

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Пименовой Алены Сергеевны
«Совершенствование молекулярно-генетических методов лабораторной
диагностики дифтерии и коклюша», представленной на соискание ученой
степени кандидата медицинских наук по специальности
03.02.03 – микробиология

Актуальность темы: Дифтерия, несмотря на успехи вакцинопрофилактики, продолжает оставаться серьезной проблемой общественного здравоохранения в таких странах как Иран, Непал, Пакистан, Индия, Индонезия, Гана, Бразилия, Гаити, Доминиканская Республика и других государствах. При коклюшной инфекции используется комплекс трех методов (бактериологический, серологический и молекулярно-генетический), приоритеты применения которых определяются сроком развития заболевания. Отсутствие эффективных, экономичных методов генодиагностики возбудителей дифтерии и коклюша, разработка методов своевременной и быстрой идентификации указанных выше возбудителей, явилось отправным пунктом диссертационного исследования Пименовой Алены Сергеевны.

Цель и задачи сформулированы четко и соответствуют теме работы.

Научная новизна: Диссертантом оптимизирован ускоренный метод генодиагностики, основанный на изотермической амплификации (LAMP), позволяющий выявлять ДНК возбудителя *V.pertussis* в клиническом материале от больного. Получена высокая эффективность: диагностическая чувствительность составила 99,6%, диагностическая специфичность – 98,7%, индекс точности (диагностическая эффективность) – 99,4% (получен патент на изобретение РФ №2542396 от 21.01.2015 г.). Этот метод генодиагностики коклюша позволил обнаружить ДНК *V.pertussis* у 17,9% обследованных контактных лиц в трех эпидемических очагах и у 5,2% обследованных в детских организованных коллективах. Среди взрослых, подвергшихся риску заражения, в семейных очагах выявлено 47,5% больных стертыми и легкими формами коклюша и в 27,5% случаях обнаружено бактерионосительство *V.pertussis*, которое в зависимости от длительности контакта в 72,7% случаев сопровождалось наличием специфических противокклюшных антител разных классов. Разработан способ ускоренной генодиагностики на основе изотермической амплификации (LAMP), позволяющий обнаружить ДНК возбудителя дифтерийной инфекции в клиническом материале от больного в течение 4-4,5 часов от начала исследования; аналитическая чувствительность метода составила $2,3 \times 10^3$ ГЭ/мл, аналитическая специфичность – 100% (получен патент на изобретение РФ №2623149 от 22.06.2017 г.). Предложена новая комбинация ДНК-мишеней (нуклеотидные последовательности генов дифтерийного токсина, репрессора дифтерийного токсина, амилазы и РНК-полимеразы),

что позволяет в одной мультиплексной ПЦР выявить генетические детерминанты, определяющие биотип и токсигенность возбудителя дифтерии, а также дифференцировать *C.diphtheriae* от других представителей рода *Corynebacterium*.

Теоретическая и практическая значимость. Предложенные методы генодиагностики коклюша определили новые методологические подходы выявления бактерионосителей. Оптимизированный диссертантом способ генодиагностики на основе изотермической амплификации (LAMP) позволяет в течение 4-5 часов обследовать больных с подозрением на коклюш, что будет способствовать быстрому лабораторному подтверждению диагноза независимо от сроков заболевания, формы клинического течения и антибиотикотерапии, в том числе, и у детей в возрасте до 1 года. Разработанные способы генодиагностики дифтерии обосновывают возможность использования молекулярно-генетических технологий при обследовании пациентов как с диагностической целью, так и с профилактической, кроме того и контактных лиц в очагах.

Депонированные типовые штаммы Пименова А.С. использует для проведения внешнего контроля качества бактериологических исследований по выделению и идентификации бактерий *C.diphtheriae* и *Bordetella spp.*, а также для научных исследований при изучении биологических свойств возбудителей в системе эпидемиологического надзора за дифтерийной и коклюшной инфекциями, а также изучения микробного пейзажа микрофлоры ротоглотки у больных с патологией верхних дыхательных путей и у практически здоровых людей.

Оценка достоверности: О достоверности полученных результатов свидетельствует достаточный объем выборки исследованных штаммов микроорганизмов родов *Bordetella* и *Corynebacterium* и образцов клинического материала, а также большой объем проведенных исследований.

Выводы сформулированы четко и соответствуют поставленным задачам.

Автореферат оформлен в соответствии с требованиями ВАК, иллюстрирован достаточным количеством таблиц и рисунков. По материалам диссертации опубликовано 11 печатных работ, из них 3 статьи в рецензируемых изданиях, 1 – в другом издании, 2 тезисов в рецензируемых изданиях, 3 – в материалах конференций и 2 патента на изобретение РФ.

Заключение. Согласно автореферата, диссертационная работа Пименовой Алены Сергеевны «Совершенствование молекулярно-генетических методов лабораторной диагностики дифтерии и коклюша», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, по специальности 03.02.03 – микробиология, является самостоятельным, завершенным исследованием, которое посвящено совершенствованию методов лабораторной диагностики дифтерии и коклюша, по своей актуальности, методическому уровню, новизне и практической значимости

является законченной научно-квалификационной работой, которая соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями Постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор Пименова Алена Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Профессор кафедры микробиологии,
ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия
имени С.М. Кирова Министерства обороны
Российской Федерации
доктор медицинских наук, доцент

Малышев
Владимир Васильевич

Специальность - 03.02.03–микробиология

Адрес: ул. Академика Лебедева, д. 6,

г. Санкт-Петербург, 194044

e-mail: vladmal_spb@list.ru

тел. +7 (812) 499 44 65

<http://www.vmeda.mil.ru>

«26» февраля 2018 г.

Подпись профессора кафедры микробиологии
Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова
доктора медицинских наук, доцента
Малышева Владимира Васильевича

Заверяю

Ученый секретарь Ученого совета
Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова
Доктор медицинских наук, профессор



Цыган Василий Николаевич

«26» февраля 2018 г.