

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: одними из важных заболеваний с воздушно-капельным путем передачи, приводящие в настоящее время к возникновению среди населения Российской Федерации спорадических вспышек, являются дифтерия и коклюш. За счет отказа от вакцинации увеличивается удельный вес стертых и легких форм болезни среди детей старшей возрастной группы и взрослых, а также участились случаи выявления бактерионосителей среди практически здоровых людей, поэтому заболеваемость коклюшем и дифтерией может стать серьезной проблемой здравоохранения. До сих пор не разработаны методы генодиагностики, которые с наименьшими финансовыми и трудозатратами позволят идентифицировать возбудителей вышеперечисленных инфекций. Создание методов универсальной и быстрой идентификации этих возбудителей, как с диагностической, так и с профилактической целью, будет способствовать быстрому выявлению больных и бактерионосителей, назначению своевременной терапии, а также поддержанию санитарно-эпидемиологического благополучия по этим заболеваниям в нашей стране. Таким образом диссертационная работа Пименовой А.С. «Совершенствование молекулярно-генетических методов лабораторной диагностики дифтерии и коклюша» посвящена актуальной проблеме.

Цель и задачи сформулированы четко и соответствуют теме работы.

Научная новизна: Автор впервые научно обосновал эффективность оптимизированного ускоренного метода генодиагностики, основанного на изотермической амплификации (LAMP), позволяющего выявить ДНК *V.pertussis* и возбудителей дифтерийной инфекции в клиническом материале от больного с целью использования в практическом здравоохранении.

Автором впервые показано, что новая комбинация ДНК-мишеней (нуклеотидные последовательности генов дифтерийного токсина, репрессора дифтерийного токсина, амилазы и РНК-полимеразы), в одной мультиплексной ПЦР позволит дифференцировать токсигенные штаммы *C.diphtheriae* от других клинически значимых представителей рода *Corynebacterium*.

Теоретическая и практическая значимость. На основании комплексной оценки автором оптимизирован универсальный, дешевый и быстрый способ генодиагностики возбудителей коклюша и дифтерии, основанный на применении петлеобразующей изотермической амплификации (loop-mediated isothermal amplification, LAMP), который обладает высокой чувствительностью, специфичностью и амплификационной эффективностью.

Полученные данные об эффективности использования мультиплексных технологий расширит возможности выявления *C.ulcerans*, вызывающего дифтериеподобное заболевание, а также позволит проводить мониторинг генотипических свойств *C.diphtheriae* на более высоком методическом уровне.

Работа А.С. Пименовой обладает несомненной практической значимостью, которая обоснована возможностью применения разработанного способа генодиагностики дифтерии и коклюша для быстрого лабораторного подтверждения диагноза независимо от сроков заболевания, формы клинического течения и антибиотикотерапии, в частности у детей в возрасте до 1 года, а также контактных лиц в очагах, что будет способствовать сокращению времени выдачи ответа до одного рабочего дня.

Полученные патенты на изобретение РФ №2542396 от 21.01.2015 г. и №2623149 от 22.06.2017 г. позволяют непосредственно в клиническом материале от больного в течение 4-5 часов от начала исследования выявить ДНК *B.pertussis*, а также ДНК токсигенных и нетоксигенных *C.diphtheriae* двух биоваров, НТТН-штаммов с делецией или вставкой IS-1 в гене *tox*, токсигенных и нетоксигенных *C.ulcerans* и других представителей рода *Corynebacterium*.

Оценка достоверности: экспериментальные данные получены с использованием современных методов исследования и обработки результатов.

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. В работе применяли современные методы исследования (бактериологические, молекулярно-генетические и масс-спектрометрические), которые характеризуются высокой чувствительностью, специфичностью, поддерживаются программным обеспечением, современным проверенным оборудованием, а также сертифицированными статистическими компьютерными программами.

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. Диссертационная работа Пименовой Алены Сергеевны «Совершенствование молекулярно-генетических 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

