

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Чекрыгиной Елены Владимировны «МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫХ И ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ В СТАВРОПОЛЬСКОМ КРАЕ, КОМПЛЕКСНОЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ ПАТОГЕНОВ ТЕРРИТОРИИ», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11 – микробиология

Актуальность темы диссертационного исследования

Геномный надзор – важный элемент системы эпидемиологического надзора и микробиологического мониторинга за возбудителями инфекционных болезней, апробированный на примере SARS-CoV-2 и внедряемый в эпидемиологическую практику. Для практического использования данных о генетической гетерогенности патогенных микроорганизмов в рамках осуществления мониторинга популяций патогенов и анализа эпидемических вспышек необходимо накопление достаточного объема информации о геномных характеристиках возбудителей, циркулирующих в различных регионах РФ и зарубежных странах, а также получение комплексной информации о геновидовом спектре возбудителей, характерных для изучаемого региона. Создание баз данных генотипов региональных штаммов и выполнение планового генетического мониторинга популяций возбудителей актуально, в первую очередь, для патогенов, способных вызывать тяжёлые формы заболеваний и массовые вспышки инфекционных болезней. Ставропольский край, как важный рекреационный регион РФ, был выбран в качестве модельного региона для осуществления комплексного изучения генетических особенностей возбудителей острых кишечных и природно-очаговых инфекций. Таким образом, тема диссертационного исследования, несомненно, является **актуальной**.

Новизна исследований

Диссертационная работа, несомненно, обладает **научной новизной**. Соискателем впервые выполнено комплексное молекулярно-генетическое популяционное профилирование возбудителей природно-очаговых и острых кишечных инфекций, характерных для Ставропольского края. Получены новые данные о генетических вариантах возбудителей природно-очаговых инфекций (боррелий, туляремии, риккетсий, ортохантавирусов, вирусов ККГЛ и ЗН) и лихорадки Ку, а также острых кишечных инфекций (сальмонелл, ротавирусов, норовирусов, энтеровирусов), выявленных на данной территории, а также об особенностях распространения отдельных генетических вариантов возбудителей ПОИ в регионе. Впервые на территории Ставропольского края выявлены и

охарактеризованы РНК-изоляты ортохантавирусов CampRipley (RPLV) и Kenkeme (KKMV).

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Теоретическая и практическая значимость работы заключается в том, что автором получены данные о генетических особенностях штаммов возбудителей ПОИ и ОКИ, с применением геоинформационных систем локализованы места их выделения в Ставропольском крае. Результаты исследований могут быть использованы при проведении молекулярно-эпидемиологического анализа отдельных случаев и вспышек инфекционных заболеваний, мониторинга популяций возбудителей ПОИ и ОКИ, а также прогнозирования развития эпидемиологической ситуации на основании анализа данных о биологических особенностях отдельных геновариантов возбудителей.

На основе полученных экспериментальных данных создана и зарегистрирована в ФИПС база данных «Генетические варианты возбудителей ОКИ и ПОИ, выявленные в Ставропольском крае в 2016–2021 гг.». Разработаны методические рекомендации «Геномное профилирование ПБА отдельных регионов (на примере Ставропольского края)» учрежденческого уровня внедрения. Результаты работы используются при чтении лекций на кафедре микробиологии ФГБОУ ВО Ставропольского ГМУ Минздрава России. Полученные результаты могут использоваться при осуществлении микробиологического мониторинга популяций возбудителей природно-очаговых и острых кишечных инфекций.

Достоверность и степень обоснованности научных положений и выводов

Основные научные положения и выводы аргументированы, основаны на достоверных результатах, отражают содержание диссертации и отвечают поставленным цели и задачам. Достоверность результатов работы подтверждена достаточной репрезентативностью выборки образцов для исследования: выполнена генетическая характеристика 191 штамма бактерий, 13 штаммов вирусов, 300 изолятов нуклеиновых кислот, выявленных в образцах полевого и клинического материала; длительным сроком наблюдений; использованием микробиологических, молекулярно-генетических методов, адекватных цели и задачам исследования, а также методов статистической и биоинформационной обработки полученных результатов.

Основные результаты, полученные при выполнении диссертационного исследования представлены и обсуждены на региональных и всероссийских научных конференциях (2017–2022 гг.), в т.ч. на XI съезде Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов (Москва, 2017).

Основное содержание работы отражено в 13 научных публикациях, в том числе 4 –

в ведущих научных журналах из перечня ВАК РФ.

Краткая характеристика основного содержания диссертации

Диссертационная работа построена по традиционному принципу, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, предложений по перспективам продолжения исследований, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы.

Во введении соискатель формулирует актуальность работы, определяет цель и основные задачи исследования, обосновывает научную новизну, теоретическую и практическую значимость, исследования, приводит основные положения, выносимые на защиту.

В **обзоре литературы** дан подробный анализ отечественных и зарубежных источников, в которых освещены вопросы эпидемиологической обстановки по природно-очаговым и острым кишечным инфекциям в Ставропольском крае в 2016–2022 гг., методов молекулярно-генетического типирования микроорганизмов и их применения при проведении микробиологического мониторинга, дано краткое заключение по обзору литературы. Обзор основан на большом объеме материала, демонстрирует хорошую осведомленность автора по предмету исследований. Диссертант не ограничивается констатацией опубликованных данных, проводит их анализ.

В **Главе 2** автор описывает материалы, оборудование и методы, используемые для проведения исследований. В процессе работы для проведения генетического типирования возбудителей природно-очаговых инфекций использованы культуры микроорганизмов и образцы биоматериала, содержащие геномную ДНК/РНК возбудителей. При выполнении работы использованы микробиологические, молекулярно-генетические методы; методы биоинформационного, статистического и картографического анализа.

В **Главе 3** собственных исследований «Генетическое профилирование возбудителей природно-очаговых инфекций, циркулирующих на территории Ставропольского края» представлены результаты комплексного геномного анализа штаммов и изолятов нуклеиновых кислот возбудителей в популяции на территории Ставропольского края. Получены новые сведения о генетических вариантах боррелий, риккетсий, *Francisella tularensis*, *Coxiella burnetii*, ортохантавирусов, вирусов Крымской-Конго геморрагической лихорадки и Западного Нила, характерных для данного региона и особенностях их распространения. Полученные данные о генетических профилях возбудителей ПОИ и лихорадки Ку в Ставропольском крае в дальнейшем использовались при проведении эпидемиологического расследования случаев и вспышек инфекционных болезней.

В **Главе 4** проведён комплексный геномный анализ штаммов и изолятов нуклеиновых кислот возбудителей ОКИ, циркулировавших на территории Ставропольского края в 2016–2019 гг. Получены новые сведения о соотношении генетических вариантов *S. enteritidis*, рота-, норо-, энтеровирусов выявленных в данном регионе.

В **Главе 5** автором описано создание базы данных генетических профилей возбудителей природно-очаговых и острых кишечных инфекций, выявленных в Ставропольском крае, содержащей секвенированные нуклеотидные последовательности генома (фрагментные и полноразмерные), информацию о схеме идентификации генетических вариантов, эпидемиологически значимые данные об исследованных образцах. Показано применение методов молекулярно-генетического типирования для эпидемиологической расшифровки вспышек и случаев заболевания ПИИ в Ставропольском крае, в частности, вспышек туляремии в 2017 и в 2022 гг. С использованием методов геномного анализа подтверждено, что источником инфекции явилась водопроводная вода, контаминированная возбудителем туляремии, при попадании в источник водоснабжения инфицированных грызунов.

Проведена молекулярно-генетическая идентификация РНК-изолята вируса ККГЛ, вызвавшего летальный случай КГЛ в Андроповском районе Ставропольского края в 2022 г. Установлено, что атипичный случай КГЛ вызван геновариантом вируса ККГЛ VaVaVa генетической линии Европа-1, содержащим мутацию G136D в последовательности белка РНК-зависимой РНК полимеразы. Подобные штаммы ранее выделяли в Ставропольском крае от больных КГЛ со среднетяжёлым и тяжёлым течением болезни.

Заключение диссертации отражает актуальность проблемы и подводит итоги исследований, перспективы дальнейшей разработки темы, выделяет наиболее значимые практические результаты и намечает возможности их применения в дальнейших исследованиях.

Выводы аргументированы, основаны на достоверных результатах, отражают содержание диссертации и отвечают поставленным цели и задачам.

Автореферат диссертации соответствует теме диссертационного исследования, в достаточной степени отражает все ключевые характеристики диссертационной работы и содержание её разделов.

Соответствие специальности

Диссертационная работа Чекрыгиной Е.В. соответствует следующим пунктам паспорта специальности 1.5.11. Микробиология: 1 – систематика и филогения

микроорганизмов, 11 – геномный и метагеномный анализ микроорганизмов и их сообществ, 12 – патогенные микроорганизмы, факторы вирулентности и патогенности.

Личный вклад соискателя в получение результатов, изложенных в диссертации

Автором осуществлено планирование этапов исследования, проведен анализ данных отечественной и зарубежной литературы, а также лично или при его участии выполнены микробиологические, молекулярно-генетические исследования, статистический анализ. Диссертант принимал непосредственное участие в выполнении лабораторных исследований образцов полевого и клинического материала на наличие нуклеиновых кислот возбудителей ОКИ и ПОИ, выполнил молекулярно-генетические исследования штаммов и изолятов их нуклеиновых кислот, анализ и интерпретацию полученных результатов, сформулировал выводы и основные положения, выносимые на защиту. Обработку результатов MLVA-25 и CanSNP типирования штаммов *F. tularensis* проводили в соавторстве с биологом лаборатории диагностики бактериальных инфекций ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Гнусаревой О.А. Видовую идентификацию изолятов ДНК боррелий на основе анализа последовательности участка гена 16s РНК выполняли в соавторстве с младшим научным сотрудником лаборатории диагностики бактериальных инфекций ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Зайцевой О.А.

Вопросы и замечания по диссертационной работе

Принципиальных замечаний к работе нет, однако в процессе изучения диссертации возникло несколько вопросов:

– при написании названий микроорганизмов необходимо первый раз писать родовое и видовое название полностью, а далее по тексту – родовое название сокращённо, этому правилу следовать и при написании названия клещей и латинских названий мышевидных грызунов, насекомоядных и т.п.;

– в тексте обзора литературы указано, что метод MLVA не подходит для проведения филогенетического и эволюционного анализа, однако в 3 главе приведено филогенетическое дерево, построенное на основе VNTR-профилей штаммов.

Сделанные замечания не умаляют достоинств рецензируемой работы, которая основана на научных результатах исследований, имеет несомненную научную новизну, теоретическое и практическое значение.

Заключение

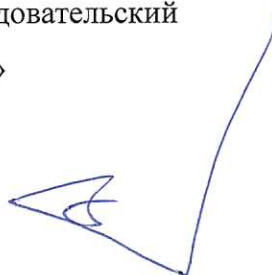
Диссертационная работа Чекрыгиной Елены Владимировны «МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫХ И ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ В СТАВРОПОЛЬСКОМ КРАЕ, КОМПЛЕКСНОЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ ПАТОГЕНОВ ТЕРРИТОРИИ», представленная на соискание

ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11 – микробиология, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи по комплексной молекулярно-генетической характеристике возбудителей природно-очаговых и острых кишечных инфекций, выявленных на территории Ставропольского края, имеющей значение для совершенствования эпидемиологического надзора за инфекционными болезнями.

Диссертация отвечает требованиям пп.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в ред. Постановлений Правительства РФ № 335 от 21.04.2016 г., № 748 от 22.08.2016 г., № 650 от 29.05.2017 г., № 1024 от 28.08.2017 г., № 1168 от 01.10.2018 г., измен. внесенными Постановлением Правительства РФ № 426 от 20.03.2021 г., № 1690 от 06.12.2022 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Чекрыгина Елена Владимировна заслуживает присуждения искомой степени по специальности 1.5.11 - микробиология.

Официальный оппонент:

Директор ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций»
Роспотребнадзора,
доктор медицинских наук, профессор



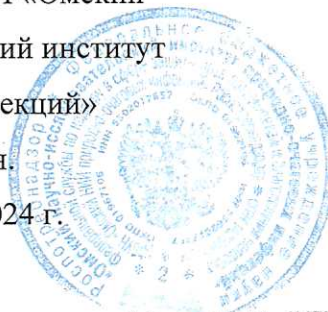
Рудаков Н.В.

Подпись Н.В. Рудакова удостоверяю.

Ученый секретарь ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций»

Роспотребнадзора, к.м.н.

« 18 » марта 2024 г.



Решетникова Т.А.

Адрес: 644080, г. Омск, проспект Мира, д. 7, ФБУН Омский НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора. Контактный телефон: (3812) 65-06-33.

Адрес электронной почты: mail@oniipi.org