

«УТВЕРЖДАЮ»

и.о. проректора по научной работе и инновационному развитию
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Курский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации



доктор медицинских наук, профессор

В.А. Липатов
В.А. Липатов

2021 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации – федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования «Курский
государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации о научно-практической ценности диссертационной
работы Борисовой Анастасии Борисовны на тему: «Молекулярно-генетическая
диагностика и клинические особенности заболеваний, вызываемых
представителями рода *Bordetella*», представленной на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук по специальностям 03.02.03 – микробиология,
14.01.09 – инфекционные болезни

Актуальность темы выполненной работы

С 1990-х годов в странах с высоким уровнем охвата профилактическими прививками регистрируется подъем заболеваемости коклюшем, что связано с недостатками вакцинации ацеллюлярными вакцинами, необоснованными медицинскими отводами от вакцинации, накоплением неиммунных лиц в старших возрастных группах детского населения, утратой специфического иммунитета у

взрослых, изменением генотипических свойств возбудителя, а также широким внедрением молекулярно-генетических методов диагностики. Однако, в последние 10 лет в зарубежной литературе увеличивается количество публикаций, посвященных и другим, кроме *B.pertussis*, бордетеллам, которые являются этиологическим фактором коклюшеподобного спазматического кашля. К одной из таких бордетелл относится *B.holmesii*, случаи коклюшеподобного заболевания, этиологическим агентом которых был этот микроорганизм, регистрируются практически на всех континентах, их распространенность составляет от 3,5% до 20% в различных странах мира. Кроме того, описаны исследования, подтверждающие высокий риск передачи *B.holmesii* от человека к человеку в семейных очагах и организованных коллективах. В связи с этим, учеными активно обсуждается вопрос о том, что причиной роста заболеваемости коклюшем может быть также растущее распространение других видов бордетелл, иммунитет против которых после проводимой вакцинации не вырабатывается.

В РФ, несмотря на достижение и поддержание с 2003 года высокого охвата (более 95%) прививками против коклюша, с 2006 года темпы снижения заболеваемости замедлились. В 2018-2019 гг. произошел подъем заболеваемости и показатель составил 7,1-9,8 на 100 тысяч населения. По-прежнему регистрируется высокая заболеваемость среди детей до 1 года и локальные вспышки с формированием очагов разной интенсивности в организованных детских коллективах. Кроме того, в последние годы в структуре заболеваемости 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. С целью верификации клинического диагноза коклюша и раннего выявления больных наиболее эффективным методом лабораторной диагностики является генодиагностика, которая стала интенсивно развиваться с конца 1980-х годов, и к настоящему времени предложено большое количество методик, основанных на методах

амплификации нуклеиновых кислот (МАНК). Однако, в связи с большим разнообразием мишеней до сих пор не предложен единый унифицированный методологический подход. В РФ накоплен многолетний значительный и обширный опыт в изучении клинического течения коклюшной инфекции, в том числе у детей и взрослых, в очагах инфекции, при различных формах тяжести, в зависимости от биологических свойств возбудителя. Вместе с тем, до настоящего времени в РФ, в связи с отсутствием генодиагностики других бордетелл, не было работ, посвященных заболеванию, возбудителем которого явилась *B.holmesii*, и в сравнении с клиникой коклюша, вызванного *B.pertussis*.

Поэтому, учитывая повсеместное распространение *B.holmesii*, диссертационная работа Борисовой Анастасии Борисовны, посвященная разработке методики генодиагностики коклюша и заболеваний, обусловленных другими бордетеллами, в том числе с выделением *B.holmesii*, характеристике особенностей клинического течения заболевания, вызванного *B.holmesii*, и дифференциально-диагностическим критериям по сравнению с коклюшем, вызванным *B.pertussis*, является важной и актуальной.

Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Основу научной новизны результатов, полученных Борисовой Анастасией Борисовной, составляет разработка методики генодиагностики коклюша и заболеваний, обусловленных другими бордетеллами, в том числе с выделением *B.holmesii*, и характеристика особенностей клинического течения заболевания, вызванного *B.holmesii*, по сравнению с коклюшем, вызванным *B.pertussis*.

Впервые разработанная диссертантом методика генодиагностики основана на мультиплексной ПЦР-РВ с идентификацией фрагментов трех инсерционных элементов (IS481, hIS1001, IS1001) и фрагмента гена *ptxA*, что позволяет выявлять и дифференцировать ДНК трех видов бордетелл – *B.pertussis*, *B.parapertussis* и *B.holmesii* в биологическом материале. Определены его аналитические

характеристики: аналитическая чувствительность составила 5×10^1 ГЭ/мл, аналитическая специфичность – 100%. Что особенно важно и ценно, проведена грамотная оценка диагностических характеристик с определением конкордантности полученных результатов и валидности разработанного диагностического теста: диагностическая чувствительность составила 98,8 %, специфичность – 99,2% и индекс точности – 99,0%. На разработанную методику в соавторстве получен патент на изобретение РФ № 2702240 от 12.10.2018.

С помощью разработанной методики диссертантом проведено обследование больных, госпитализированных в стационар с подозрением на коклюш, и впервые зарегистрирована циркуляция *B.holmesii*, как возбудителя заболевания, который может встречаться в виде моно- и ко-инфекции с *B.pertussis* и *B.parapertussis*. Моноинфекция была зарегистрирована в 2,3% случаев, ко-инфекция, вызванная *B.pertussis*+*B.holmesii*, – в 0,8% случаев и ко-инфекция, вызванная *B.parapertussis*+*B.holmesii*, – в 0,1% случаев.

Несомненной заслугой автора является то, что автором впервые подробно описана клиническая картина заболевания, вызванного *B.holmesii*, имеющего коклюшеподобный характер, основной формой которого является типичная легкая форма ($90,0 \pm 6,7\%$), среднетяжелые были зарегистрированы только в случаях сочетанного течения с коклюшем. При среднетяжелых формах заболевания была зарегистрирована ко-инфекция *B.holmesii*+*B.pertussis*, что приводило к утяжелению клинической картины при которой у пациентов регистрировались явления дыхательной недостаточности, учащались приступы кашля, и у детей раннего возраста наблюдались нарушения нутритивного статуса.

Успешными оказались и усилия автора по разработке дифференциально-диагностических критериев заболевания, вызванного *B.holmesii*, по сравнению с коклюшем, вызванным *B.pertussis*, что, наряду с проведением лабораторных исследований с выявлением ДНК возбудителя, будут способствовать повышению качества оказания медицинской помощи при обследовании больных с подозрением

на коклюш. На данный раздел работы также в соавторстве подана заявка на изобретение.

В целом, используемые материалы, примененные методы исследований, объем проведенных экспериментов обеспечивают выполнение поставленных перед диссертантом задач и научное обоснование выводов и рекомендаций.

Основные положения, выводы и практические рекомендации, сформулированные автором, являются научно-обоснованными и соответствуют результатам проведенных исследований.

Связь новизны исследования с планами соответствующих отраслей науки

Диссертационная работа Борисовой Анастасии Борисовны выполнена в соответствии с отраслевой научно-исследовательской программой «Проблемно ориентированные научные исследования в отрасли эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными болезнями на 2016-2020 гг.» в рамках НИР ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского: «Изучение роли микробиоценозов ротоглотки и крови при дифтерии, коклюше и других инфекционно-воспалительных заболеваниях» (рег. № АААА-А16-116021550311-2) и «Коклюшеподобное заболевание, вызванное *Bordetella holmesii* (диагностика и клинические особенности)» (рег. № АААА-А20-120011790135-4), и деятельности Референс-центра по мониторингу за возбудителями кори, краснухи, эпидемического паротита, коклюша и дифтерии при проведении микробиологического и молекулярно-генетического мониторинга штаммов возбудителя коклюша, циркулирующих на территории России.

Значимость для науки и практики данных, полученных автором диссертации

Теоретическая значимость работы заключается в том, что проведенный мониторинг с помощью разработанной методики генодиагностики показал, что *B.holmesii* является возбудителем коклюшеподобного заболевания и подтверждает

повсеместную циркуляцию этого микроорганизма в мире, и в дальнейшем позволит оценить его эпидемиологическую значимость в развитии эпидемического и инфекционного процессов коклюшной инфекции на территории РФ.

Значительная практическая ценность работы определяется возможностью использования предложенной автором методики генодиагностики коклюша и заболеваний, обусловленных другими бордетеллами, в том числе с выделением *B.holmesii*, для повышения эффективности лабораторного подтверждения диагноза у больных с подозрением на коклюш, в том числе при легких и атипичных формах клинического течения, контактных лиц в очагах инфекции, а также у длительно кашляющих для раннего выявления больных и установления причин длительного кашля у разных возрастных групп населения. Представленная диссертантом характеристика особенностей клинического течения заболевания, вызванного *B.holmesii*, и разработанные дифференциально-диагностические критерии по сравнению с коклюшем, вызванным *B.pertussis*, наряду с проведением лабораторных исследований с выявлением ДНК возбудителя, будут способствовать повышению качества оказания медицинской помощи при обследовании больных с подозрением на коклюш.

Достоверность и апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях

Достоверность результатов исследования не вызывает сомнения, определяется логически выстроенным планом исследования - от анализа внедрения ПЦР-диагностики на территории РФ и обоснования необходимости совершенствования генодиагностики коклюша с включением в нее методики, позволяющей идентифицировать ДНК *B.holmesii*, разработки методики мультиплексной ПЦР-РВ с оценкой ее аналитических и диагностических характеристик, оценки циркуляции этого возбудителя у госпитализированных пациентов с подозрением на коклюш до подробного описания клинической картины коклюшеподобного заболевания и разработки дифференциально-

диагностических критериев, по сравнению с классическим коклюшем, вызванным *B.pertussis*. Работа основана на большом объеме материала и современных методах сбора и обработки информации с использованием высокоспецифичных и высокочувствительных микробиологических, молекулярно-генетических, биоинформатических, клинических и статистических методах исследования.

Полученные автором результаты внедрены в работу Референс-центра по мониторингу за возбудителями кори, краснухи, эпидемического паротита, коклюша и дифтерии ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора. Разработанная методика генодиагностики коклюша и заболеваний, обусловленных другими бордетеллами, в том числе с выделением *B.holmesii*, применяются при проведении молекулярно-генетического мониторинга популяции штаммов разных видов бордетелл, циркулирующих на территории России, и консультировании больных в клиническом отделе, что позволяет повысить эффективность обследования больных с подозрением на коклюш, а также эффективность эпидемиологического надзора за коклюшной инфекцией. Результаты диссертационной работы успешно используются на региональных семинарах для специалистов лабораторной сети по диагностике дифтерии и коклюша в субъектах Российской Федерации и в учебно-образовательном процессе кафедры микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» МЗ РФ.

Диссертантом опубликовано 7 печатных работ, из них 5 статей в рецензируемых изданиях, 2 – в материалах конференций, получен 1 патент на изобретение РФ и подана заявка на изобретение. Основные результаты диссертационной работы представлены и обсуждены на 5 российских и международных научно-практических конференциях различного уровня.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты диссертационного исследования Борисовой А.Б. могут быть использованы в преподавании курса микробиологии и эпидемиологии при чтении лекций и проведении практических занятий в медицинских ВУЗах и учебных программах последипломного дополнительного образования врачей-инфекционистов, эпидемиологов и врачей клинической лабораторной диагностики.

Результаты и выводы диссертационного исследования должны быть учтены в работе Управлений Роспотребнадзора и Центров гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора при анализе эпидемиологической ситуации и прогнозировании течения эпидемического процесса коклюшной инфекции на территории России.

Полученные автором результаты должны быть внедрены в повседневную практическую деятельность лабораторий лечебно-профилактических медицинских организаций, проводящих диагностические исследования, и работу практических врачей общей практики и врачей-инфекционистов при обследовании пациентов с подозрением на коклюш.

Соответствие специальностям. Тема диссертации, основные положения и выводы, сформулированные автором, полностью соответствуют специальностям 03.02.03 – микробиология, 14.01.09 – инфекционные болезни.

Оценка содержания и оформления диссертации

Диссертация написана грамотным научным языком, построена по традиционному плану, включающему введение с методологией и методами исследования, обзор литературы, 3 главы собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений и список литературы. Диссертационная работа изложена на 166 страницах машинописного текста и иллюстрирована 33 таблицами, 32 рисунками. Библиографический список включает 219 источников, из которых 43 – отечественных, 176 – зарубежных авторов. Содержание диссертации свидетельствует о выполнении намеченных задач, завершенности исследования и

достижения поставленной цели. Выводы обоснованы полученными результатами проведенного диссертационного исследования и соответствуют поставленным задачам. Автореферат соответствует ГОСТ 7.0.11-2011 и полностью отражает содержание диссертационной работы.

Результаты исследований Борисовой Анастасии Борисовны обсуждены, и отзыв одобрен на совместном заседании кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии (протокол № 14 от 30 апреля 2021 года).

Заключение

Диссертационная работа Борисовой Анастасии Борисовны на тему «Молекулярно-генетическая диагностика и клинические особенности заболеваний, вызываемых представителями рода *Bordetella*», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 03.02.03 – микробиология, 14.01.09 – инфекционные болезни, выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора, Заслуженного деятеля науки РФ Афанасьева Станислава Степановича и кандидата медицинских наук Петровой Марины Семеновны, является завершенной научно-квалификационной работой и содержит новое решение актуальной научной задачи – совершенствование генодиагностики коклюша и заболеваний, обусловленных другими бордетеллами, в том числе с выделением *B.holmesii*, и характеристике особенностей клинического течения заболевания, вызванного *B.holmesii* по сравнению с коклюшем, вызванным *B.pertussis*. По актуальности, новизне и практической значимости диссертационная работа Борисовой Анастасии Борисовны отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в соответствии с Постановлениями Правительства Российской Федерации № 335 от 21 апреля 2016 года, № 748 от 02 августа 2016 года, № 650 от 29 мая 2017 года, № 1024 от 28 августа 2017 года, №

1168 от 01 октября 2018 года «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор, Борисова Анастасия Борисовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 03.02.03 – микробиология, 14.01.09 – инфекционные болезни.

И.о. заведующего кафедрой микробиологии,
вирусологии, иммунологии
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Курский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
доктор биологических наук, доцент

Ольга Анатольевна Медведева

Заведующий кафедрой инфекционных болезней
и эпидемиологии
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Курский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
кандидат медицинских наук, доцент

Виктория Валентиновна Киселева

305041, Российская Федерация, г. Курск, ул. К. Маркса, д. 3.
Телефон: +7 (4172) 58-13-37, e-mail: ksmu@kurskmed.com

Подписи Медведевой Ольги Анатольевны и Киселевой Виктории Валентиновны заверяю.

Начальник управления персоналом и кадровой работы
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Курский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации



Сорокина Наталья Николаевна