

ОТЗЫВ
на автореферат диссертации Ульшиной Дианы Васильевны «Межвидовая дифференциация штаммов возбудителя бруцеллеза с использованием MALDI-TOF масс-спектрометрии», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 - микробиология

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) каждый год по всему миру регистрируется свыше 500000 новых случаев бруцеллеза, а истинное число заболевших может варьировать от 5 до 12,5 млн. В условиях современной реальности при глобализации процессов распространения продукции и широком распространении бруцеллеза среди животных, возможность заболевания людей ни для одной из стран исключать нельзя.

На территории Российской Федерации, по данным Россельхознадзора за 2019 г., эпизоотическая обстановка по бруцеллезу в популяции эпидемически значимых видов КРС и МРС остается неблагополучной. Инфекция занимает одну из лидирующих позиций среди основных инфекционных болезней КРС и МРС. За период 2010-2019 гг. в России было зарегистрировано 4283 неблагополучных пункта по бруцеллезу КРС, в которых выявлено 95981 больное животное и 398 неблагополучных пунктов по бруцеллезу МРС - 15880 больных овец и коз. За указанный период количество случаев впервые выявленного бруцеллеза среди людей составило 3820. В 2019 г. впервые выявленный бруцеллез среди людей был зарегистрирован в 33 субъектах Российской Федерации. Наибольшее количество случаев заболевания людей, как и в прошлые годы, было отмечено для СКФО (70,0 % от общего количества случаев) и ЮФО (15,1 %).

Сегодня бруцеллез продолжает относиться к одной из наиболее актуальных опасных инфекций в регионах с развитым животноводством. Серьезную проблему представляет ранняя диагностика и выявление бруцеллеза у людей, профессионально связанных с риском заражения этой инфекцией. Только своевременно поставленный диагноз, а также адекватная терапия позволяют избежать хронизации заболевания и стойкой утраты трудоспособности.

Следует отметить ограниченные диагностические возможности традиционно используемых методов бактериологической, серологической диагностики и молекулярно-генетических исследований. Установлено, что более чем в 70 % случаев диагноз «бруцеллез» бактериологически не подтверждается, при этом доля таких случаев может существенно увеличиваться за счет больных, до начала обследования получавших антибактериальную терапию. Диагностическая чувствительность и специфичность серологических методов колеблется в диапазоне 65- 95 %. В литературе представлено достаточное количество описанных случаев, подтверждающих ненадежность стандартных серологических тестов для диагностики бруцеллеза. Совершенствование лабораторной диагностики особо опасных инфекционных болезней, к которым относится бруцеллез, заключается, прежде всего, в разработке и внедрении новых современных высокочувствительных аналитических методов исследования, позволяющих не только выявить, но и охарактеризовать возбудителя инфекционного заболевания.

Времяпролетная масс-спектрометрия (MALDI-TOF MS) является современным экспресс-методом детекции и дифференциации микроорганизмов, обеспечивающим прямой анализ белковых экстрактов микробной клетки и

может рассматриваться как перспективный для широкого внедрения метод лабораторной диагностики инфекционных болезней. Чувствительность MALDI-TOF MS для разных патогенов составляет $n \cdot 10^3 - 10^6$ м.к./мл, что позволяет проводить индикацию и идентификацию микроорганизмов.

К настоящему моменту применение MALDI-TOF масс-спектрометрии в лабораторной диагностике инфекций сводится к получению спектральных паттернов исследуемых культур микроорганизмов и их дальнейшему анализу, в частности: сравнению полученных белковых профилей с базой данных референсных масс-спектров, а также выявлению специфичных для патогена сигналов. В литературе представлены сведения о проведении экспериментов по разработке способов индикации возбудителей различных инфекционных болезней в клиническом материале (без этапа культивирования возбудителя). Существующие сложности проведения корректной идентификации бруцелл до вида с использованием коммерческого программного обеспечения «MALDI Biotyper» свидетельствует о необходимости поиска дополнительных эффективных методов биоинформационной обработки данных, позволяющих идентифицировать культуры возбудителя бруцеллеза.

Исходя из изложенного, выполненное диссертационное исследование актуально и значимо для практики.

Автореферат дает достаточно полное представление об основном содержании диссертационной работы, отличается грамотным изложением материала, наглядным представлением полученных данных в иллюстративном и табличном формате.

В ходе выполнения диссертационной работы все запланированные автором задачи, в частности: создание электронной базы референсных масс-спектров штаммов бруцелл, исследование зависимости параметров масс-спектров от питательных сред и условий культивирования возбудителя бруцеллеза при исследовании методом MALDI-TOF MS, экспериментальное обоснование возможности выявления *Brucella* spp. в модельных клинических образцах без выделения чистой культуры, изучение белковых профилей экстрактов крови биопробных животных при экспериментальном бруцеллезе с использованием современных программных пакетов в среде языка программирования «R», поиск эффективных алгоритмов биоинформационного анализа для межвидовой дифференциации *Brucella* spp. на основании белкового профилирования культур возбудителя, исследование особенностей масс-спектрометрических профилей крови больных бруцеллезом людей с использованием времяпролетной масс-спектрометрии для специфической детекции бруцелл - были последовательно решены в полном объеме.

Положения, выносимые на защиту, в достаточной мере аргументированы и полностью соответствуют поставленной цели и задачам исследования. Несомненным достоинством работы является личное участие и выполнение автором всех разделов диссертационного исследования. Достоверность полученных результатов определяется достаточным объемом выборки, грамотным применением методов статистической обработки.

При анализе результатов собственных исследований следует отметить логически правильную последовательность их выполнения. Выводы основаны на представленном фактическом материале, подтверждаются графическими

данными, достаточно аргументированы и являются логическим завершением проделанной работы.

Материалы диссертационного исследования использованы при разработке двух электронных баз данных и двух методических рекомендаций учрежденческого уровня, которые были внедрены в лаборатории бруцеллеза ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора при выполнении диагностических исследований в рамках деятельности референс-центра по мониторингу за возбудителем бруцеллеза.

Основные результаты работы были представлены на различных научных конференциях. По теме диссертации опубликовано 20 печатных работ, в том числе 5 – в научных журналах, рекомендованных ВАК Российской Федерации.

Таким образом, на основании материалов, представленных в автореферате можно сделать заключение, что диссертационная работа «Межвидовая дифференциация штаммов возбудителя бруцеллеза с использованием MALDI-TOF масс-спектрометрии» полностью соответствует критериям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции от 01.10.2018), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата биологических наук, а её автор **Ульшина Диана Васильевна** заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 03.02.03 – микробиология.

Кулаков Юрий Константинович
кандидат медицинских наук (специальность 03.02.03)
и.о. зав. лабораторией бруцеллеза,
ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России
123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18
Тел.: 8 (499) 193-55-59, E-mail:kulakov@gamaleya.org



07.12.2020 г.

Подпись Кулакова Ю. К.
заверяю кан. биол. наук, ученый секретарь ФГБУ «НИЦЭМ
им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России :

 07 декабря 2020 г.



Л.К. Кожевникова