

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Хунхеевой Жанны Юрьевны  
«МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОПУЛЯЦИЙ МИКРООРГАНИЗМОВ  
РОДА *VIBRIO* В ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДОЕМАХ ПРИМОРСКОГО КРАЯ»  
представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по  
специальности 1.5.11 – микробиология

### **Актуальность темы диссертационного исследования**

Возбудитель холеры продолжает сохранять угрозу для общественного здравоохранения, что подтверждают многочисленные вспышки в различных регионах мира за последнее десятилетие. Приморский край является одним из стратегически важных регионов Российской Федерации. Уникальные особенности региона (важные транспортные узлы, разветвленная гидрологическая сеть, активизирующийся в последнее время торгово-экономический и туристический обмен, в том числе с неблагополучными по холере странами) определяют возможность завоза инфекции и распространения инфекции.

Актуальной проблемой для Приморского края является широкое распространение в водных экосистемах двух клинически значимых микроорганизмов рода *Vibrio* – *V. cholerae* и *V. parahaemolyticus*. Выраженный полимофизм клинико-эпидемиологических проявлений, обусловленных микроорганизмами рода *Vibrio*, неоднократные случаи завоза холеры на территорию Приморского края, нередкие вспышки пищевых токсикоинфекций, и постоянное обнаружение *V. cholerae* и *V. parahaemolyticus* в поверхностных водоемах края диктуют необходимость мониторинга популяций и на генетическом уровне. Эти данные необходимы для оценки эффективности мониторинга и для совершенствования эпидемиологического надзора за холерой и другими патогенными вибрионами.

Поэтому цель данного исследования - оценка генетического разнообразия популяций микроорганизмов рода *Vibrio* в Приморском крае для совершенствования микробиологического мониторинга холеры и инфекций, вызванных парагемолитическим вибрионом актуальна и своевременна.

### **2. Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.**

Работа проведена в лаборатории холеры Федерального казенного 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. Все исследования осуществлялись на современном лабораторном оборудовании, прошедшем метрологическую поверку. Исследования осуществлялись с применением микробиологического, молекулярно-генетического методов, статистического и





биоинформационного анализ. Работа выполнена в рамках четырех государственных НИР № ГР 01201068, 2011-2015 гг, № ГР 01201352135, 2013-2017 гг., № ГР АААА-А16-116070610105-6, 2016-2018 гг. и № ГР ААА-А18-11802099003-1, 2018-2021 гг.

### **3. Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций. Полнота опубликования результатов.**

Для анализа ситуации по холере в Приморском крае использованы: отчетные данные Управления Роспотребнадзора по Приморскому краю за период 2015-2021 гг., сводные данные по заболеваемости холерой ВОЗ, Референс-центра по мониторингу за холерой на территории РФ, данные справочно-эпидемиологических изданий, результаты микробиологического мониторинга поверхностных водоемов Приморского края, данных государственной статистической отчетности по форме № 2.

В работе использовано 142 штамма *V. cholerae* и 120 штаммов *V. parahaemolyticus*, выделенных из клинического материала и из поверхностных водоемов Приморского края. Детекцию генетических детерминант проводили в ПЦР как режиме реального времени, так и с электрофоретическим учетом результатов. MLVA-типирование штаммов *V. cholerae* проводили по пяти локусам на ДНК-анализаторе ABI Prism 3130 Genetic Analyzer. Полногеномное секвенирование осуществляли на двух платформах: MiSeq (Illumina) и MinION (Oxford Nanopore Technologies). Для анализа использовали платформу PubMLST.org, пакеты программ Phyloviz 1.1a и Bionumerics v 6.01. Статистический анализ проводили посредством вычисления относительных величин, стандартной ошибки относительных показателей, критерия Стьюдента для качественных выборок, линейного коэффициента корреляции Пирсона.

На защиту вынесены пять положений. Все положения подтверждены фактическим материалом, представленном в диссертации.

Первое положение работы касается высокого эпидемического потенциала Приморского края в плане риска завоза холеры и возможности реализации водного пути передачи, обосновано в работе и отражено в первом выводе диссертации. Второе положение о высокой гетерогенности нетоксигенных холерных вибрионов в водных объектах Приморского края на фоне эпидемиологического благополучия обосновано и защищено во втором и четвертом выводах. Третье положение характеризует генетическую структуру «водных» и клинических изолятов парагемолитического вибриона. Для «водных» изолятов характерна высокая гетерогенность и отсутствие основного гена патогенности (*tdh*). Клинические изоляты *V. parahaemolyticus* несут в геноме основные и дополнительные детерминанты патогенности и принадлежат к глобально





распространенному клональному комплексу, что свидетельствуют об их высоком патогенном потенциале. Это положение обосновано третьим, четвертым и пятым выводами. Пятое положение, выносимое на защиту касается оценки эффективности метода MLVA как инструмента оперативного генотипирования клинических и водных изолятов холерного вибриона. Это положение доказано выводами пять и шесть.

Полученные материалы опубликованы в 16 работах, из них 5 в периодических изданиях из «Перечня ведущих рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ», а одна работа – в зарубежной печати. В 11 работах Жанна Юрьевна является первым автором, причем первый автор она в трех работах из Перечня ВАК.

Результаты работы, начиная с 2014 года, были неоднократно представлены и обсуждены на конференциях различного уровня: региональных, межрегиональных, Проблемной комиссии, Всероссийских, межгосударственных и международных.

Научной новизной работы являются установленные закономерности распространения и особенности структурной организации геномов холерного и парагемолитического вибрионов из поверхностных водоемов Приморского края. На основании приема MLVA-типирования показана клональность штаммов парагемолитического вибриона, выделенных при групповых случаях ПТИ в Приморском крае. У холерного и парагемолитического вибрионов, изолированных из объектов окружающей среды выявлена высокая вариабельность MLVA-профилей.

По результатам MLST установлена принадлежность патогенных клинических штаммов *V. parahaemolyticus* выделенных в 2012 и 2017 годах к клональному комплексу CC3, широко распространенному в мире. Выявлена циркуляция парагемолитического вибриона с аналогичным сиквенс-типом на территории Китая.

Работа изложена по традиционному плану на 183 страницах машинописного текста и состоит из обзора литературы, четырех глав собственных исследований. Работа иллюстрирована 35 рисунками, 37 таблицами. Список использованной литературы включает 288 работ (86 работ отечественных авторов и 202 – зарубежных).

Вызывает некоторое сожаление, что значительный фрагмент работы, посвященный экспериментальному обоснованию стабильности MLVA-профилей *V. cholerae* в условиях дефицита питательных веществ и воздействии низких и комнатных температур, достаточно подробно описанный в диссертации и автореферате, не нашел должного отражения в положениях и выводах. А ведь этот раздел фактически экспериментально обосновывает пятое положение диссертации. Автор установил, что возможные генетические изменения максимально затрагивают лишь один из пяти использованных VNTR-локусов. Этот результат устанавливает границы применимости и трактовки результатов метода MLVA-типирования и будет крайне полезен в дальнейшей работе особенно при анализе больших массивов информации и сравнении штаммов с разными интервалами изоляции.

#### **4. Практическая значимость результатов.**





Материалы, представленные в работе, вошли в действующие нормативные документы федерального уровня: МУК 4.2.3745-22 «Методы лабораторной диагностики холеры», МУК 4.2.3746-22 «Организация и проведение лабораторной диагностики холеры в лабораториях различного уровня», и легли в основу восьми информационных писем «О ситуации по холере в Сибирском и Дальневосточном регионах в 2014 г. и прогнозе» на период 2015 - 2022 годов.

Несомненным практическим выводом работы является доказанная эффективность применения MLVA в качестве скринингового метода типирования как водных, так и клинических изолятов холерного вибриона. В тоже время для парагемолитического вибриона этот метод целесообразен лишь при анализе клинических штаммов.

В ходе выполнения работы созданы и зарегистрированы база данных «V. cholerae. Сибирь и Дальний Восток – Амплификационный профиль\_MLVA-генотип» (свидетельство о государственной регистрации № 2016620904 от 01.07.2016 г.), программа для ЭВМ «Электронный паспорт штамма V. cholerae» (свидетельство о государственной регистрации № 2019661763 от 06.09.2019 г.), разработаны и утверждены методические рекомендации учрежденческого уровня. Полученные данные используются при обучении курсах профессиональной переподготовки по особо опасным инфекциям при ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

#### **5. Соответствие диссертации и автореферата требованиям «Положения о присуждении ученых степеней».**

Работа написана по традиционному образцу, изложена на 183 страницах машинописного текста и состоит из обзора литературы, четырех глав собственных исследований. Работа иллюстрирована 35 рисунками, 37 таблицами. Список использованной литературы включает 288 работ, из них 86 работ отечественных авторов и 202 – зарубежных.

Автореферат изложен на 24 страницах, иллюстрирован пятью рисунками и двумя таблицами. Его содержание кратко, но полностью отражает содержание диссертации, научную новизну, практическую значимость, положения, выносимые на защиту.

Работа написана понятным языком, хорошо иллюстрирована.

Замечаний по тексту диссертации и автореферата нет.

#### **6. Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы.**

Автор непосредственно осуществлял поиск и анализ литературных данных, касающихся темы научно-исследовательской работы, участвовал в формировании концепции исследования, выполнял бактериологические и молекулярно-генетические исследования холерного и парагемолитического вибрионов, осуществлял сбор, систематизацию первичных данных и статистическую обработку полученных результатов. Полногеномное секвенирование штаммов парагемолитического вибриона и анализ структуры геномов проведены автором совместно со специалистами лаборатории холеры ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

#### **Заключение**





По актуальности, новизне, достоверности полученных результатов, обоснованности сделанных выводов, научной и практической значимости диссертация Хунхеевой Жанны Юрьевны «МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОПУЛЯЦИЙ МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА *VIBRIO* В ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДОЕМАХ ПРИМОРСКОГО КРАЯ» представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11 – микробиология является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, имеющей значение для развития соответствующей отрасли знаний, обладает внутренним единством.

Диссертация отвечает требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в ред. Постановлений Правительства Российской Федерации от 30.07.2014г. № 723, от 21.04.2016 г. №335, от 02.08.2016г. №748, от 29.05.2017 г. №1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 20.03.2020 г. №426 с изменениями внесенными Постановлением Правительства РФ от 26.05.2020 г. № 751), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Хунхеева Жанна Юрьевна заслуживает присуждения искомой степени по специальности 1.5.11.- Микробиология.

#### **Официальный оппонент**

Д-р.мед.наук, главный научный сотрудник,  
лаборатории диагностики холеры и других ОКИ ФКУЗ  
«Ростовский научно-исследовательский  
противочумный институт»

Роспотребнадзора Сергей Олегович Водопьянов

25.04.2023.

Подпись Сергея Олеговича Водопьянова заверяю

Начальник отдела кадров Стоян Е.Б.



2023

Федеральное казённое учреждение здравоохранения Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт

Почтовый адрес:344002, г. Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. Тел. 8 (863) 240-46-10, E-mail:plague@aaanet.ru

