

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора, профессора кафедры инфекционных болезней Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации Васильева Валерия Викторовича на диссертационную работу Домоной Эльвиры Алексеевны на тему «Эпидемиологический надзор за инфекциями ToRCH-группы с использованием современных диагностических решений на основе молекулярно-биологических методов», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности

3.2.2. Эпидемиология

Актуальность темы диссертационной работы

На современном этапе инфекционная патология является одной из сложных и часто недооцениваемых проблем акушерства и педиатрии – перинатальной патологии, характеризующейся существенными пери- и постнатальными потерями, влиянием на показатели младенческой заболеваемости и смертности, ранней инвалидизацией, снижением качества жизни детей, перенесших тяжелые формы врожденной инфекции. Доказано, что основной вклад в развитие перинатальных инфекций вносят возбудители группы ToRCH-инфекций, среди которых ведущую роль играют цитомегаловирусная инфекция, краснуха и токсоплазмоз. В последние годы поднимается вопрос о расширении списка возбудителей инфекций ToRCH-группы, уточнении истинной роли ряда возбудителей в развитии перинатальной патологии, в том числе таких как *Roseolovirus humanbetaa* и *R.humanbetaab*.

Актуальность решения задачи совершенствования эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы на основе

внедрения молекулярно-биологических методов, с учетом современных эпидемиологических особенностей и негативного влияния на внутриутробное развитие плода является несомненной. Использование современных методов с высокими аналитическими и диагностическими параметрами позволяет эффективно, в кратчайшие сроки решать задачи как анте-, так и постнатальной этиологической диагностики, что чрезвычайно важно для своевременного старта этиотропной терапии, контроля ее эффективности, прогноза течения заболеваний.

Исходя из вышеуказанного диссертационная работа Домоновой Эльвиры Алексеевны, в которой поставлена цель: совершенствование эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы путем разработки и внедрения комплекса молекулярно-биологических методов диагностики, является актуальным научным направлением исследования.

Степень достоверности полученных результатов и обоснованность научных положений и выводов

О достоверности полученных результатов исследования свидетельствует дизайн исследования, соответствующий поставленным цели и задачам, репрезентативный объем проанализированных данных и их адекватный статистический анализ с использованием современных компьютерных программ. Выносимые на защиту научные положения и выводы вытекают из полученных результатов и в полной мере соответствуют поставленным цели и задачам.

Научная новизна исследования

В результате проведенных исследований диссертантом получены актуальные научные данные по заболеваемости ведущими инфекциями ToRCH-группы (токсоплазмоз, краснуха, цитомегаловирусная инфекция) в Российской Федерации.

Впервые в Российской Федерации разработан и внедрен в практику комплекс методик для определения ДНК *Toxoplasma gondii*, РНК *Rubivirus rubellae*, ДНК *Cytomegalovirus humanbeta5*, ДНК *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* в различном биологическом материале методом ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ в разных форматах с высокими аналитическими и диагностическими характеристиками, позволяющий оптимизировать лабораторную диагностику инфекций ToRCH-группы.

Также впервые в Российской Федерации предложена методология изучения феномена наследуемой хромосомной интеграции вируса герпеса человека 6а (хиВГЧ-6а) и вируса герпеса человека 6b (хиВГЧ-6b), с научно обоснованным применением молекулярно-биологических методов исследования, расширяющая представление о сосуществовании микро- и макроорганизма.

Впервые в Российской Федерации описаны случаи наследуемого хиВГЧ-6а-статуса и хиВГЧ-6b-статуса у новорожденных при расшифровке внутрисемейной наследственной передачи эндогенного хромосомно-интегрированного *R.humanbeta6a* и эндогенного хромосомно-интегрированного *R.humanbeta6b*.

Диссертантом впервые в Российской Федерации предложены научно обоснованные методические подходы к определению этиологической роли *R.humanbeta6a/b* в развитии внутриутробной инфекции и врожденной патологии, включающие основные компоненты лабораторной диагностики наследуемого хиВГЧ-6a/b-статуса.

Впервые в Российской Федерации разработан инновационный способ выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6a/b, основанный на количественном определении специфической ДНК вируса в образцах цельной венозной крови, ногтевых пластин и/или волосяных фолликулов обследуемого методом ПЦР-РВ, позволяющий с 99% вероятностью одновременно выявлять хиВГЧ-6a/b, передаваемый по наследству, и проводить верификацию наследуемого хиВГЧ-6a-статуса и

наследуемого хиВГЧ-6b-статуса как у детей, так и взрослых. Предложенный подход не требует проведения длительного динамического наблюдения и обследования ближайших родственников.

Впервые в Российской Федерации проведено полногеномное секвенирование клинических изолятов наследуемых хромосомно-интегрированных *R.humanbetaa* и *R.humanbetabb* (эндогенных) с использованием технологии коротких прочтений и дана их характеристика.

Автором впервые в Российской Федерации оценена распространенность хромосомно-интегрированных *R.humanbetaa* и *R.humanbetabb*, передаваемых по наследству. Получены данные, необходимые для изучения особенностей популяции, понимания генетического разнообразия и географической стратификации этих вирусов.

Впервые определена экономическая эффективность внедрения лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6a/b при расширенном лабораторном обследовании новорожденных с выявленными маркерами активной ВГЧ-6a/b-инфекции (на примере города Москвы).

Научно обоснован подход по совершенствованию эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы с помощью молекулярно-биологических методов, позволяющий повысить результативность мероприятий в части сбора, учета и эпидемиологического анализа данных.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования

Получены актуальные научные данные о современной эпидемиологической ситуации по основным инфекциям ToRCH-группы (токсоплазмоз, краснуха, цитомегаловирусная инфекция) в Российской Федерации, демонстрирующие необходимость широкого внедрения единых научно обоснованных критериев стандартного определения случая заболевания и повышения качества лабораторной верификации путем применения современных методов лабораторной диагностики с высокими

показателями специфичности и чувствительности, в том числе молекулярно-биологических методов.

Внедрение представленных решений, а именно комплекса разработок с использованием современных диагностических и научно-поисковых методов, способствует масштабированию исследований, проводимых в рамках изучения инфекций ToRCH-группы, феномена наследуемой хромосомной интеграции *R.humanbetaa* и *R.humanbetabb*, в том числе определения этиологической роли вирусов в развитии внутриутробной инфекции и врожденной патологии.

Разработанные методики приняты за основу при создании наборов реагентов, предназначенных для качественного и количественного определения нуклеиновых кислот возбудителей инфекций ToRCH-группы и рассматриваемых кандидатов для включения в число возбудителей инфекций ToRCH-группы на основе ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ. Наборы реагентов прошли государственную регистрацию в установленном порядке, доступны для широкого использования и в настоящее время применяются в лабораторной практике Российской Федерации и за рубежом.

Внедрение новых диагностических технологий на основе разработанных методик в практическое здравоохранение обеспечивает проведение ранней этиологической диагностики основных инфекционных болезней, специфичных для перинатального периода (инфекции ToRCH-группы: токсоплазмоз, краснуха, цитомегаловирусная инфекция), на высоком методическом уровне в кратчайшие сроки. Разработанные правила взятия, транспортировки, хранения образцов ногтевых пластин для последующей ПЦР-диагностики могут быть использованы в различных областях: практической медицине (клинико-лабораторная диагностика, медицинская генетика), криминалистической, судебно-медицинской практике и др. Разработанный способ экстракции нуклеиновых кислот из образцов ногтевых пластин позволяет получить препарат ДНК/РНК, имеющий высокую степень химической очистки и концентрацию, пригодную для проведения

исследований с применением молекулярно-биологических методов, в том числе ПЦР-РВ при подтверждении наследуемого хиВГЧ-6а/б-статуса пациентов. Разработанный способ выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/б в настоящее время является для практического здравоохранения единственным доступным способом, позволяющим не только выявить хиВГЧ-6а/б, передаваемый по наследству, но и одновременно проводить верификацию наследуемого хиВГЧ-6а-статуса и наследуемого хиВГЧ-6б-статуса как у детей, так и взрослых, без выполнения дополнительных динамических наблюдений и обследования ближайших родственников.

Внедрение в практику здравоохранения инновационного способа, основанного на количественном определении ДНК *R.humanbeta6a/b* в образцах цельной венозной крови, ногтевых пластин и/или волосяных фолликулов пациента методом ПЦР-РВ, позволит сократить затраты на лечебно-диагностические мероприятия и оптимизировать эпидемиологический надзор за инфекциями ToRCH-группы в регионе.

Оптимизация методов мониторинга за инфекциями ToRCH-группы путем использования разработанного комплекса молекулярно-биологических методов исследования позволяет усовершенствовать информационное обеспечение системы эпидемиологического надзора за этими инфекциями.

Личное участие автора в получении результатов исследования

Автором лично определена методология исследования, проведено формулирование цели, задач настоящей работы, осуществлены планирование и организация всех этапов исследования, проведен анализ данных отечественной и зарубежной литературы, нормативных документов по теме изыскания, а также лично или при его непосредственном участии выполнены эпидемиологические, вирусологические, молекулярно-биологические, иммунохимические исследования, биоинформатический, экономический и статистический анализ.

Автором лично осуществлена организация сбора биологического материала, проведена обработка экспериментальных данных, систематизация, комплексный анализ и обобщение полученных результатов проведенных исследований, их обсуждение и внедрение в практику, сформулированы основные положения диссертационного исследования, выводы, практические рекомендации и определены перспективные направления дальнейших исследований.

Вклад автора в разработку и апробацию методик качественного определения ДНК *T.gondii*, РНК *R.rubellae* в различном биологическом материале методом ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ; разработку лабораторного способа выявления и подтверждения наследуемого хивГЧ-6а/б у детей и взрослых; изучение распространенности наследуемых хромосомно-интегрированных *R.humanbetaa* и *R.humanbetabb* в Российской Федерации; создание онлайн-платформы «Карта распространенности наследуемых хромосомно-интегрированных *Roseolovirus humanbetaa* и *Roseolovirus humanbetabb*»; подготовку материала, вошедшего в заявки на патенты Российской Федерации на изобретение, создание баз данных; публикации результатов, полученных в ходе выполнения диссертационного исследования, является определяющим.

Оценка содержания диссертационной работы и ее завершенности

Диссертационное исследование, проведенное Домоновой Эльвирой Алексеевной, построено по традиционному принципу, содержит 505 листов машинописного текста и иллюстрировано 94 таблицами и 91 рисунком. Список литературы содержит 303 источника, из которых 105 – на русском языке и 198 – на английском языке.

Обзор литературы (первая глава) соответствует теме диссертационной работы и отражает ее основные аспекты.

Вторая глава посвящена материалам и методам исследования, подробно описана и структурирована, что дает полное представление о дизайне исследования и четкое понимание о комплексном подходе выбранных методов.

Используемая методология соответствует поставленным задачам и современным стандартам проведения научных исследований.

В третьей главе диссертантом проанализирована современная эпидемиологическая ситуация по токсоплазмозу (2009–2023 гг.), краснухе (2007–2023 гг.), цитомегаловирусной инфекции (2009–2023 гг.) в Российской Федерации. Установленная существенная неравномерность территориального распределения заболеваемости токсоплазмозом, цитомегаловирусной болезнью и врожденной цитомегаловирусной инфекцией в разрезе субъектов Российской Федерации, расчетные показатели, свидетельствующие о существующей гиподиагностике случаев синдрома врожденной краснухи, подтверждают наличие недостатков в учете и регистрации данных нозологических форм, использовании различных подходов при проведении лабораторного подтверждения и интерпретации полученных результатов. Представленные данные обуславливают необходимость широкого внедрения единых научно обоснованных критериев стандартного определения случая заболевания, повышения качества лабораторной верификации путем применения современных методов лабораторной диагностики, в том числе молекулярно-биологических методов.

Четвертая глава посвящена разработке, валидации и апробации четырех методик качественного и количественного определения нуклеиновых кислот возбудителей инфекций ToRCH-группы на основе ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ. Разработанные и валидированные автором методики обладают высокими аналитическими и диагностическими характеристиками, отвечающими современным требованиям. Предусмотрена возможность параллельного применения всех представленных методик в составе единого комплекса с использованием одной приборной базы и единой программы амплификации, что позволяет проводить одновременно качественные и/или количественные определения ДНК или РНК инфекционных агентов.

В пятой главе проведена оценка эффективности применения методик качественного и количественного определения нуклеиновых кислот

возбудителей инфекций ToRCH-группы на основе ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ и алгоритмов их использования. Особое внимание уделено возможности интеграции разработанных методик в алгоритмы лабораторной диагностики инфекций ToRCH-группы, а именно краснухи у беременных и внутриутробной инфекции у новорожденных, токсоплазмоза у беременных и проведения верификации врожденной цитомегаловирусной инфекции у детей грудного возраста с перинатальным поражением центральной нервной системы.

В шестой главе автором подробно изложена разработка методических подходов к определению этиологической роли *R.humanbetaaba/b* в развитии внутриутробной инфекции и врожденной патологии. Продемонстрированы клинические примеры, подчеркивающие обоснованность и необходимость проведения данной разработки. А также представлены основные компоненты лабораторной диагностики наследуемого хиВГЧ-6a/b-статуса как у детей, так и у взрослых: способ экстракции нуклеиновых кислот из образцов ногтевых пластин, инновационный лабораторный способ выявления и подтверждения наследуемого хиВГЧ-6a/b. Помимо вышеназванного изучена распространенность хиВГЧ-6a, хиВГЧ-6b, передаваемых по наследству, в Российской Федерации и представлен базовый инструмент для ее изучения (онлайн-платформа «Карта распространенности наследуемых хромосомно-интегрированных *Roseolovirus humanbetaaba* и *Roseolovirus humanbetaabb*»).

В седьмой главе диссертационного исследования проведен анализ экономической значимости выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6a/b у новорожденных на примере города Москвы. Доказано, что гипердиагностика врожденных инфекций, вызываемых ВГЧ-6a и/или ВГЧ-6b у новорожденных с наследуемой хромосомно-интегрированной формой вируса, несет дополнительное необоснованное экономическое бремя для системы здравоохранения и общества. При этом внедрение инновационного способа выявления и лабораторного подтверждения хиВГЧ-6a/b, передаваемого по наследству, при обследовании новорожденных с

внутриутробной инфекцией позволит повысить эффективность сбора, учета и эпидемиологического анализа данных при оптимизации эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы в Российской Федерации.

В восьмой главе автором на основании данных, полученных в ходе выполнения диссертационного исследования, научно обоснованы подходы по совершенствованию эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы с использованием современных диагностических решений на основе молекулярно-биологических методов. Предложенные решения позволят повысить качество и эффективность эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы в Российской Федерации в целом.

В заключении диссертационной работы проведено обсуждение полученных результатов и их сопоставление с данными научной отечественной и зарубежной литературы.

Работа завершается выводами, практическими рекомендациями, перспективами дальнейшей разработки темы, а также дополнена приложением.

Апробация результатов

По результатам диссертационного исследования опубликовано 85 научных работ, из них 13 статей в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации основных научных результатов диссертации. Материалы диссертационного исследования доложены и обсуждены на более чем 50 конгрессах, научно-практических конференциях, съездах, научных форумах, научно-практических семинарах, включая рубежные.

Результаты научной деятельности реализованы в разработке и создании методических рекомендаций, 2 патентов Российской Федерации, международной заявки, опубликованной в соответствии с договором о патентной кооперации, 5 баз данных, 4 программ для ЭВМ, научно-технической документации 5 регистрационных досье медицинских изделий.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат имеет четкую структуру, соответствует требованиям ГОСТ и дает полное представление о цели, задачах, методах исследования и его результатах. Он точно отражает содержание диссертационной работы, раскрывает основные положения научной работы, выносимые на защиту.

Замечания и вопросы

Принципиальных замечаний к содержанию диссертационной работы Домоной Эльвиры Алексеевны и ее оформлению нет.

Хотелось бы получить ответ на вопрос: Какая форма внедрения результатов исследования предполагается в широких кругах практического здравоохранения (внесение изменений в действующие «Санитарные правила...», «Методические указания...», создание новых нормативно-правовых актов, предложения профессиональным сообществам для «Клинических рекомендаций» по соответствующим нозологическим формам)?

Заключение

Диссертация Домоной Эльвиры Алексеевны на тему «Эпидемиологический надзор за инфекциями ToRCH-группы с использованием современных диагностических решений на основе молекулярно-биологических методов», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.2.2. Эпидемиология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная проблема оптимизации системы эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы с использованием современных диагностических решений на основе молекулярно-биологических методов, что имеет важное народно-хозяйственное значение.

Диссертационная работа по своей актуальности, научной новизне, объему проведенных исследований, теоретической и практической

