

ОТЗЫВ

официального оппонента члена-корреспондента РАН, доктора медицинских наук, доцента, директора института микробиологии, антимикробной терапии и эпидемиологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации Припутневич Татьяны Валерьевны на диссертационную работу Домоновой 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

Актуальность проблемы инфекций ToRCH-группы заключается в широкой и повсеместной распространенности потенциальных возбудителей среди различных групп населения в популяции, бессимптомном течении заболевания или отсутствии патогномичных клинических симптомов у иммунокомпетентных лиц, высоком риске развития патологии у плода или новорожденного при первичном инфицировании женщины во время беременности, возможности реактивации при латентной инфекции у беременных с потенциальным риском внутриутробного заражения плода и неблагоприятного исхода беременности (выкидыш, мертворождение, преждевременные роды). Разработка высокоточных методов ранней диагностики, эффективного лечения и профилактики врожденных инфекций является одной из первоочередных задач современного здравоохранения. Разработка и внедрение научно обоснованных методических подходов к

оптимизации лабораторных исследований на основе молекулярно-биологических методов, направленных на качественное и количественное определение нуклеиновых кислот возбудителей ToRCH-инфекций, интеграция их в существующие алгоритмы диагностики позволят повысить эффективность и своевременность планирования мероприятий, проводимых в рамках эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы.

С учетом вышеизложенного, диссертационная работа Домоной Э.А., целью которой явилось совершенствование эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы путем разработки и внедрения комплекса молекулярно-биологических методов диагностики, является актуальной, своевременной и практически значимой.

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. Выносимые на защиту научные положения и выводы, сформулированные автором, логично вытекают из полученных результатов собственных исследований 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.humanbetaa* и *R.humanbetab* 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.

Автором впервые в Российской Федерации предложена методология изучения феномена наследуемой хромосомной интеграции вируса герпеса человека 6а (хиВГЧ-6а) и вируса герпеса человека 6б (хиВГЧ-6б), 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-6б-статуса у новорожденных при расшифровке внутрисемейной наследственной передачи эндогенного хромосомно-интегрированного *R.humanbetaa* и эндогенного хромосомно-интегрированного *R.humanbetab*.

Впервые в Российской Федерации диссертантом предложены научно обоснованные методические подходы к определению этиологической роли *R.humanbetaa/b* в развитии внутриутробной инфекции и врожденной патологии, включающие основные компоненты лабораторной диагностики наследуемого хиВГЧ-6а/б-статуса.

Впервые в Российской Федерации разработан инновационный способ выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/б, 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-6а/б, передаваемый по наследству, и проводить верификацию наследуемого хиВГЧ-6а-статуса и наследуемого хиВГЧ-6б-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.humanbetaaba* и *R.humanbetaabb* (эндогенных) с использованием технологии коротких прочтений и дана их характеристика.

Автором впервые в Российской Федерации оценена распространенность хромосомно-интегрированных *R.humanbetaaba* и *R.humanbetaabb*, 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 хВГЧ-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-6a/b 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

Диссертация включает введение, 8 глав: обзор литературы, глава с описанием использованных материалов и методов, 6 глав авторских исследований, а также заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений, список

литературы и приложения. Диссертационная работа изложена на 505 страницах, иллюстрирована 94 таблицами и 91 рисунком. Список литературы включает 303 источника, из которых 105 научных работ на русском языке и 198 – на английском языке.

Во введении автором показаны актуальность избранной темы исследования, степень ее разработанности, сформулированы цель и задачи, научная новизна исследования, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы исследования, положения, выносимые на защиту, представлено личное участие автора в получении результатов, внедрение результатов, степень достоверности и апробация результатов исследования, соответствие работы паспорту специальности, данные о количестве публикаций, объеме и структуре диссертации.

Первая глава соответствует теме диссертационной работы, отражает состояние научной проработки основных аспектов и демонстрирует глубокое знание автора отечественной и зарубежной литературы по обсуждаемым в работе проблемам.

Во второй главе представлены материалы и методы исследования, использованные автором в ходе работы над диссертацией, дано полное представление о дизайне исследования. Объем материалов исследования, а также методы исследования, выбранные диссертантом для достижения цели, позволяют оценить обоснованность и достоверность полученных результатов.

В третьей главе автором проанализирована современная эпидемиологическая ситуация по трем основным заболеваниям, входящим в ToRCH-группу, в Российской Федерации. А именно: токсоплазмозу (2009–2023 гг.), краснухе (2007–2023 гг.), цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ) (2009–2023 гг.). Выявленная существенная неравномерность территориального распределения заболеваемости токсоплазмозом, цитомегаловирусной болезнью и врожденной ЦМВИ в разрезе субъектов Российской Федерации, расчетные показатели, свидетельствующие о

существующей гиподиагностике случаев СВК, 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.

В четвертой главе отражены результаты научной разработки, валидации, апробации комплекса методик, предназначенного для определения нуклеиновых кислот основных возбудителей инфекций ToRCH-группы (ДНК *T.gondii*, РНК *R.rubellae*, *C.humanbeta5*) и двух рассматриваемых кандидатов для включения в число возбудителей инфекций ToRCH-группы в подгруппу «другие» («other») (ДНК *R.humanbeta6a* и *R.humanbeta6b*) в качественном, качественном и количественном форматах в различном биологическом материале методом ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ. Высокие аналитические, диагностические характеристики представленных методик, возможность их параллельного применения в составе единого комплекса с использованием одной приборной базы и единой программы амплификации позволяет достоверно увеличить информативность диагностического исследования при сокращении времени на получение результатов анализа.

В пятой главе проведена оценка эффективности применения авторских методик качественного и количественного определения нуклеиновых кислот возбудителей инфекций ToRCH-группы на основе ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ и алгоритмов их использования. Диссертантом рассмотрены возможности интеграции диагностических технологий на основе разработанных методик в алгоритмы лабораторной диагностики инфекций ToRCH-группы: краснухи у беременных и внутриутробной инфекции у новорожденных, токсоплазма у

беременных и проведения верификации врожденной ЦМВИ у детей грудного возраста с перинатальным поражением центральной нервной системы. 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.

Разработке методических подходов к определению этиологической роли *R.humanbetaa/b* в развитии ВУИ и врожденной патологии посвящена шестая глава. Автором подробно описаны первые случаи выявления и лабораторного подтверждения наследственной передачи хиВГЧ-6а и хиВГЧ-6b у детей грудного возраста в Российской Федерации, являющиеся обоснованием проведения данной разработки. Изучение феномена наследуемой хромосомной интеграции *R.humanbetaa* и *R.humanbetab* в Российской Федерации потребовало последовательного создания способа экстракции из образцов ногтевых пластин, а также доступного, инновационного способа выявления и лабораторного подтверждения хиВГЧ-6а/b, что детально представлено автором. Диссертантом оценена распространенность хиВГЧ-6а и хиВГЧ-6b, передаваемых по наследству, в Российской Федерации и предложен базовый инструмент (онлайн-платформа) для ее изучения.

Седьмая глава содержит результаты анализа экономической значимости выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хиВГЧ-6а/b у новорожденных на примере города Москвы Центрального федерального округа. Внедрение в практику здравоохранения инновационного способа выявления и лабораторного подтверждения наследуемого хромосомно-интегрированного *R.humanbetaa/b*, основанного на количественном определении специфической ДНК в образцах цельной венозной крови, ногтевых пластин и/или волосяных фолликулов пациента методом ПЦР-РВ, позволит достичь положительного экономического эффекта, сократить

затраты здравоохранения города Москвы и оптимизировать эпидемиологический надзор за инфекциями ToRCH-группы в регионе.

В восьмой главе автором изложены направления совершенствования системы эпидемиологического надзора за инфекциями ToRCH-группы на основе использования современных диагностических решений с учетом расширения ее информационной подсистемы, что позволяет оперативно и в полном объеме оценивать эпидемиологическую ситуацию и принимать адекватные ей управленческие решения.

В заключении диссертационной работы проведено обсуждение полученных результатов исследования, их сопоставление с имеющимися в мировой научной литературе сведениями.

На основании полученных результатов автором сформулированы 10 выводов, представлены практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы. Выводы соответствуют цели, задачам исследования и положениям, выносимым на защиту. Обозначенные перспективы дальнейшей разработки темы логичны и не вызывают возражений. Диссертационное исследование дополнено приложениями.

Апробация результатов

Полученные результаты отражены в 85 научных работах, из них 13 статей в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации основных научных результатов диссертации. Результаты диссертационного исследования доложены и обсуждены на более чем 50 конгрессах, научно-практических конференциях, съездах, научных форумах, научно-практических семинарах, включая зарубежные.

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, точно отражает содержание диссертационной работы, раскрывает основные положения исследования, выносимые на защиту. Оформление автореферата диссертации соответствует требованиям ГОСТ.

Замечания и вопросы

Принципиальных замечаний к содержанию работы и ее оформлению при рассмотрении диссертации не возникло.

В порядке дискуссии прошу ответить на следующие вопросы:

1. Представлено ли в зарубежной или отечественной научной литературе описание случаев наследственной передачи хромосомно-интегрированных ВГЧ-6а и/или ВГЧ-6b ребенку от обоих родителей одновременно?

2. Какова дальнейшая тактика ведения пациента при выявлении и лабораторном подтверждении наследуемого хромосомно-интегрированного ВГЧ-6а/б у новорожденного?

Заключение

Диссертация Домоновой 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 г. № 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 г.), необходимых для работы диссертационного совета 64.1.010.01.

Официальный оппонент:

директор института микробиологии,
антимикробной терапии и эпидемиологии
ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова»
Минздрава России,
член-корреспондент РАН,
доктор медицинских наук, доцент

Припутневич Т.В.

«20» января 2025 г.

Подпись члена-корреспондента РАН, доктора медицинских наук,
доцента Припутневич Т.В. заверяю:
Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова»
Минздрава России

К.м.н., доцент



Волович Станислав Владиславович

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4
Тел.: +7 (910) 414-56-16, e-mail: t_priputnevich@oparina4.ru