

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН «Центральный  
научно-исследовательский институт

эпидемиологии» Роспотребнадзора,

академик РАН, д.м.н., профессор

В.Г.Акимкин



«22» марта 2024 г.

### ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека о научно-практической значимости диссертационной работы Чекрыгиной Елены Владимировны «Молекулярный анализ возбудителей природно-очаговых и острых кишечных инфекций в Ставропольском крае, комплексное генетическое профилирование патогенов территории», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. Микробиология

**Актуальность темы выполненной работы.** Геномный мониторинг за патогенными микроорганизмами, циркулирующими на отдельных территориях Российской Федерации, безусловно является базовым компонентом эпидемиологического надзора за инфекционными заболеваниями. Наибольшей информативностью при этом обладают различные методы секвенирования геномов их возбудителей, положенные в основу реализуемых на Федеральном уровне проектов геномного эпидемиологического надзора. Создание и поддержание баз данных генетических последовательностей патогенов, служит важнейшей основой для оценки их филодинамики и филогеографии на определенных территориях.

Вышеизложенное обуславливает высокую актуальность темы исследования.

### **Оценка научной новизны.**

Научная новизна исследования, проведенного диссертантом, заключается в получении актуальных сведений о генетических вариантах боррелий, риккетсий, *Francisella tularensis*, *Coxiella burnetii*, ортохантавирусов, вирусов ККГЛ и ЗН, сальмонелл, ротавирусов, норовирусов, энтеровирусов циркулирующих на территории Ставропольского края.

Получены новые данные об особенностях распространения отдельных генетических вариантов возбудителей ПОИ в регионе: в т.ч. штаммов возбудителя туляремии генетических подгрупп В.І и В.ІІІ и отдельных CanSNP типов (В.170, В.181, В.203, В.21, В.215, В. 26, В.77, В.79), штаммов вируса ККГЛ генетической линии Европа-3, РНК-изолятов ортохантавируса Тула, относящихся к отдельным подгруппам в пределах генотипа, геновидов боррелий и риккетсий.

Впервые на юге европейской части России выявлены и охарактеризованы РНК-изоляты ортохантавирусов CampRipley (RPLV) и Kenkeme (KKMV).

### **Значимость результатов исследования для науки и практики.**

Полученные в ходе выполнения работы данные обеспечивают возможность проведения информативных эпидемиологических исследований случаев спорадической и групповой заболеваемости природноочаговыми инфекциями.

Применение геоинформационных систем позволяет более рационально прогнозировать риски осложнения эпидемиологической ситуации по природноочаговым инфекциям на различных территориях, включенных в исследование.

Создана и зарегистрирована в ФИПС база данных «Генетические варианты возбудителей ОКИ и ПОИ, выявленные в Ставропольском крае в 2016-2021 гг.».

## **Достоверность результатов исследования**

Достоверность полученных результатов обеспечивается обоснованным выбором и применением современных методов и средств проведения исследований, а также длительным периодом наблюдений 2016-2022 годы.

## **Внедрение результатов исследования.**

На основании результатов исследования разработаны методические рекомендации «Геномное профилирование ПБА отдельных регионов (на примере Ставропольского края)» (учрежденческий уровень внедрения, утверждены директором ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, 2021 г.).

Результаты работы используются в преподавательской деятельности на кафедре микробиологии ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России.

## **Структура и объем диссертации.**

Текст диссертации изложен на 151 странице машинописного текста, построен по традиционному принципу и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, трех глав, содержащих описание основных разделов исследования, заключения, выводов, практических рекомендаций, описания перспектив продолжения исследований и списка литературных источников. Список литературы включает 191 источник: 99 отечественных и 92 иностранных. Работа содержит 22 иллюстрации и 14 таблиц.

**Во введении** диссертации представлено аргументированное обоснование актуальности реализации программ геномного мониторинга возбудителей инфекционных заболеваний. Автором сформулированы цель и задачи исследования, изложены научная новизна и теоретическая и практическая значимость проведенной работы, положения, выносимые на защиту, раскрыты научная и практическая значимость полученных результатов, приведены сведения о внедрении результатов исследования в практику, опубликованных работах и структуре диссертации.

**В первой главе** диссертации охарактеризована эпидемиологическая обстановка по природно-очаговым и острым кишечным инфекциям в Ставропольском крае, отражающая период выполнения исследования.

Подробно охарактеризованы методы субвидового генетического типирования патогенов бактериальной и вирусной природы, приведены результаты их применения на территории Ставропольского края в период, предшествовавший выполнению исследования. Изложенный материал позволяет автору сделать вывод о наиболее информативном алгоритме применения методов генетической характеристики патогенов в конкретных условиях выполнения исследования.

Во второй главе диссертации **«Материалы и методы»** подробно охарактеризованы объекты исследования – штаммы и изоляты ДНК/РНК возбудителей природно-очаговых и острых кишечных инфекций.

Автором приведены данные по источникам и времени изоляции исследуемых образцов. Дано описание микробиологических и молекулярно-генетических методов выявления возбудителей природно-очаговых и острых кишечных инфекций.

Детально охарактеризованы методы субвидового генетического типирования возбудителей туляремии, ККГЛ, ЛЗН, Ку – лихорадки, сальмонеллеза, риккетсий группы клещевых пятнистых лихорадок, боррелий, ортохантавирусов, рота-, норо- и энтеровирусов.

В данном разделе авторами представлен алгоритм сборки геномных последовательностей, филогенетического анализа, статистической обработки результатов исследования и картографического анализа.

Результаты генетического профилирования возбудителей природно-очаговых и острых кишечных инфекций представлены в двух главах.

**Третья глава** содержит результаты генетической идентификации возбудителей природно-очаговых инфекций.

Генотипирование *F. tularensis* с применением методов MLVA-25 и CanSNP позволило выявить 10 MLVA генотипов и 6 CanSNP типов возбудителя.

Характеристика РНК-изолятов вируса ККГЛ по фрагментам S, M и L сегментов генома вируса позволила выявить выраженное превалирование Va подгруппы генетической линии Европа-1 на данной территории. В рамках углубленного молекулярно-генетического анализа автором были определены полногеномные последовательности S, M и L сегментов генома 13 изолятов вируса ККГЛ.

Анализ 49 изолятов ДНК риккетсий, позволил выявить их принадлежность к пяти видам. Четыре изолята ДНК *C. burnetii* обладали идентичным VNTR профилем.

На основании характеристики генов 16s рибосомальной РНК 40 изолятов боррелий были дифференцированы на 6 видов с превалированием *B. afzelii*.

Исследованные ортохантовирuсы относились к подгруппам a, b,c,d,e, и f геноварианта Тула. Также были идентифицированы *Kenkeme virus* (KKMV) и *Camp Ripley virus* (RPLV).

Выборка РНК-изолятов вируса ЛЗН была представлена только тремя образцами.

**Четвертая глава** диссертации содержит результаты генетической идентификации возбудителей острых кишечных инфекций и энтеровирусной инфекции.

Для проведения субвидового типирования штаммов *Salmonella enterica* серовар Enteritidis использовался метод MLVA по пяти локусам. В ходе проведения исследования были выявлены 25 MLVA типов патогена.

Для проведения генотипирования РНК-изолятов рота-, норо- и энтеровирусов использовалось Сенгеровское секвенирование.

**Пятая глава** диссертационной работы посвящена разработке схем эффективного применения методов молекулярно-генетического анализа при эпидемиологической расшифровке случаев инфекционных заболеваний в Ставропольском крае. В работе представлена информация о структуре и принципах функционирования базы данных «Результаты генетического типирования штаммов и РНК-изолятов возбудителей ОКИ и ПОИ».

Данная глава содержит также описание примеров применения методов субвидового молекулярно-генетического типирования для эпидемиологической расшифровки спорадической и вспышечной заболеваемости туляремией, ККГЛ.

**Представленная на рассмотрение работа** является прикладным научным исследованием, в ходе которого был разработан методический подход для применения на практике данных молекулярно-генетического субвидового типирования возбудителей природно-очаговых и острых кишечных инфекционных болезней. Применение данного подхода позволило изучить особенности циркуляции и распространенности геновариантов возбудителей туляремии, ККГЛ, ЛЗН, Ку – лихорадки, сальмонеллеза, риккетсий группы клещевых пятнистых лихорадок, боррелий, ортохантавирусов, рота-, норо- и энтеровирусов в Ставропольском крае.

#### **Замечания к работе:**

1. Формулировка цели исследования требует корректировки. Молекулярно-генетическое типирование патогенов является не самостоятельной целью, а средством ее достижения.

#### **Вопросы:**

1. В числе наиболее актуальных групп патогенов для проведения генетического мониторинга на территории Ставропольского края автор наряду с природноочаговыми и острыми кишечными инфекциями упоминает и острые респираторные инфекции. Каковы критерии включения в диссертационное исследование именно первых двух групп нозологий.

2. В чем заключается «комплексность» молекулярно-генетического типирования (генетического профилирования), проведенного автором?

3. Как оценивалась автором достаточность репрезентативности выборки образцов проанализированной за шестилетний период наблюдений? Считает ли он репрезентативным объем выборки по энтеровирусам и ЛЗН (по 3 образца), *S. burnetii* (4 образца), норовирусам

(10 образцов), ротавирусам (19 образцов) для характеристики данных групп патогенов в указанный период наблюдений?

4. Реализована ли передача информации из базы данных «Результаты генетического типирования штаммов и РНК-изолятов возбудителей ОКИ и ПОИ» в государственную информационную систему сведений санитарно-эпидемиологического характера (Постановление правительства №2178)?

Принципиальных **замечаний** к работе нет.

Таким образом, поставленные задачи решены в полном объеме, содержательная цель работы достигнута. Замечаний по методологическому построению работы, достоверности полученных результатов нет.

По теме исследования опубликовано 13 научных работ, из них 3 статьи в периодических изданиях из перечня ведущих рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК РФ.

Автореферат в полной мере отражает данные диссертационного исследования и соответствует содержанию и основным положениям диссертации.

**Личное участие автора** представлено на всех этапах работы – от планирования дизайна исследования до реализации поставленных задач по проведению генетических исследований, разработке базы геномных данных, интерпретации результатов исследований и разработке рекомендаций по их практическому применению.

#### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Результаты, полученные при выполнении диссертационной работы Чекрыгиной Елены Владимировны могут успешно дополнить применяемые схемы мониторинга за циркулирующими в России штаммами природно-очаговых и острых кишечных инфекций, позволяя повысить его эффективность.

Материалы диссертации используются в учебном процессе на кафедре микробиологии ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России.

### **Соответствие содержания диссертации паспорту специальности.**

Диссертационная работа Чекрыгиной Елены Владимировны «Молекулярный анализ возбудителей природно-очаговых и острых кишечных инфекций в Ставропольском крае, комплексное генетическое профилирование патогенов территории», полностью соответствует паспорту специальности 1.5.11. Микробиология.

### **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 законченной научно-квалификационной работой, в которой решена научная проблема, достигнута поставленная цель и решены задачи по разработке и успешному практическому применению методического подхода по реализации молекулярно-генетического мониторинга отдельных возбудителей природно-очаговых и острых кишечных инфекций.

По своей актуальности, научной новизне, объему проведенных исследований, теоретической и практической значимости полученных результатов и выводов диссертационная работа Чекрыгиной Елены Владимировны соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Диссертация полностью соответствует требованиям п.п.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции от 25.01.2024 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук.



Отзыв на диссертационную работу Чекрыгиной Е.В. был заслушан, обсужден и одобрен на заседании Ученого совета ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора от 19.03.24 г., протокол №3.

Заместитель директора  
по эпидемиологии  
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии  
Роспотребнадзора,  
доктор медицинских наук



Подколзин Александр Тихонович

Подпись д.м.н. Подколзина А.Т. заверяю:

Ученый секретарь  
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии  
Роспотребнадзора, канд. мед. наук



Никитина Т.С.

Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека  
111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, 3а. Тел. 8-495-672-10-69, e-mail: [crie@pcr.ru](mailto:crie@pcr.ru)