

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Захаровой Ирины Борисовны «Мелиоидоз – актуальные вопросы современной эволюции и разнообразия *Burkholderia pseudomallei* в аспектах совершенствования лабораторной диагностики», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.11 – микробиология

Мелиоидоз относится к острым инфекционным заболеваниям, вызываемым грамотрицательной бактерией *Burkholderia pseudomallei*. Благодаря факторам патогенности *B. pseudomallei* способна длительно персистировать как в клетках, так и во внеклеточном пространстве, а также эффективно ускользать от действия иммунной системы хозяина. В связи с высокой вирулентностью, низкой инфицирующей дозой возбудителя мелиоидоза и сапа относятся ко второй группе патогенных для человека микроорганизмов. Мелиоидоз характеризуется полиморфностью клинических проявлений, может протекать в латентной форме и иметь достаточно высокую частоту рецидивов. Летальность при отсутствии или неадекватной терапии может достигать 90%, в то же время при своевременно диагностированных кожных формах варьировать в пределах 10 - 50%. Ранняя диагностика мелиоидоза в значительной степени определяет прогноз заболевания. Диагностическим стандартом для мелиоидоза является выделение и идентификация *B. pseudomallei* классическими бактериологическими методами, эффективность которых не превышает 60% из-за способности возбудителя переходить в жизнеспособное, но некультивируемое состояние. Помимо этого, биологические свойства *B. pseudomallei* в значительной степени осложняют также ее дифференциацию как с филогенетически близкими видами, так и некоторыми другими грамотрицательными неферментирующими бактериями. В настоящее время для идентификации возбудителя мелиоидоза широко используется полимеразная цепная реакция, но с учетом высокой геномной гетерогенности штаммов, не исключается вероятность получения ложноотрицательных результатов. В связи с изложенным, диссертационную работу Захаровой И.Б., посвященную изучению современной эволюции и разнообразия *Burkholderia pseudomallei* в аспектах совершенствования лабораторной диагностики мелиоидоза, можно с полной уверенностью считать своевременной и актуальной.

Научная новизна работы и практическая значимость не вызывают сомнения. Автором детально охарактеризованы выделенные на территории Вьетнама штаммы *B. pseudomallei*; проведена оценка их генетического разнообразия, детерминант патогенности, показано неслучайное распределение штаммов по биогеографическим нишам. Впервые доказана способность *B. pseudomallei* длительное время выживать при температурах около 0 °C и ниже, что свидетельствует о его потенциальном более широком ареале распространения в природе, в том числе на ряде территорий Российской Федерации. Автором впервые определены комплексы ключевых признаков, влияющие на корректность определения автоматическим анализатором Vitek 2 видовой принадлежности штаммов *B. pseudomallei* и *B. mallei* с атипичными профилями биохимической активности, а также впервые сформированы масс-спектры белков *B. pseudomallei* и *B. mallei*, которые по результатам работы были включены в электронные базы

данных MALDI-TOF спектров S.A.R.A.M.I.S.[™] и MALDI Biotyper. Автором сконструированы и запатентованы несколько наборов праймеров, в том числе, позволяющие детектировать β -лактамазы буркхольдерий комплекса *B. pseudomallei*; выявлять варианты штаммов *B. thailandensis*, содержащие высоко гомологичный *B. pseudomallei* кластер генов биосинтеза капсульного полисахарида. Определены новые генодиагностические мишени, позволяющие в формате мультиплексной ПЦР идентифицировать *B. pseudomallei*, *B. mallei* и *B. thailandensis*, на основе которых разработан и зарегистрирован «Набор реагентов для выявления и дифференциации буркхольдерий группы «*pseudomallei*» в формате мультиплексной полимеразной цепной реакции с электрофоретической детекцией «АмплигенБуркхольдерии группы «*pseudomallei*» β L B/D - EPh» по ТУ 21.20.23-014-01898084-2016» (Регистрационное удостоверение № РЗН 2018/7785 от 07.11.2018 г.) (федеральный уровень внедрения). Аннотированы и депонированы в GenBank NCBI нуклеотидные последовательности, в том числе шотган полногеномные сиквенсы двух пар изогенных штаммов *B. pseudomallei*, отличающихся по чувствительности к цефтазидиму и имипенему, штаммов дикого типа *B. pseudomallei*, *B. cepacia* и *B. thailandensis*. Полученные результаты легли в основу ряда практических руководств, Методических Указаний МУ 4.2.3744-22 «Лабораторная диагностика мелиоидоза и сапа. Организация и проведение в лабораториях различного уровня» и Методических рекомендаций МР 3.1.0129-18 «Порядок организации и проведения индикации патогенных биологических агентов, в том числе неустановленного систематического положения», а также включены в лекционные курсы дополнительного послевузовского образования при ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Получено 10 патентов (RU 2280688 C1, RU 2413763 C1, RU 2458117 C1, RU 2458140 C1, RU 2474614 C1, RU 2608505 C, RU 2608506 C, RU 2728356 C1, RU 2662957 C2, RU 2662958 C2). В Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» депонированы охарактеризованные типичные штаммы *B. pseudomallei* и *B. mallei* дикого типа (справки о депонировании №№ 360–363 от 23.03.2012 г.).

Научные положения и практические рекомендации обоснованы, работа выполнена на высоком методическом уровне с применением современных эпидемиологических, микробиологических, молекулярно-генетических, биоинформатических и статистических методов исследования, которые адекватны поставленной цели и задачам работы. Выводы достоверны, обоснованы и полностью соответствуют поставленным задачам.

Представленное исследование является завершённой научно-квалификационной работой, результаты которой значительно повышают эффективность дифференциальной лабораторной диагностики мелиоидоза, что однозначно является существенным достижением в совершенствовании системы мероприятий по санитарной охране территории Российской Федерации от заноса и распространения *Burkholderia pseudomallei* на территории страны.

Основные научные результаты работы отражены в 121 публикации, в том числе в 25 статьях в журналах, входящих в перечень ВАК РФ, в 4 статьях в зарубежных журналах, индексируемых WoSCC, WoS и SCOPUS; 10 патентах РФ на изобретения, а также доложены и обсуждены на 26 Всероссийских и

международных научных и научно-практических форумах, в том числе на всемирных конгрессах по мелиоидозу.

Оформление автореферата соответствует требованиям, установленным Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации.

Таким образом, диссертационная работа Захаровой Ирины Борисовны на тему «Мелиоидоз – актуальные вопросы современной эволюции и разнообразия *Burkholderia pseudomallei* в аспектах совершенствования лабораторной диагностики», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.11 – микробиология, по актуальности тематики, методическому уровню, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований соответствует требованиям п. 9 Положения о порядке присуждения учёных степеней, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., с изменениями, опубликованными в Постановлениях Правительства РФ от 24.04.2016 г. № 335, от 02.06.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539, предъявляемым ВАК РФ к докторским диссертациям, а ее автор Захарова Ирина Борисовна заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.11 – микробиология.

Калинина Ольга Викторовна
доктор биологических наук, доцент,
профессор кафедры лабораторной медицины и генетики
Института медицинского образования Федерального
государственного бюджетного учреждения
«Национальный медицинский исследовательский
центр имени В.А. Алмазова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 8
Тел.: +79217463907;
e-mail: Kalinina_OV@almazovcentre.ru

Подпись Ольги Викторовны Калининой заверяю:

Сорокина Ирина Александровна
Начальник отдела персонала
Федерального государственного бюджетного учреждения
«Национальный медицинский исследовательский
центр имени В.А. Алмазова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

