicae* Ogawa (поверхностный водоём) и в 2000 г. – *V. cholerae* O1 El Tor Инаба (стоки). С учётом генотипической вариабельности нетоксигенных вибрионов Эль Тор диссертантом проведено углубленное ПЦР-генотипирование репрезентативной выборки 408 штаммов Эль Тор из ООС по расширенному спектру, включающему 39 генетических детерминант факторов патогенности.

В главе 5 представлены данные по разработке пополняемой базы данных ГИС “Холера 1989-2014”. Полученные данные по количеству выделенных из ООС штаммов O1, O139 и R-варианта (1158 штаммов), их фено- и генотипической характеристике, были сгруппированы в электронные таблицы, послужившие основой создания пополняемой базы данных ГИС “Холера 1989-2014”. Диссертант детально описывает установку компьютерной программы, алгоритмы работы с базой данных и редактирование информации. При выделении нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 диссертант считает необходимым разработку нового методического подхода к их систематизации и определению происхождения (занос или переживание) путём сравнения генотипов выделенных в данный момент штаммов и обнаруженных ранее. Представляется излишне подробным описание в диссертации алгоритма работы с базой данных.

В главе 6 диссертации представлены данные ПЦР-генотипирования нетоксигенных штаммов холерного вибриона Эль Тор, выделенных из ООС на территории России. С учётом вариабельности генетических детерминант подбор минимального числа генов-мишеней проводился, используя статистическую обработку данных с помощью разработанной таблицы с применением введенного коэффициента совместимости (КС-повторяемость сочетанных генов). При генотипировании по 39 генетическим детерминантам факторов патогенности результаты основывались на учёте детекции генов, имеющих наибольший КС в разных парных комбинациях.

Анализ сочетания парных генетических детерминант из 39 генов по результатам генотипирования позволил составить комбинацию минимального количества (14) генов-мишеней для последующего определения их дискриминирующей силы (формула Симпсона). При учёте результатов по 39 генам удалось установить принадлежность штаммов к 90 уникальным генотипам, объединённым в 10 кластеров (дискриминирующая сила 0,924). В то же время на основании генотипирования, проведённого по результатам ПЦР-детекции с помощью набора из 14 генов-мишеней исследуемые культуры вибриона Эль Тор объединены в 10 кластеров, включающих 81 генотип (дискриминирующая сила 0,921).

В результате исследований диссертантом определено минимальное количество генов-мишеней (14) с высокой дискриминирующей силой (0,921), детекция которых даёт возможность достоверно систематизировать нетоксигенные штаммы холерного вибриона путём ПЦР-генотипирования. При сравнении двух методов генотипирования установлено, что ПЦР-генотипирование обладает большей разрешающей способностью (0,93), чем VNTR-типирование (0,83). Данные по генетической характеристике исследованных штаммов позволили диссертанту сделать вывод о завозном происхождении изолятов *ctx⁻tcpA⁺*, которые, попадая в водоёмы с благоприятными климато-географическими условиями, в частности, на территории Ростовской области или Республики Калмыкия, могут непродолжительно сохраняться (переживать), при этом утрачивая, или приобретая гены и таким образом приспосабливаясь к условиям окружающей среды.

В главе 7 описано прикладное использование способа генотипирования нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 El Tor по минимальному набору генов –мишеней при анализе результатов мониторинга холерных вибрионов, выделенных из объектов ООС на разных территориях России.

В заключении диссертации кратко изложены основные результаты исследования, их обсуждение и сравнение с данными других авторов. Положения, выносимые на защиту, и выводы диссертации обоснованы и отражают результаты проведённой работы.

Работа не лишена отдельных опечаток и несогласованных окончаний, однако всё это не снижает значимости и ценности выполненного исследования.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации. Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям диссертации.

Подтверждение опубликованных основных результатов диссертации в научной печати. Опубликовано 45 научных работ, из них 8 – в изданиях, рекомендованных ВАК. Материалы диссертации представлены на российских научных конференциях и конференциях с международным участием, заседаниях проблемной комиссии “Холера и патогенные для человека вибрионы” в рамках Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории РФ (Ростов-на-Дону, 2013-2016 гг.) и др.

Заключение. Диссертация Левченко Дарьи Александровны выполнена на высоком методическом уровне, является завершённой научно-квалификационной работой, в основу которой положены материалы проведения ретроспективного сравнительного анализа динамики выделения холерных вибрионов O1, O139 из водных объектов на территории России с учётом особенностей их биологических свойств и расширенного диапазона детерминант факторов патогенности. Созданная пополняемая БД ГИС “Холера. 1989-2014” с определением молекулярно-биологических свойств выделяемых из ООС страны штаммов холерных вибрионов O1, O139 интегрирована в геоинформационный портал ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. Предложенный автором способ генотипической идентификации нетоксигенных штаммов холерного вибриона O1 с помощью ПЦР по “минимально необходимому количеству генетических детерминант” хотя и трудоёмок, но в отдельных случаях необходим для

определения генотипа выделенного штамма с высокой степенью дискриминации. Работа содержит новые результаты и вносит вклад в практику.

В целом по актуальности, содержанию, научно-практической значимости и новизне полученных результатов работа соответствует критериям п. 9 "Положения о порядке присуждения учёных степеней", утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., а её автор Д.А. Левченко заслуживает присуждения учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03-микробиология.

Отзыв обсуждён на Учёном совете ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (протокол № 3 от 29.03.2018 г.).

Доктор медицинских наук
старший научный сотрудник лаборатории
холеры Федерального казённого учреждения
здравоохранения "Иркутский ордена Трудового
Красного Знамени научно-исследовательский
противочумный институт Сибири и Дальнего
Востока" Федеральной службы по надзору в сфере
защиты прав потребителей и благополучия человека" Л.Я. Урбанович

29.03.18.

Подпись Урбанович Л.Я. заверяю
Начальник отдела кадров и спецчасти
того же института



Н.И. Шангареева

664047 Иркутская область, Иркутск, ул. Трилиссера, д.78;
телефон + 7(3952) 22-01-39, Факс + 7(3952) 22-01-40, <http://www.irkutsk.ru/chumin>, E-mail:
adm@chumin.irkutsk.ru