

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук профессора Сбойчакова Виктора Борисовича о диссертационной работе Софроновой Октябрины Николаевны «Микробиологические и экологические особенности штаммов иерсиний, циркулирующих на территории Якутии», представленной на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Актуальность избранной темы. Важной эпидемиологической особенностью возбудителей иерсиниозов является изменение пейзажа циркулирующих бактерий: снижение доли ранее доминировавших сероваров и появление новых серо-биоваров *Yersinia enterocolitica*, ранее считавшихся авирулентными. Сведения о распространении иерсиний и их биологических характеристиках по отдельным географическим зонам России представлены фрагментарно. К настоящему времени циркулирующие на Севере *Y. enterocolitica* биовара 1А по признаку патогенности не изучались, равно как и больные диареей на иерсиниоз не обследовались. Таким образом, тема и задачи диссертационного исследования весьма актуальны.

Цель и задачи исследования. Целью исследования явилось изучение микробиологической характеристики штаммов иерсиний, циркулирующих на территории Якутии, и разработка тактики микробиологического мониторинга за иерсиниозами.

Для реализации обозначенной цели диссертационной работы автором были поставлены конкретные задачи предполагаемого исследования:

– установить распространённость представителей рода *Yersinia* в объектах окружающей среды Якутии, особенно в популяциях мелких млекопитающих;



– охарактеризовать штаммы по наличию генетических детерминант вирулентности и оценить генетическое родство штаммов иерсиний, изолированных в антропоургических и природных очагах Якутии;

– оценить заболеваемость иерсиниозами и этиологическую значимость иерсиний, циркулирующих на территории Якутии, при ретроспективном иммунологическом обследовании людей и с/х животных;

– разработать тактику микробиологического мониторинга за циркуляцией иерсиний для территорий Якутии.

Отметим, что цель исследования выполнена диссертантом полностью, работа обнаруживает внутреннее единство цели и задач исследования, сама диссертация производит весьма благоприятное впечатление.

Структура и содержание работы. Структура и оформление диссертации отвечает требованиям ВАК РФ. Тема диссертации, объект, методы и результаты исследования соответствуют паспортному профилю научной специальности 03.02.03 – микробиология.

Основной текст диссертации изложен на 123 страницах компьютерного набора и состоит из введения, аналитического обзора литературы, 4 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списков сокращений и ссылок на использованную научную литературу. Иллюстративный аппарат (24 таблицы и 11 рисунков) удачно дополняет текстовый материал диссертации.

Диссертация построена по классическому типу. Первая глава содержит обзор литературы. Список литературы содержит 60 источников отечественных и 34 источника зарубежных авторов. На наш взгляд, список литературы можно было и расширить.

Вторая глава детально раскрывает характеристику заболеваемости иерсиниозами на территории Якутии, а третья глава детально показывает особенности распространения иерсиний на территории Якутии. Отчет данных ведется с 1974 года.



Четвертая глава характеризует биологические свойства иерсиний, циркулирующих в Якутии. Наибольшее число штаммов *Y. enterocolitica* принадлежало к серовару O:5 (биовар 1А).

Пятая глава включает серологический скрининг антител к возбудителям псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза в сельскохозяйственных и промышленных улусах (районах) Якутии. Серологическими методами подтверждена иерсиниозная природа заболеваний людей с различной патологией.

Последняя глава посвящена разработке системы микробиологического мониторинга за циркуляцией иерсиний в условиях Якутии. Использование современных лабораторных методов (ИФА, ПЦР, в том числе, многопраймерной ПЦР, генотипирование, серотипирование) несомненно позволит осуществлять эффективный эпидемиологический надзор за иерсиниозной инфекцией на территории Якутии.

Работа изложена чётким научным языковым стилем, выводы и все положения аргументированы полученными результатами.

Научная новизна исследования. На основе комплексного микробиолого-эпидемиологического изучения возбудителей иерсиниозов у людей, животных и в объектах окружающей среды установлена циркуляция различных видов бактерий рода *Yersinia* (*Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica*, *Y. kristensenii*, *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*) на территориях народно-хозяйственного освоения Якутии.

Получены новые знания о выделении и частоте распространения иерсиний «редких» видов (*Y. kristensenii*; *Y. intermedia*) от грызунов и из воды открытых водоёмов. Выделенные на территории Якутии *Y. enterocolitica* биовара 1А от грызунов, овощей и других объектов окружающей среды, ранее, отнесённые к непатогенным иерсиниям, обладают патогенным потенциалом.



Выявлено, что в 80% случаев штаммы *Y. enterocolitica* биовара 1А, считающиеся авирулентными, содержат ген *ystB*, опосредующий продукцию термостабильного энтеротоксина, что позволяет судить о наличии у бактерий потенциала патогенности и может обуславливать диарею у пациентов с острыми кишечными инфекциями неустановленной этиологии.

На основе выявленных положительных результатов серологических исследований проб от больных, страдающих острыми кишечными инфекциями, гастроэнтероколитами, здоровых лиц, животных, получена ценная информация о распространённости иерсиниозов на территории Якутии, которая свидетельствует о широкой циркуляции иерсиний на изученной территории.

Теоретическая и практическая значимость исследования. Теоретическая значимость результатов диссертационного исследования определяется новизной изложенных выше научных фактов и выводов и состоит в расширении представлений об иерсиниях, циркулирующих на территории Крайнего Севера. Для исследованных штаммов *Y. kristensenii* и *Y. intermedia* раскрыты филогенетические связи и установлены генетические различия, обусловленные полиморфизмом гена *gyrB*, что вносит существенный вклад в характеристику популяции иерсиний данных видов.

Практическую ценность имеет разработка диссертантом алгоритма микробиологического мониторинга за иерсиниями, включающего порядок организации и проведения лабораторной диагностики с учетом климатических условий. Это, несомненно, будет способствовать осуществлению эффективного эпидемиологического надзора за иерсиниозами. Изученные штаммы и их характеристики представлены в коллекции Референс-центра по мониторингу за иерсиниозами при ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Л. Пастера. Для улучшения диагностики инфекций иерсиниозной природы (псевдотуберкулёза,



кишечного иерсиниоза) в учреждениях здравоохранения Якутии внедрены методы ИФА (акты внедрения от 26.12.2011 г., 26.11.2013 г.) и ПЦР (акт внедрения от 25.12.2012 г.).

Полученные данные были использованы при создании ряда нормативно-методических документов.

Предметом исследования явилось изучение распространения в Якутии и молекулярно-генетическая характеристика штаммов иерсиний. Анализ научной литературы, посвященной проблеме, проведён на основе формально-логических методов исследования. Планирование и проведение исследований, направленных на решение поставленных задач проводилось на основе общенаучных и специфических методов. Материал, методы исследований, использованные для работы, представлены в табличной форме.

Методы классической идентификации возбудителей описаны достаточно подробно. Описание иммунологических (серологических) методик отличается чёткостью и лаконичностью рассмотрения всех применённых процедур. Особое внимание уделено детальному описанию техники и процедуры молекулярно-генетических методов.

Анализ заболеваемости населения в Якутии проводился за период 2002–2012 гг. по статистическим данным и историям болезни. Для работы использовали годовые и месячные формы отчётности. Сопоставление данных о заболеваемости и циркуляции штаммов иерсиний проведено в Центре гигиены и эпидемиологии на изучаемых территориях Якутии.

Статистическая обработка данных производилась с помощью пакета программ MS Excel. Отличия между выборками оценивались по параметрическому критерию Стьюдента.

**Степень обоснования и достоверности полученных результатов** обусловлены её методическим уровнем, адекватностью методов задачам исследования, обстоятельной статистической обработкой результатов. Использовались стандартизированные унифицированные методы



исследований. Работа выполнена на репрезентативном клинико-экспериментальном материале. Исследования проведены в лабораториях, располагающих сертифицированным оборудованием. Используются стандартные тест-системы идентификации микроорганизмов.

В целом, всё изложенное убеждает в обоснованности и достоверности положений, выводов и рекомендаций данной работы.

**Значимость для науки и практики выводов и рекомендаций диссертанта.** Несомненно, что тщательное гено- и фенотипическое исследование штаммов иерсиний, выделенных на территории Якутии, открывает широкие перспективы для снижения уровня заболеваемости иерсиниозами за счет разработанной автором системы микробиологического мониторинга.

Апробация результатов. Диссертация успешно апробирована на заседании Учёного совета Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Результаты исследований доложены на многочисленных российских и международных конференциях.

Основное содержание диссертации отражено в 19 публикациях: 4 статьи в рецензируемых журналах ВАК РФ, 8 – в других изданиях, 7 – в материалах конференций.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации.

1. Продолжить микробиологический мониторинг за циркулирующей иерсинией на территории Якутии.

2. Продолжить углубленное изучение штаммов *Y. kristensenii*, *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*, выделенных на территории Якутии, для выявления новых детерминант вирулентности.

3. В целях определения этиологической значимости иерсиний обследовать на иерсиниоз больных с диагнозом ОКИ неустановленной этиологии на территории Якутии.



Достоинства работы.

1. Несомненным достоинством работы является привлечение метода многопраймерной ПЦР для идентификации патогенных иерсиний.

2. Обнаружение детерминант вирулентности у *Y. kristensenii*, *Y. enterocolitica* биотипа 1А в биологических образцах позволяет предположить их этиологическую роль в развитии ОКИ неустановленной этиологии.

3. Диссертантом разработана и реально внедрена в практику тактика микробиологического мониторинга за циркулирующими штаммами иерсиний на территории Якутии.

**Замечания к работе.** Принципиальных замечаний к научному компоненту представленной работы Софроновой О.Н. у нас не возникло, хотя в некоторых случаях проделана недостаточная редакторская работа, в частности вместо обозначения количества бактерий в колониеобразующих единицах (КОЕ) автор использует термин «м.к./мл». В соответствии с правилами Международного кодекса номенклатуры бактерий инфраподвидовые подразделения должны иметь суффикс «вар», то есть вместо «серотип, биотип», целесообразнее использовать термины «серовар, биовар». Также хотелось бы задать диссертанту ряд вопросов.

1. Какой антиген использовался для выявления антител к *Y. enterocolitica* в сконструированном лично автором дополнительном наборе для выявления антител к возбудителю кишечного иерсиниоза?

2. Титры антител к различным иерсиниям у больных и здоровых людей практически одинаковы (26% и 19%), учитывая погрешность метода. Можно ли в данном случае говорить о феномене здорового носительства или иннапарантной инфекции?

### **Заключение**

Таким образом, диссертация Софроновой Октябрины Николаевны на тему «Микробиологические и экологические особенности штаммов иерсиний, циркулирующих на территории Якутии», представленная к защите на



соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология, является самостоятельным, законченным, квалификационным научным трудом, выполненным под руководством д.м.н., засл. деятеля науки РФ, профессора Г.Я. Ценовой, в котором на высоком методическом уровне успешно решена актуальная задача по детальной характеристике иерсиний, циркулирующих на территории Якутии.

По своей актуальности, научной новизне, объёму исследований и практической значимости результатов, рецензируемая работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её автор Софронова Октябрина Николаевна достойна присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по заявленной специальности 03.02.03 — микробиология.

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой микробиологии  
Военно-медицинской академии  
доктор медицинских наук профессор  
В.Б. Сбойчаков

Подпись Сбойчакова В.Б. заверяю:

Ученый секретарь Военно-медицинской академии  
доктор медицинских наук профессор  
В.Н. Цыган

«26» марта 2015 г.

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова МО РФ  
Адрес: 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева 6,  
sboich.viktor@yandex.ru