

УТВЕРЖДАЮ
Директор ФБУН «Санкт-Петербургский
научно-исследовательский
институт эпидемиологии и
микробиологии им. Пастера
Роспотребнадзора
А.А. Тотолян
«03» мая 2023 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека о научно-практической ценности

Диссертационной работы Хунхеевой Жанны Юрьевны на тему «Молекулярно-генетический анализ популяций микроорганизмов рода *Vibrio* в поверхностных водоемах Приморского края», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11 – микробиология

Актуальность темы исследования

Диссертация Хунхеевой Жанны Юрьевны посвящена оценке генетического разнообразия популяций микроорганизмов рода *Vibrio*, обитающих в поверхностных водоемах Приморского края в целях совершенствования микробиологического мониторинга заболеваний, вызванных *V.cholerae* и *V.parhaemolyticus*. Несмотря на многолетние предпринимаемые меры борьбы, холера остается одной из актуальных социально значимых особо опасных инфекционных болезней в странах жаркого климата Азиатского, Африканского и Американского континентов. В настоящее время высокие риски завоза холеры на территорию Российской Федерации из неблагополучных по данной инфекции стран и распространения холеры среди взрослого и детского населения.

Развитие международных торгово-экономических и туристических отношений, в т.ч. со странами Азиатско-Тихоокеанского региона,

увеличивают риски завоза холеры на территорию нашей страны и создают нестабильность эпидемиологической ситуации в Российской Федерации.

Климато - географические, гидрологические особенности Приморского края определяют необходимость динамического слежения за эпидемиологической обстановкой в приграничных с субъектом регионах, анализа рисков локального распространения холеры в случае завоза и совершенствования микробиологического мониторинга холеры, используя современные молекулярно-генетических методы типирования возбудителей для решения актуальных эпидемиологических задач. Наряду с холерным вибрионом важным возбудителем острых кишечных инфекций (ОКИ) среди представителей рода *Vibrio* является *V.parhaemolyticus*, «пандемичные» биологические варианты которого поддерживают высокие уровни заболеваемости ОКИ в странах Юго-Восточной Азии и постоянно обнаруживаются в морских поверхностных водоемах, в т.ч. Приморского края.

Тема диссертационной работы Хунхеевой Жанны Юрьевны, цель которой заключалась в оценке генетического разнообразия популяций микроорганизмов рода *Vibrio*, обитающих в поверхностных водоемах Приморского края и совершенствование микробиологического мониторинга за холерой и инфекциями, вызванными параземолитическим вибрионом, несомненно, является актуальной задачей микробиологии.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость диссертационной работы заключается в получении данных, доказывающих эффективность применения молекулярно-генетического метода мультилокусного анализа переменных тандемных повторов (MLVA) для оперативного скрининга штаммов возбудителя холеры (*V. cholerae*) при выделении из клинического материала от больных, а также из объектов внешней среды как при плановом мониторинге, так и в оперативной работе при осложнениях эпидемической обстановки.

В отношении штаммов *V.parhaemolyticus* показана перспективность метода при расследовании групповых случаев пищевых токсикоинфекций для достоверного выявления звеньев «эпидемической цепи».

Получены результаты структуры «островов патогенности» *V.parhaemolyticus*, демонстрирующие различия по набору и структуре «островов патогенности» в штаммах, характеризующихся разной эпидемической значимостью. На основании анализа генов «домашнего хозяйства» штаммов *V.parhaemolyticus* идентифицированы новые, не зарегистрированные ранее в международной базе данных PubMLST сиквенс-типы *V.parhaemolyticus*, обитающих в водоемах Приморского края.

Практическая значимость полученных результатов состоит в разработке диссертантом базы данных «*V. cholerae*. Сибирь и Дальний Восток – Амплификационный профиль_MLVA-генотип», программы для ЭВМ «Электронный паспорт штамма *V. cholerae*», а также методических рекомендаций «VNTR-типирование штаммов *Vibrio parahaemolyticus*», для использования в практической работе противочумного учреждения. Результаты диссертационной работы реализованы при подготовке методических указаний федерального уровня «Методы лабораторной диагностики холеры» и «Организация и проведение лабораторной диагностики холеры в лабораториях различного уровня».

Данные по диссертационной работе отражены в ежегодных информационных письмах о ситуации по холере в Сибири и на Дальнем Востоке с 2013 г. по 2022 гг. и прогнозе на последующие годы.

Результаты диссертационной работы используются в лекционном материале при проведении курсов переподготовки специалистов по особо опасным инфекциям на базе противочумного учреждения.

Апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых журналах

Материалы диссертационной работы доложены на 11 научных и научно-практических конференциях различного уровня, обсуждены на заседаниях Проблемной комиссии «Холера и патогенные для человека вибрионы» (48.04), Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории РФ, на совещаниях специалистов по вопросам совершенствования эпидемиологического надзора за холерой.

Материалы отражены в 16 печатных работах, из них 5 - в периодических изданиях, включенных в перечень ведущих рецензируемых научных журналов, 1 – в зарубежной печати.

Степень достоверности и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

О достоверности результатов работы свидетельствует достаточный объем исследований с применением современных методов, в том числе адекватных методов статистической обработки полученных данных. Достоверность результатов не вызывает сомнения. Работа выполнена на большом объеме информационного материала: изучены более 250 штаммов рода *Vibrio*, выделенных из разных источников с 1976 по 2017 гг. при различных эпидемических ситуациях в Приморском крае, с использованием микробиологических и высокотехнологичных молекулярно-генетических методов, позволившие автору получить достоверные результаты.

Статистический анализ результатов исследования осуществлялся посредством вычисления относительных величин, стандартной ошибки относительных показателей, расчета T – критерия Стьюдента для качественных выборок, линейного коэффициента корреляции Пирсона.

Положения, выносимые на защиту, выводы и заключение диссертации теоретически обоснованы, отражают результаты проделанной работы и соответствуют поставленным цели и задачам.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертации полностью соответствует основным полученным результатам исследования и положениям, выносимым на защиту.

Личный вклад в разработку научной проблемы

Результаты, отраженные в диссертационной работе, получены лично автором и при непосредственном ее участии. Автор осуществляла анализ литературных данных по проблематике исследования, участвовала в постановке цели и задач исследования, планировании и выполнении практических этапов, обработке полученных результатов.

Оценка содержания, ее завершенность, замечания по оформлению

Диссертационная работа Ж.Ю. Хунхеевой выполнена в лаборатории холеры Иркутского научно-исследовательского противочумного института в рамках четырех завершенных тем научно-исследовательских работ.

Диссертация построена по традиционному плану и изложена на 183 страницах машинописного текста, иллюстрирована 35 рисунками и 37 таблицами. Рукопись состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, четырех глав собственных исследований, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, включающего 288 источников отечественных и зарубежных авторов.

В разделе «**Введение**» раскрыта актуальность темы исследования, приведены цели и задачи работы, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, представлены выносимые на защиту положения, степень достоверности и апробация результатов, методология и методы исследования, личный вклад соискателя.

Глава «**Обзор литературы**» состоит из 3-х разделов, содержание которых раскрывает актуальность темы исследования. Представлены данные

о ситуации по холере и заболеваниям, вызванным парагемолитическим вибрионом, значимым генетических детерминантам факторов патогенности *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* и современным подходам к их молекулярному типированию.

Собственные исследования выполнены на основе значительного объема информационных данных и с использованием бактериологических и молекулярно-генетических методов исследования со статистической обработкой результатов и биоинформационным анализом.

В главе 3 собственных исследований «Анализ ситуации по холере и пищевым токсикоинфекциям галофильной этиологии на территории Приморского края» проведена оценка миграционных потоков на территорию субъекта с учетом временных (поквартальных) периодов, пунктов пропуска через государственную границу, наиболее значимых направлений пассажиропотока и распространенности холерного вибриона в поверхностных водоемах края в рамках анализа возможности завоза холеры на территорию Приморского края. Проведена оценка ситуации по ОКИ галофильной этиологии в субъекте и распространенность вибрионов в поверхностных водоемах.

В главе 4 «Фенотипические и молекулярно-генетические свойства микроорганизмов рода *Vibrio*, обнаруживаемых в поверхностных водоемах Приморского края» представлены результаты изучения свойств штаммов холерного и парагемолитического вибрионов, выделенных из различных источников в Приморском крае. Установлена вариабельность фенотипических и генетических свойств вибрионов, циркулирующих в поверхностных водоемах.

В главе 5 «Молекулярное типирование холерного и парагемолитического вибрионов, выделенных в Приморском крае», диссертант для углубленной оценки структуры популяции представляет результаты MLVA-типирования холерного и парагемолитического вибрионов и MLST *in silico* парагемолитического вибриона. Установлена

высокая вариабельность структуры геномов штаммов исследуемых вибрионов, выделенных из поверхностных водоемов Приморского края, в отличие от эпидемически опасных штаммов холерного вибриона и обусловивших групповые случаи заболеваний ПТИ галофильных вибрионов.

Глава 6 «Оценка эффективности использования метода мультилокусного анализа вариабельных тандемных повторов (MLVA) в типировании холерного и парагемолитического вибрионов при проведении микробиологического мониторинга» посвящена анализу эффективности использования метода MLVA в микробиологическом мониторинге. На основании анализа MLVA-генотипов изолятов холерного и парагемолитического вибрионов показана перспективность его применения в рамках оперативного молекулярно-генетического анализа при обнаружении *V. cholerae* и в расследовании эпидемических осложнений, обусловленных *V. parahaemolyticus*.

В заключении диссертации автор анализирует и обсуждает полученные данные. Выводы отражают основные результаты проведенных исследований, научно обоснованы, подтверждены достоверными результатами, полученными в процессе проведения научной работы и являются логическим завершением научного исследования.

Существенных замечаний по оформлению диссертации нет, в тексте встречаются незначительные опечатки.

Заключение

Диссертационная работа Хунхеевой Жанны Юрьевны, в которой с применением комплекса современных лабораторных методов охарактеризованы популяции холерного и парагемолитического вибрионов, обитающих в поверхностных водоемах Приморского края и предложены подходы к совершенствованию микробиологического мониторинга инфекций, обусловленных указанными патогенами, является самостоятельной, завершенной научно-квалификационной работой. По

актуальности, научной новизне и практической значимости диссертация Хунхеевой Жанны Юрьевны отвечает требованиям пунктов 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, Хунхеева Жанна Юрьевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11 – микробиология (медицинские науки).

Отзыв заслушан и одобрен на заседании проблемной комиссии по микробиологии (протокол № 3 от 03 мая 2023 г.)

Д.м.н., заведующая лабораторией кишечных инфекций
ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский
институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»

Л.А. Кафтырева

Подпись Л.А. Кафтыревой «заверяю»:

Начальник отдела кадров



(Теваков А.В.)