

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, руководителя отдела эпидемиологии Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Цвиркун Ольги Валентиновны на диссертационную работу Домоной Эльвиры Алексеевны «Эпидемиологический надзор за инфекциями ToRCH-группы с использованием современных диагностических решений на основе молекулярно-биологических методов», представленную к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.2.2. Эпидемиология

Актуальность темы диссертационного исследования

Актуальность исследования Домоной Э.А. определяется, прежде всего, высокой значимостью врожденной инфекционной патологии возбудители которой относятся к группе ToRCH-инфекций, приводящей к перинатальным потерям, младенческой смертностью, ранней инвалидизации.

Поскольку против некоторых возбудителей инфекционных заболеваний отсутствует специфическая профилактика, акцент делается на раннюю диагностику в постнатальном периоде, которая способствует своевременной постановке диагноза и успешному лечению, что делает диссертационную работу Домоной Э.А. актуальной и современной.

Целью диссертационного исследования Домоной Э.А. является совершенствование эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы путем разработки и внедрения комплекса молекулярно-биологических методов диагностики.

В процессе работы автором поставлены и решены шесть задач:

- Изучена динамика уровня и структуры заболеваемости инфекциями ToRCH-группы (токсоплазмоз, краснуха, цитомегаловирусная инфекция) в Российской Федерации.
- Разработан, валидирован и апробирован комплекс методик качественного и количественного определения нуклеиновых кислот возбудителей ToRCH-инфекций на основе ПЦР, ОТ-ПЦР.

- Научно обоснована необходимость внедрения методик на основе ПЦР, ОТ-ПЦР в алгоритмы диагностики инфекций ToRCH-группы и проведена оценка эффективности их использования.
- Разработаны методические подходы к определению этиологической роли *Roseolovirus humanbeta*a/b в развитии внутриутробной инфекции и врожденной патологии.
- Проведена оценка экономической целесообразности внедрения способа выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрированного вируса герпеса человека ба/b для диагностики инфекций ToRCH-группы у новорожденных.
- Научно обоснованы и предложены пути совершенствования эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы с использованием современных диагностических решений на основе молекулярно-биологических методов.

Научная новизна исследования состоит в том, что автором в результате проведенных исследований 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 humanbeta*5, ДНК *Roseolovirus humanbeta*a и *R.humanbeta*b в различном биологическом материале методом ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ в различных форматах с высокими аналитическими и диагностическими характеристиками, позволяющий оптимизировать лабораторную диагностику инфекций ToRCH-группы.

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

Автором впервые в Российской Федерации описаны случаи наследуемого хиВГЧ-ба-статуса и хиВГЧ-бb-статуса у новорожденных при расшифровке внутрисемейной наследственной передачи эндогенного хромосомно-интегрированного *R.humanbeta*a (в трех поколениях с определением сайта интеграции – 17p хромосома: от отца – дочери и внуку) и эндогенного хромосомно-интегрированного *R.humanbeta*b (в двух поколениях: от отца – двум детям (девочке и мальчику) из двойни).

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 оценена распространенность хромосомно-интегрированных *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*, передаваемых по наследству. Впервые в Российской Федерации проведено полногеномное секвенирование клинических изолятов наследуемых хромосомно-интегрированных *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b* (эндогенных) с использованием технологии коротких прочтений и дана их характеристика. 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 исследования

Получены данные о современной эпидемиологической ситуации по основным инфекциям ToRCH-группы (токсоплазмоз, краснуха, цитомегаловирусная инфекция) в Российской Федерации, демонстрирующие необходимость широкого внедрения критериев стандартного определения случая заболевания и повышения качества лабораторной верификации путем

применения современных методов лабораторной диагностики, в том числе молекулярно-биологических методов.

Внедрение 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.humanbetab*, 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 в подгруппу «другие» («other») (ДНК двух представителей семейства *Orthoherpesviridae*, патогенных для человека: *R.humanbetaa* и *R.humanbetab*) 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-6a/b-статуса пациентов.

Разработанный способ выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6a/b в настоящее время является для практического здравоохранения единственным доступным способом, позволяющим не только выявить хиВГЧ-6a/b, передаваемый по наследству, но и одновременно проводить верификацию наследуемого хиВГЧ-6a-статуса и наследуемого

хиВГЧ-6b-статуса как у детей, так и взрослых, без выполнения дополнительных динамических наблюдений и обследования ближайших родственников.

Внедрение в практику здравоохранения города Москвы инновационного способа диагностики, основанного на количественном определении ДНК *Roseolovirus 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 возбудителями инфекций ToRCH-группы путем разработки и использования комплекса молекулярно-биологических методов исследования обеспечила усовершенствование информационного обеспечения системы эпидемиологического надзора за этими инфекциями.

Результаты исследования использованы при подготовке следующих нормативно - методических документов

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

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключений, сформулированных в диссертации

Степень достоверности полученных результатов исследований не вызывает сомнения и определяется достаточным объемом и репрезентативным материалом.

Несомненным достоинством работы является комплексный подход к изучению проблемы, включающий в себя корректные методики сбора и обработки исходной информации, иммунохимические и молекулярно-биологические исследования, адекватные методы статистической обработки материала.

Основные положения работы, выводы и практические рекомендации аргументированы с позиций доказательной медицины, логически вытекают из результатов исследований и подтверждены фактическим материалом.

Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертационной работе, обоснованы, достоверны и логично вытекают из полученных данных.

Результаты исследований подвергались экспертизе при опубликовании статей в рецензируемых научных изданиях и были предметом обсуждения на большом числе научно-практических конференций и конгрессов, в том числе с международным участием, с 2006 по 2023 годы.

Рекомендации по дальнейшему использованию результатов и выводов диссертации

Проведенные исследования позволили рекомендовать использовать комплекс разработок с использованием современных диагностических подходов, включающих молекулярно-биологические методы исследования.

В рамках изучения феномена наследуемой хромосомной интеграции *R.humanbetaa* и *R.humanbetab*, в том числе определения этиологической роли данных вирусов в развитии внутриутробной инфекции и врожденной патологии, определения генетических особенностей штаммов/клинических изолятов хиВГЧ-6a и хиВГЧ-6b, передаваемых по наследству, рекомендуется использовать комплекс разработок с использованием современных диагностических и научно-поисковых методов.

Предложено использование инновационного способа лабораторного обследования новорожденных с внутриутробной инфекцией с выявленными маркерами активной ВГЧ-6a/b-инфекции без выполнения дополнительных динамических наблюдений и обследования ближайших родственников.

Для консолидации и анализа данных по распространенности и географической стратификации наследуемых хиВГЧ-6a и хиВГЧ-6b (эндогенных) в стране и мире рекомендовано использование онлайн-платформы «Карта распространенности наследуемых хромосомно-интегрированных *Roseolovirus humanbetaa* и *Roseolovirus humanbetab*», находящейся в открытом доступе.

Полнота изложения основных результатов диссертации в научных публикациях

По материалам диссертации опубликовано 85 печатных работ, в том числе 13 статей в рецензируемых научных изданиях, журналах, рекомендованных ВАК Российской Федерации для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора наук.

Структура и объем диссертации

Диссертация написана по классическому типу и состоит из введения, восемь глав (обзора литературы, главы посвященной описанию материалов и методов исследований, шесть глав собственных исследований), заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы, приложений.

Диссертация изложена на 505 страницах машинописного текста, иллюстрирована 94 таблицами и 91 рисунком. Библиографический указатель включает 303 источника литературы (105 на русском языке и 198 на английском языке).

Основное содержание диссертационного исследования

Во **введении** диссертантом представлена актуальность темы исследования, степень ее разработанности, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы исследования, приведены положения, выносимые на защиту, показано личное участие автора в получении результатов, внедрение результатов исследования и другие разделы согласно требованиям к оформлению диссертаций.

Глава 1 соответствует теме диссертационной работы, отражает ее основные аспекты и демонстрирует знание автора отечественной и зарубежной литературы по обсуждаемым в работе вопросам.

Глава 2 посвящена материалам и методам исследования. Разделы главы четко структурированы, дано полное представление о дизайне исследования. Объемы исследований позволяют оценить обоснованность и достоверность полученных результатов. Используемая методология соответствует поставленным задачам и современным стандартам проведения научных исследований.

В главе 3 диссертантом проанализирована современная эпидемиологическая ситуация по трем основным заболеваниям, входящим в ToRCH-группу: токсоплазмозу (2009–2023 гг.), краснухе (2007–2023 гг.), ЦМВИ (2009–2023 гг.). За последние 15 лет из 85 субъектов Российской Федерации случаи врожденного токсоплазмоза у детей первого года жизни диагностировались только в 17, что обусловлено отсутствием патогномоничных клинических симптомов, различными подходами и возможностями при проведении лабораторной диагностики. Разница уровня заболеваемости ЦМИБ в городе Москве и Московской области в 27,4 – 73 раза свидетельствует о недоучете данной патологии. Схожая ситуация прослеживалась и при анализе уровня заболеваемости врожденной ЦМВИ.

Снижение заболеваемости краснухой до спорадического уровня и смещение ее в сторону взрослого населения лишь повышает риск рождения детей с синдромом врожденной краснухи, что подтверждает необходимость совершенствования лабораторной диагностики в пренатальном периоде. Представленные данные обуславливают необходимость применения единых подходов к лабораторной диагностике заболеваний, входящим в ToRCH-группу, с внедрением современных молекулярно-биологических методов.

В главе 4 автором проведены научная разработка, валидация, апробация комплекса методик для определения нуклеиновых кислот основных возбудителей инфекций ToRCH-группы (ДНК *T.gondii*, РНК *R.rubellae*, *C.humanbeta5*) и рассматриваемых кандидатов для включения в число возбудителей инфекций ToRCH-группы в подгруппу «другие» («other») (ДНК двух представителей семейства *Orthoherpesviridae*, патогенных для человека: *R.humanbetaa* и *R.humanbetab*) в качественном, качественном и количественном форматах в различном биологическом материале методом ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ. Установлены высокие аналитические и диагностические характеристики разработанных и валидированных методик. Предусмотрена возможность параллельного применения 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 повышая при этом информативность диагностического исследования и сокращая время исследования.

В главе 5 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. Представлены возможности интеграции диагностических технологий на основе 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 ЦМВИ у детей грудного возраста с перинатальным поражением ЦНС. Внедрение комплекса методик на основе ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ в алгоритмы диагностики инфекций ToRCH-группы обеспечивает высокий уровень достоверности получаемых результатов лабораторного исследования и их прогностическую ценность.

Глава 6 посвящена разработке методических подходов к определению этиологической роли *R.humanbetaa/b* в развитии ВУИ и врожденной патологии. Необходимость проведения данной разработки обоснована двумя клиническими примерами, приведенными автором. Данные клинические

примеры являются первыми случаями выявления и лабораторного подтверждения наследственной передачи хромосомно-интегрированных *R.humanbetaa* и *R.humanbetabb* у детей грудного возраста в Российской Федерации. Наиболее интересным является впервые проведенное комплексное изучение феномена наследуемой хромосомной интеграции *R.humanbetaa* и *R.humanbetabb* в Российской Федерации. Автором предложены подходы к определению истинного влияния *R.humanbetaa* и *R.humanbetabb* на врожденную патологию и решению вопроса о целесообразности включения данных инфекционных агентов в ToRCH-группу.

В главе 7 проведен анализ экономической значимости выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/б у новорожденных на примере Центрального федерального округа города Москвы. Показано, что гипердиагностика врожденных инфекций, вызываемых ВГЧ-6а и/или ВГЧ-6б у новорожденных с наследуемой хромосомно-интегрированной формой вируса, несет дополнительное необоснованное экономическое бремя для системы здравоохранения и общества. Расчетами предотвращенного экономического ущерба было убедительно показано сокращение затрат здравоохранения мегаполиса (предотвращенный экономический ущерб) при практическом внедрении способа выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/б у новорожденных с ВУИ в условиях стационарного лечения. Установлено, что внедрение инновационного способа выявления и лабораторного подтверждения хиВГЧ-6а/б, передаваемого по наследству, при обследовании новорожденных с ВУИ позволит повысить эффективность сбора, учета и эпидемиологического анализа данных при оптимизации эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы в Российской Федерации.

В главе 8 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.

Раздел «**Заключение**» построен логично и убедительно. В нем содержится обобщенный анализ всех основных материалов диссертационного исследования, свидетельствующий о необходимости совершенствования системы эпидемиологического надзора за ToRCH-инфекцией путем

повышения его чувствительности за счет применения современных высокочувствительных молекулярно-биологических методов диагностики.

К сожалению, в работе используются множество сложноподчиненных предложений, что существенно затрудняет восприятие материала. Однако это не снижает значимости проведенных исследований.

Выводы и практические рекомендации обоснованы, представлены на основании результатов выполненной работы. Выводы четко сформулированы и научно аргументированы, соответствуют цели, задачам исследования и положениям, выносимым на защиту.

Диссертация содержит полный и доступный научный материал, по структуре и оформлению соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям.

Автореферат оформлен в соответствии с требованиями, отражает основное содержание диссертации, раскрывает основные положения, выносимые на защиту.

Принципиальных замечаний по работе Домоной Э.А. нет. К диссертанту имеется три вопроса для дискуссии:

1. Какова на Ваш взгляд перспектива применения молекулярно-биологического метода исследования в эпидемиологическом надзоре за краснухой у беременных женщин?
2. Какие критерии эффективности эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы?
3. Считаете ли Вы целесообразным пересмотр организации диагностического скрининга беременных женщин в рамках борьбы с ToRCH-инфекциями?

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 значимости, достоверности полученных результатов, обоснованности сделанных выводов и рекомендаций полностью соответствует требованиям пунктов 9–14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а ее автор Домонова Эльвира Алексеевна заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.2.2. Эпидемиология.

Согласна на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» моих персональных данных (в соответствии с требованиями Приказа Минобрнауки России № 662 от 01.07.2015 года), необходимых для работы диссертационного совета Д 64.1.010.01.

24.01.2025г.

Официальный оппонент:

Руководитель отдела эпидемиологии
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,
доктор медицинских наук

Цвиркун Ольга Валентиновна

Подпись доктора медицинских наук
Цвиркун О.В. заверяю:

Ученый секретарь ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора

кандидат биологических наук

Наталья Владимировна Гудова

Федеральное бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Адрес: г. Москва, ул. адмирала Макарова, д.10.

Тел.: +7 (495) 452-18-09, e-mail: o.tsvirkun@gabrich.ru