

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 ДОКТОРА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 07 октября 2021 г. № 6.

О присуждении Макаровой Марии Александровне, гражданке Российской Федерации, ученой степени доктора медицинских наук.

Диссертация «Гетерогенность популяции патогенных *Escherichia coli* – возбудителей кишечных инфекций и заболеваний внекишечной локализации», по специальности 1.5.11. (03.02.03) – микробиология принята к защите 24.06.2021 протокол № 3 диссертационным советом 64.1.004.01 (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 част. изм.

Соискатель Макарова Мария Александровна, 1974 года рождения. В 1998 году окончила Санкт-Петербургскую государственную медицинскую академию имени И.И. Мечникова по специальности «Медико-профилактическое дело». Диссертацию на соискание ученой степени кандидата медицинских наук «Биологические свойства *Escherichia coli* серологических групп O1, O144 и O157, регистрируемых как возбудители острых кишечных инфекций» по специальности 03.00.07 – микробиология защитила в 2007 году в диссертационном совете, созданном на базе государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию». С 1998 г. работает в ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера в лаборатории кишечных инфекций, в настоящее время – в должности старшего научного сотрудника лаборатории идентификации патогенов.

Диссертация выполнена в лаборатории кишечных инфекций федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Научный консультант: Нарвская Ольга Викторовна – доктор медицинских наук (03.00.07 – микробиология), профессор, Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; лаборатория

молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики; ведущий научный сотрудник.

Официальные оппоненты: Суворов Александр Николаевич – член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук (03.00.07 – микробиология), профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, отдел молекулярной микробиологии, заведующий отделом; Тец Виктор Вениаминович – доктор медицинских наук (03.00.07 – микробиология), профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра микробиологии и вирусологии, заведующий; Мавзютов Айрат Радикович – доктор медицинских наук (03.00.07 – микробиология), профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии, заведующий – дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Нижний Новгород) в своем положительном заключении, подписанном д.б.н., доцентом Заславской Майей Исааковной (профессор, кафедра эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины), указала, что диссертация является законченным научным трудом, в котором на основании выполненных автором обширных исследований и разработок осуществлено решение важной научно-практической проблемы – совершенствования лабораторной диагностики заболеваний, обусловленных *E. coli* с учетом оценки патогенного потенциала штаммов, вызывающих заболевания кишечной, внекишечной локализации и колонизирующих кишечник здоровых лиц, завоза и циркуляции на территории Российской Федерации штаммов, принадлежащих к международным клонам высокого эпидемического риска.

Соискатель имеет 60 работ, опубликованных по теме диссертации, из них 26 статей в рецензируемых изданиях, 5 статей – в других изданиях, 15 тезисов в рецензируемых изданиях и 14 тезисов – в сборниках трудов и материалах конференций, 1 патент РФ на изобретение, 7 свидетельств о регистрации баз данных, 1 методические указания, 5 клинических и 1 практические рекомендации. Общий объем научных публикаций по теме диссертации составляет 185 страниц и авторским вкладом – 150 страниц.

Наиболее значимые работы: 1). Макарова, М.А. Применение молекулярно-генетических методов для определения серологического варианта и факторов вирулентности эшерихий / М.А. Макарова, Л.А. Кафтырева // Профилактическая и клиническая медицина. – 2011. – № 3 (40). – С. 369-372; 2). Макарова, М.А. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Escherichia coli* серогруппы O26, вызывающих диарейные заболевания у детей / М.А. Макарова, А.В. Дмитриев, З.Н. Матвеева, Л.А. Кафтырева // Медицинский академический журнал. – 2018. – Т. 18, № 3. – С. 85-90; 3). Sepp, E. Phenotypic and molecular epidemiology of ESBL-, AmpC-, and carbapenemase-producing *Escherichia coli* in Northern and Eastern Europe / E. Sepp, A. Bilozor, K. Huik, S. Kõljalg, K. Pai, T. Rööp, P. Naaber, R. Andreson, A. Brauer, T. Kõressaar, M. Remm, A. Balode, M. Ivanova, S. Egorova, L. Kaftyreva, M. Makarova, J. Miciuleviciene // Front. Microbiol. – 2019. – Vol. 10. – Article

2465; 4). Кафтырева, Л.А. Детекция международных клонов высокого риска *Salmonella* и *Escherichia coli*, возбудителей заболеваний, передающихся с пищевыми продуктами, в Российской Федерации / Л.А. Кафтырева, С.А. Егорова, М.А. Макарова // Инфекция и иммунитет. – 2020. – Т.10, № 3. – С. 565-569; 5). Макарова, М.А. Лабораторные ошибки идентификации штаммов *Escherichia coli* серологических групп О6 и О25 как возбудителей острых кишечных инфекции / М.А. Макарова, З.Н. Матвеева, Е.В. Смирнова, Л.И., И.А., С.Е. Сокольник, Л.Ю. Жирнова, Н.К. Котова, Т.Ф. Пеленко, Д.С. Дудников, Н.В. Васильева, Л.А. Кафтырева // Клиническая лабораторная диагностика. – 2020. – Т. 65, №6. – С. 368-374; 6). Макарова, М.А. Генетическое разнообразие штаммов энтероагрегативных *Escherichia coli* / М.А. Макарова, Л.А. Кафтырева // Клиническая лабораторная диагностика. – 2020. – Т. 65, № 11. – С. 707-711.

На диссертацию и автореферат поступило 12 положительных отзывов без замечаний от:

- 1) д.м.н., доцента Захаровой Ю.А. заместителя руководителя по научной работе, главного научного сотрудника Екатеринбургского научно-исследовательского института вирусных инфекций ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»» Роспотребнадзора;
- 2) д.м.н., профессора Подколзина А.Т., заместителя директора по эпидемиологии, руководителя лаборатории молекулярной диагностики и эпидемиологии острых кишечных инфекций ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора;
- 3) д.м.н., Припутневич Т.В., директора института микробиологии, антимикробной терапии и эпидемиологии ФБГУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России;
- 4) д.м.н., доцента Тапальского Д.В., заведующего кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии УО «Гомельский государственный медицинский университет»;
- 5) д.м.н., доцента Асланова Б.И. профессора кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии, исполняющего обязанности заведующего кафедрой эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России;
- 6) д.м.н., доцента Исаевой Г.Ш., заместителя директора по инновационному развитию ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора;
- 7) д.м.н., доцента Колосовской Е.Н., заведующей отделом санитарно-эпидемиологического надзора, главного специалиста по надзору за госпитальной инфекцией ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны РФ;
- 8) д.б.н., старшего научного сотрудника Воробьева А.А., ведущего научного сотрудника научно-исследовательского отдела филиала ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны РФ и д.м.н., доцента Охапкиной В.Ю., старшего научного сотрудника научно-исследовательского отдела филиала ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны РФ;
- 9) заслуженного деятеля науки РФ, д.м.н., профессора Савичевой А.М., заведующей отделом медицинской микробиологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта» Минобрнауки РФ;
- 10) д.м.н., доцента Малышева В.В., заслуженного работника высшей школы Российской Федерации, руководителя группы Санкт-Петербургского научно-исследовательского центра экологической безопасности Российской академии наук обособленного структурного подразделения ФГБУН «Санкт-Петербургский

Федеральный исследовательский центр Российской академии наук»; 11) к.м.н. Бехтерева М.К., старшего научного сотрудника научно-исследовательского отдела кишечных инфекций ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней» ФМБА; 12) д.м.н., доцента Ершовой О.Н., заместителя главного врача по эпидемиологической работе ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Н.Н. Бурденко» Минздрава РФ. Все отзывы носят положительный характер. В отзывах отмечено, что в ходе исследования получены данные о характеристике популяционной структуры и роли патогенных *E. coli* в развитии кишечных инфекций и заболеваний внекишечной локализации с использованием микробиологических и молекулярных методов исследования.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тематикой научных исследований, компетентностью в вопросах, рассмотренных в диссертации, большим опытом работы в вопросах изучения биологических свойств энтеробактерий, включая *Escherichia coli*, резистентности микроорганизмов к антибиотикам, использования молекулярно-генетических методов для характеристики микроорганизмов.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований разработана концепция современного представления о биологических свойствах штаммов патогенных *E. coli* – возбудителей диарейных и внекишечных заболеваний, представителей нормобиоты кишечника человека, основанная на использовании современных молекулярных методов детекции патогенетически значимых генов вирулентности, резистентности к антибиотикам и принадлежности к филогенетическим группам. Предложены и научно обоснованы приоритетные критерии оценки патогенного потенциала штаммов *E. coli*, завоза и циркуляции на территории Российской Федерации *E. coli*, принадлежащих к международным клонам высокого эпидемического риска пандемического распространения. Доказана целесообразность использования комплекса культуральных и молекулярных методов при лабораторной диагностике инфекций, обусловленных патогенными *E. coli*. Впервые введены новые представления о циркуляции на территории Российской Федерации гибридных патогрупп *E. coli*, сочетающих в себе генетические детерминанты патогенности энтероаггративных и уропатогенных *E. coli*, а также штаммов принадлежащих к глобальным международным клонам высокого риска – шигатоксин-продуцирующих STEC O26:H11-B1-ST21 – возбудитель диарейных заболеваний и ExPEC O25:H4-B2-ST131 – возбудитель инфекций внекишечной локализации, включая, связанных с оказанием медицинской помощи.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказана эффективность комплексного анализа патогенных и комменсальных штаммов *E. coli*, включающего изучение вирулентных и антигенных свойств, чувствительности и механизмов резистентности к антимикробным препаратам, принадлежности к филогенетическим и клональным группам, вносящего вклад в расширение представлений о циркулирующих на территории РФ патогенных *E. coli*. Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс бактериологических, молекулярных и биоинформатических методов исследования, которые позволили охарактеризовать популяцию патогенных штаммов *E. coli* по антигенным, вирулентным свойствам, выявить наиболее значимые в клиническом и эпидемическом отношении клональные комплексы, описать новые и с измененными свойствами штаммы, объяснить систематические ошибки детекции возбудителей на постаналитическом этапе

лабораторной диагностики. Изложены данные о генетической гетерогенности патогенных *E. coli*, вызывающих острые кишечные заболевания и инфекции внекишечной локализации, включая, связанные с оказанием медицинской помощи, которые могут служить основой совершенствования лабораторной диагностики и молекулярно-генетического мониторинга возбудителей. Раскрыты возможности молекулярных методов при лабораторной диагностике инфекционных заболеваний эшерихиозной этиологии, а также прогноза развития хронического течения болезни и острых жизнеугрожающих состояний. Изучена резистентность штаммов *E. coli*, выделенных при инфекционных заболеваниях (острые кишечные инфекции, гнойно-септические инфекции, инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи) и входящих в состав нормобиоты кишечника. Данные о распространении бета-лактамаз расширенного спектра существенно дополнили характеристику всей популяции *E. coli*, что способствует актуализации рекомендаций по антимикробной терапии заболеваний эшерихиозной этиологии. Раскрыта необходимость концепции «единого здравоохранения», включающей межведомственное взаимодействие специалистов в области гигиены и эпидемиологии, практической медицины и ветеринарии для осуществления более полного информационного обеспечения, качественной микробиологической диагностики заболеваний, а также научно обоснованные подходы к проведению мониторинга циркулирующих на территории штаммов *E. coli*, в системе эпидемиологического надзора за возбудителями инфекционных заболеваний. Проведена модернизация существующих алгоритмов лабораторной диагностики острых кишечных инфекций с использованием комплекса культуральных и молекулярных методов, обеспечивающих получение новых результатов по теме диссертации - характеристике популяции патогенных *E. coli* по антигенным и вирулентным свойствам. Изучена взаимосвязь антигенных свойств и генетических маркеров вирулентности и **проведена модернизация** существующих алгоритмов лабораторной диагностики с использованием культуральных и молекулярных методов, обеспечивающих подтверждение этиологической значимости выделенного штамма *E. coli*, в рутинной практике бактериологических лабораторий.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработаны методические указания, клинические и практические рекомендации, которые внедрены в практическое здравоохранение на федеральном уровне: «Особенности лабораторной диагностики эшерихиозов, обусловленных энтерогеморрагическими *E. coli* O157:H7»; «Молекулярно-генетический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи»; «Принципы организации мониторинга устойчивости ведущих возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, к антимикробным препаратам в лечебно-профилактических медицинских организациях здравоохранения», «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» версия 2014 года; «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» версия 2015 года; «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» версия 2018 года; «Практические рекомендации по преаналитическому этапу микробиологических исследований». Определены перспективы практического использования данных о гетерогенности биологических свойств популяции патогенных *E. coli* и колонизирующих кишечник здорового человека, чувствительности и механизмах резистентности российских

штаммов *E. coli* к антибиотикам и выявленных клонах высокого риска. Созданы семь баз данных, включающие уникальные результаты фенотипических и молекулярных исследований российских штаммов *E. coli*: «Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *E. coli*, выделенных при внекишечных заболеваниях (ФИПС № 2019621937 от 29.10.2019), «Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *E. coli*, выделенных при флегмонозных аппендицитах (ФИПС № 2019622277 от 06.12.2019), «Молекулярно-генетическая характеристика штаммов энтероаггративных *E. coli*, выделенных из проб фекалий пациентов с диарейным синдромом (ФИПС № 2019622323 от 10.12.2019), «Молекулярно-генетическая характеристика комменсальных штаммов *E. coli*, выделенных от здоровых (без признаков острой кишечной инфекции) взрослых жителей Санкт-Петербурга» (ФИПС № 2020620646 от 08.04.2020), «Биологические свойства шигатоксин-продуцирующих штаммов *E. coli* (STEC), выделенных из проб испражнений пациентов с диарейным синдромом (ФИПС № 2020621031 от 22.06.2020), «Биологические свойства штаммов энтеропатогенных *E. coli* (EPEC), выделенных из проб испражнений пациентов с диарейным синдромом (ФИПС № 2020621032 от 22.06.2020), «Биологические свойства штаммов энтеротоксигенных *E. coli* (ETEC), выделенных из проб испражнений пациентов с диарейным синдромом (ФИПС № 2020621033 от 22.06.2020). В Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболensk» депонированы 24 штамма *E. coli* – возбудителей острых кишечных и внекишечных инфекций, отличающиеся кластерами генов вирулентности и патогенности. В международном банке данных GenBank представлена полная последовательность генома уникального штамма EAgEC, а также нуклеотидные последовательности генов, ассоциированных с антигенными и вирулентными свойствами *E. coli*. Получен патент на изобретение РФ: «Штамм бактерий *Escherichia coli* в качестве контрольного тест-штамма для фенотипических и молекулярных исследований эшерихий серологической группы O144» (№ 2707640 от 28.11.2019 г). Материалы диссертации вошли в учебные пособия и внедрены в образовательный процесс кафедры медицинской микробиологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» и ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» при проведении сертификационных циклов повышения квалификации врачей по специальности «Бактериология». Предложения по совершенствованию лабораторной диагностики эшерихиозов внедрены в работу бактериологических лабораторий инфекционных стационаров для детей и взрослых г. Санкт-Петербург: ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница имени С.П. Боткина», ГБУЗ «Детская городская клиническая больница № 5 им. Н. Ф. Филатова», ГБУЗ «Детская городская больница № 17 Святителя Николая Чудотворца».

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что объем выборки изученных штаммов *E. coli* является достаточным, методы статистической обработки подобраны адекватно, исследования проведены на высоком научно-методическом уровне. В ходе выполнения диссертационной работы изучены 1704 штамма *E. coli*, выделенных из разных биоматериалов и различных по эпидемиологической характеристике источников. Теория исследования построена на известных проверяемых данных, согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации. Идея базируется на анализе теории и практики, обобщении экспериментальных данных и передового опыта в области медицинской микробиологии. Использовано сравнение авторских данных и данных, полученных ранее по рассматриваемой

тематике. Установлено, что большинство результатов исследования согласуется с результатами других отечественных и зарубежных авторов и дополняют их. Используются корректный методологический подход при планировании работы и адекватный дизайн исследования. Достоверность результатов обеспечивается системным подходом с применением сертифицированных современных микробиологических, молекулярно-генетических, биоинформатических и статистических методов исследования, обширностью репрезентативного материала.

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии во всех этапах выполнения диссертационного исследования. Автором на основе анализа литературы определено обоснование научного исследования, разработаны этапы программы и план исследования, сформулированы цель, задачи, выбраны объекты, предмет, методология и методы исследования, лично проведены бактериологические исследования (изучение ферментативных и серологических свойств, определение чувствительности к антибиотикам, продукции гемолизина, шигаподобных токсинов, бета-лактамаз и карбапенемаз штаммов *E. coli* с последующим анализом и интерпретацией полученных данных, проведена молекулярно-генетическая детекция генов вирулентности и механизмов резистентности, обобщены, статистически обработаны и проанализированы результаты исследования, сформулированы научные положения, выводы, практические рекомендации, подготовлены основные публикации по результатам исследования, оформлен патент, созданы электронные базы данных, депонированы штаммы и нуклеотидные последовательности. Секвенирование штаммов по Сэнгеру проведено совместно с сотрудниками лаборатории молекулярной генетики г. Тарту Р. Naaber и А. Belozor. Полногеномное секвенирование – совместно с сотрудниками института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН и Новосибирского государственного университета к.м.н. М.Л. Филипенко, А.А. Кечиным, Д.С. Болдыревой.

На заседании 07 октября 2021 года диссертационный совет принял решение присудить Макаровой Марии Александровне ученую степень доктора медицинских наук по специальности 1.5.11. (03.02.03) – микробиология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 13 докторов наук по специальности 1.5.11. (03.02.03) – микробиология, участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 18, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель диссертационного совета,
доктор биологических наук, профессор



Алешкин Владимир Андрианович

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор



Борисова Ольга Юрьевна

08.10.2021

