

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 208.046.01 НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «МОСКОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМ. Г.Н. ГАБРИЧЕВСКОГО» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 06 июня 2019 г. № 4.

О присуждении Горбатову Алексею Александровичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Изучение антигенов *Francisella ssp.*, перспективных для использования в диагностике туляремии» по специальности 03.02.03 – микробиология принята к защите 02.04.2019 г., протокол № 3 диссертационным советом Д 208.046.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 10). Диссертационный совет утвержден Приказом Министерства образования и науки РФ № 714 / нк «О советах по защите докторских и кандидатских диссертаций» от 2 ноября 2012 г., приказ № 1577 / нк от 16.12.2016 г. част. изм.

Соискатель Горбатов Алексей Александрович, 1986 года рождения, в 2009 году окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации по специальности «медико-профилактическое дело». С 2010 по 2013 год проходил обучение в аспирантуре в Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. С 2013 года и по настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов в Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Диссертация выполнена в отделе иммунобиохимии патогенных микроорганизмов Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Научные руководители: доктор биологических наук (14.03.09 - клиническая иммунология, аллергология), Фирстова Виктория Валерьевна, Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, лаборатория молекулярной микробиологии, заведующая; кандидат биологических наук (03.01.04 -

биохимия), Бикетов Сергей Федорович, Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, отдел иммунобиохимии патогенных микроорганизмов, заведующий.

Официальные оппоненты: Саяпина Лидия Васильевна – доктор медицинских наук (03.02.03 – микробиология), Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства Здравоохранения России, управление экспертизы противобактериальных иммунобиологических препаратов, старший научный сотрудник, главный эксперт; Щуковская Татьяна Николаевна – доктор медицинских наук, профессор (03.02.03 – микробиология), Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, отдел иммунологии, главный научный сотрудник – дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва) в своем положительном заключении, подписанном Кормилициной Мариной Ильиничной, кандидатом биологических наук, лаборатория туляремии, старший научный сотрудник, указала, что диссертация является работой, в которой содержится решение актуальной научно-практической задачи – совершенствование серологических методов диагностики туляремии, основанных на методе иммунохроматографии. Предложенные способы позволят проводить диагностику туляремии, мониторинг серологических исследований вакцинированных людей и оценки эпидемиологической обстановки в природных очагах.

Соискатель имеет 15 опубликованных работ, 3 патента на изобретение в РФ, в том числе 15 работ по теме диссертации, из них 4 работы опубликованы в рецензируемых научных изданиях, 2 тезисов - в рецензируемых изданиях, 3 – в других изданиях, 6 – в материалах конференций, общим объемом 58 страниц и авторским вкладом – 39 страниц. Наиболее значимые работы: 1) Firstova, V.V. Immunological Markers that Correlate with Protection Immunity Against Tularemia Infection / V.V. Firstova, A.N. Mokrievich, V.M. Pavlov, A.A. Gorbatov, S.F. Biketov, I.A. Dyatlov // Adv Exp Med Biol. – 2014. – Vol. 808. – P. 15-23. 2) Фирстова, В.В. Влияние степени воспаления у мышей линии Balb/c, индуцированного разными дозами *F.tularensis* 15 НИИЭГ, на формирование антитуляремийного клеточного и гуморального иммунного ответа / В.В. Фирстова, В.М. Павлов, А.А. Горбатов, Т.И. Комбарова, А.В. Караулов, И.А. Дятлов // Иммунология. – 2014. – № 35 (3). – С. 147-150. 3) Горбатов, А.А. Сравнительное исследование экспериментальных и коммерческих серологических тестов для определения противотуляремийных антител у людей / А. А. Горбатов, П. В. Соловьёв, Е. В. Баранова, Г. М. Титарёва, Е. С. Куликалова, С. Ф. Бикетов, А. В. Мазепа // Клиническая лабораторная диагностика. - 2018. - Т.63(10). - С. 630-635.

На диссертацию и автореферат поступило 4 положительных отзыва без замечаний от: 1) к.б.н., Гончаренко А.В., старшего научного сотрудника, руководителя группы редактирования геномов микроорганизмов Федерального государственного учреждения «Федеральный

исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук; 2) д.м.н., Павлович Н.В., заведующей лабораторией туляремии Федерального казенного учреждения здравоохранения Ростовский-на-Дону научно-исследовательский институт Роспотребнадзора; 3) д.м.н., Мироновой Л.В., заведующей лабораторией холеры Федерального казенного учреждения здравоохранения «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 4) д.м.н. Таран Т.В., заведующей лабораторией подготовки специалистов Федерального казенного учреждения здравоохранения Ставропольский противочумный институт. В отзывах отмечено, что в ходе диссертационного исследования была предложена научная гипотеза, объясняющая феномен серопозитивности сывороток людей и животных, инфицированных вирулентными штаммами *F. tularensis*, в отношении липополисахарида *F. novicida*, разработаны и апробированы универсальные иммунохроматографические тест-системы для обнаружения специфических антител к туляреминому микробу.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тематикой научных исследований, компетентностью в вопросах, рассмотренных в диссертации, большим опытом работы в изучении патогенных для человека микроорганизмов и способов их идентификации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований разработаны и апробированы универсальные иммунохроматографические тест-системы для обнаружения специфических антител к туляреминому микробу с тремя антигенами – туляремиными липополисахаридами *F. tularensis*, *F. novicida* и рекомбинантным белком FTT1696. Предложена научная гипотеза, объясняющая феномен серопозитивности сывороток людей и животных, инфицированных вирулентными штаммами *F. tularensis*, в отношении липополисахарида *F. novicida*, отсутствующей в сыворотках вакцинированных. Доказана целесообразность использования комплексных антигенов туляреминого микроба – тулярина, ультразвукового дезинтеграта и кислотонерастворимого комплекса – в качестве специфических индукторов иммунокомпетентных клеток для оценки напряженности клеточного иммунитета. Введены представления о существенной разнице в количестве капсульного О-антигена у вакцинных и вирулентных штаммов, что приводит к индукции антител, распознающих общие для подвидов *F. tularensis* и *F. novicida* эпитопы в О-антигенной части соответствующих липополисахаридов.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказаны существенные отличия гуморального иммунного ответа у мышей при экспериментальной туляремии по сравнению с лабораторными животными других видов, доказано, что обнаружение в сыворотке крови людей и животных противновицидных антител, свидетельствует об инфицировании туляреминой инфекцией. Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс иммунохимических методов исследования, которые позволили наработать доказательную базу для проведения оценки возможностей применения на практике разработанных способов идентификации антител против туляремии. Изложены данные о том, что выявление индукторов иммунокомпетентных клеток для оценки напряженности клеточного иммунитета необходимо проводить с использованием туляреминых антигенов, таких как тулярин, ультразвуковой дезинтеграт и кислотонерастворимый комплекс. Раскрыты

возможности использования разработанной иммунохроматографической тест-системы при мониторинге природных очагов туляремии. Изучены возможности метода иммунохроматографии выявлять антитела против туляремии, как на ранних сроках, начиная с 7 дня заболевания, для назначения специфической терапии, так и спустя несколько лет, для принятия решения о ревакцинации. Проведена модернизация иммунохроматографической тест-системы, что позволило использовать ее для выявления противотуляремийных антител у всех видов животных, с сохранением показателей чувствительности 94,3 % и специфичности 100 %.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработанный автором метод серодиагностики туляремии внедрены в работе в Центре индикации возбудителей инфекционных болезней I-II группы патогенности и обеспечения противоэпидемической готовности при Федеральном бюджетном учреждении науки государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии – для исследования сывороток вакцинированных и переболевших туляремией людей, а также сывороток экспериментальных животных для выявления специфических антител к возбудителю туляремии (акт внедрения от 17.01.2018). Материалы диссертации используются в работе испытательного лабораторного центра противочумной станции в Федеральном государственном учреждении здравоохранения «Медико-санитарная часть № 164» с целью выявления специфических антител к возбудителю туляремии у вакцинированных сотрудников Федерального бюджетного учреждения науки государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии (акт внедрения от 14.02.2018). Результаты исследования используются в Ростовском-на-Дону научно-исследовательском противочумном институте при выявлении противотуляремийных антител в сыворотках вакцинированных людей при дополнительных диагностических исследованиях, а также в отделе профессиональной переподготовки и повышения квалификации специалистов в программах обучения (акт внедрения от 10.02.2018). Определены перспективы использования предложенного диагностического теста для выявления противотуляремийных антител методом иммунохроматографии в повседневную практическую деятельность специализированных лабораторий, осуществляющих диагностику туляремии, мониторинговую деятельность и оценку эпидемиологической обстановки в природных очагах. Создана рабочая коллекция сывороток крови от различных видов животных, иммунизированных вакцинным штаммом *F. tularensis* и зараженных вирулентными штаммами *F. tularensis* разных подвидов. Представлен алгоритм проведения лабораторной диагностики туляремии с внедрением иммунохроматографического метода для обнаружения противотуляремийных антител в клиническом материале при обследовании с диагностической и профилактическими целями.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что объем выборки изученных штаммов микроорганизмов и образцов клинического материала является достаточным, методы статистической обработки подобраны адекватно, эксперименты проведены на высоком научно-методическом уровне с применением современных методов и использованием сертифицированного оборудования, показана воспроизводимость результатов исследования в различных условиях. В ходе выполнения диссертационной работы изучено 17 штаммов, полученных из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск». Исследовано 201 образец биологического материала, полученных от больных и вакцинированных против туляремии людей, 276 образцов от иммунизированных и

зараженных вирулентными штаммами возбудителя туляремии лабораторных животных. Теория исследования построена на известных данных и согласуется с опубликованными экспериментальными данными по разработке и применению иммунобиохимических методов, в том числе иммунохроматографии. Идея базируется на отечественных и мировых данных в области диагностики возбудителя туляремии. Использовано сравнение авторских данных и данных, полученных ранее по проблеме серодиагностики возбудителей особо опасных инфекций. Установлено, что большинство результатов исследования согласуется с результатами других авторов, представленными в независимых источниках по лабораторной диагностике туляремии. Используются сертифицированные методы исследования и описательной статистики, специальные компьютерные программы и международные общедоступные базы данных.

Личное участие соискателя заключалось в выполнении всех микробиологических, иммунологических и биохимических исследований. Самостоятельно проведен анализ полученных данных, их обработка и обобщение. Работа по выделению липолисахаридов туляремийного микроба была проведена совместно с сотрудницей отдела особо опасных инфекций к.б.н. Шайхутдиновой Р.З. Помощь в получении материала от зараженных животных оказывали сотрудница лаборатории биологических испытаний к.б.н. Комбарова Т.И. и сотрудницы отдела особо опасных инфекций к.м.н. Титарева Г.М. и Миронова Р.И. Помощь в создании рекомбинантного белка FTT1696 оказали сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов к.м.н. Панферцев Е.А. и сотрудница отдела особо опасных инфекций к.б.н. Кравченко Т.Б. Конструирование ИХ-тестов проводили совместно с сотрудницей отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов к.м.н. Барановой Е.В. Электронно-микроскопические методы исследования выполнялись под руководством д.б.н. Герасимова В.Н. Масс-спектрометрические исследования антигенов *F. tularensis* проведены совместно с сотрудником «Института белка РАН» г. Пущино к.б.н. Суриным А.К. Работа по межлабораторным испытаниям ИХ-тестов была проведена на базе ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора сотрудницей лаборатории туляремии к.б.н. Ароновой Н.В. под руководством заведующей лабораторией туляремии д.м.н. Павлович Н.В.

На заседании 06 июня 2019 года диссертационный совет принял решение присудить Горбатову Алексею Александровичу ученую степень кандидата медицинских наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 12 докторов наук по специальности 03.02.03 – микробиология, участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 18, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета,
доктор биологических наук, профессор
Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, доцент
06.06.2019 г.




Алешкин Владимир Андрианович


Борисова Ольга Юрьевна