

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 64.1.004.01 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 09 ноября 2023 г. № 11.

О присуждении Вязовой Анне Александровне, гражданке Российской Федерации, ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация «Генетическая структура популяции и множественная лекарственная устойчивость *Mycobacterium tuberculosis*» по специальности 1.5.11. – микробиология (биологические науки) принята к защите 03.08.2023 г. протокол № 1 диссертационным советом 64.1.004.01 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 02 ноября 2012 г., приказ № 1577 /нк от 16.12.2016 част. изм., 791/нк от 09.12.2020 г. част. изм., приказ № 1040/нк от 13.10.2021г. част. изм.

Соискатель Вязовая Анна Александровна, 1978 года рождения. В 2001 году окончила Санкт-Петербургский государственный аграрный университет по специальности «агрохимия и агропочвоведение». Диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук «Биологические свойства ризосферного штамма *Pseudomonas fluorescens* и его производных, маркированных геном β -глюкокоронидазы» по специальности 03.00.07 – микробиология защитила в 2007 году в специализированном совете Д 208.088.01, созданном на базе Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (диплом ДКН № 053583). С 2000 года работает в Федеральном бюджетном учреждении науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в лаборатории молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики, в настоящее время – в должности старшего научного сотрудника. Диссертация выполнена в лаборатории молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики 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.

Научные консультанты: Нарвская Ольга Викторовна – доктор медицинских наук (03.00.07. – микробиология), профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории

молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики 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.

Официальные оппоненты: Суворов Александр Николаевич - доктор медицинских наук (03.00.07 – микробиология), член-корреспондент РАН, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», отдел молекулярной микробиологии, заведующий; Севастьянова Элина Викторовна - доктор биологических наук (03.00.07 – микробиология), Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, отдел микробиологии, ведущий научный сотрудник; Макарова Марина Витальевна – доктор биологических наук (03.02.03 – микробиология), Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», отдел проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии, главный научный сотрудник – дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» (г. Москва) в своем положительном заключении, подписанном Свитич Оксаной Анатольевной, доктором медицинских наук, член-корреспондентом РАН, директором, указала, что диссертация является законченным научным трудом, в котором на основании выполненных автором обширных исследований осуществлено решение актуальной научно-практической проблемы в области изучения генетического разнообразия и пространственно-временной динамики структуры популяции *M. tuberculosis*, мутаций устойчивости к противотуберкулезным препаратам, ассоциированных с первичной множественной лекарственной устойчивостью у штаммов различных генотипов, что позволило разработать способы быстрого выявления эпидемиологически и клинически значимых вариантов и алгоритм молекулярно-генетического мониторинга возбудителя туберкулеза.

Соискатель имеет по теме диссертации 59 опубликованных работ, из них 34 работы в рецензируемых журналах, 12 тезисов – в рецензируемых изданиях, 9 тезисов – в сборниках трудов и материалах конференций, получено 4 патента на изобретения РФ, общий объем работ составляет 321 страницы с авторским вкладом 260 страниц.

Наиболее значимые работы: 1.Вязовая, А.А. Молекулярная характеристика мультирезистентных штаммов *Mycobacterium tuberculosis* на Северо-Западе России /А.А. Вязовая, И.В. Мокроусов, В.Ю. Журавлев, Н.С. Соловьева, Т.Ф. Оттен, О.А. Маничева, Б.И. Вишневский, О.В. Нарвская // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2016. – Т. 34, №1. – С. 30–33. 2.Vyazovaya, A. Increased transmissibility of Russian successful strain Beijing B0/W148 of *Mycobacterium tuberculosis*: Indirect clues from history and demographics / A. Vyazovaya, E. Proshina, A. Gerasimova, I. Avadenii, N. Solovieva, V. Zhuravlev, O. Narvskaya, I. Mokrousov // Tuberculosis (Edinb). – 2020. – Vol. 122: 101937. 3.Вязовая, А.А. Молекулярно-

генетический анализ популяции *Mycobacterium tuberculosis* в Вологодской области – регионе с низкой заболеваемостью туберкулезом / А.А. Вязовая, И.А. Лебедева, Н.Б. Ушакова, В.В. Павлов, А.А. Герасимова, Н.С. Соловьева, В.Ю. Журавлев, О.В. Нарвская // Инфекция и иммунитет. – 2021. – Т. 11, № 3. – С. 497–505. 4. Вязовая, А.А. Молекулярно-генетический мониторинг популяции *Mycobacterium tuberculosis* в Мурманской области / А.А. Вязовая, Н.Ю. Гаврилова, А.А. Герасимова, А.О. Бычкова, И. Авадений, Е.В. Аникиева, Н.С. Соловьева, В.Ю. Журавлев, И.В. Мокроусов, О.В. Нарвская // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2022. – Т. 40, № 2. – С. 21–27. 5. Vyazovaya, A. Genetic diversity and primary drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype strains in Northwestern Russia / A. Vyazovaya, A. Gerasimova, R. Mudarisova, D. Terentjeva; N. Solovieva, V. Zhuravlev, I. Mokrousov // Microorganisms. – 2023. – Vol. 11, No. 2. – P. 255.

На диссертацию и автореферат поступило положительных 8 отзывов без замечаний от: 1) д.м.н., профессора Морозовой Т.И., заведующей кафедрой фтизиатрии и д.м.н., доцента Салиной Т.Ю., профессора кафедры фтизиатрии ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России; 2) д.м.н. Шварца Я.Ш., заместителя директора по научной работе ФГБУ «Новосибирского научно-исследовательского института туберкулеза» Минздрава России; 3) д.м.н., профессора, член-корреспондента Марьяндышева А.О., заведующего кафедрой фтизиопульмонологии ФГБОУ «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России; 4) д.б.н. Михайловича В.М., старшего научного сотрудника лаборатории биологических микрочипов ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук; 5) д.м.н., профессора Савилова Е.Д., главного научного сотрудника лаборатории эпидемиологических и социально-значимых инфекций Института эпидемиологии и микробиологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; 6) д.м.н., профессора Рудакова Н.В., директора ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора; 7) д.м.н., профессора Скорнякова С.Н., главного внештатного специалиста фтизиатра Минздрава России по Уральскому федеральному округу, заведующего научно-исследовательским клиническим отделом Уральского НИИ фтизиопульмонологии, заведующего кафедрой фтизиатрии и пульмонологии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России; 8) д.м.н., профессора, академика РАН Малеева В.В., советника директора по научной работе ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора.

В отзывах отмечено, что в ходе исследования получены новые знания о пространственно-временной динамике генетической структуры популяции *M. tuberculosis* на территории Северо-Запада России в условиях широкого распространения туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя.

В трех отзывах представлены вопросы, которые не носят принципиального характера, не снижают научной ценности и практической значимости выполненной работы.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации был обоснован тематикой научных исследований, компетентностью выбранных специалистов в вопросах изучения

биологических свойств *M. tuberculosis*, использования молекулярно-генетических методов для характеристики микроорганизмов, лекарственной устойчивости микобактерий.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований в области молекулярно-генетического мониторинга микробных популяций разработана новая научная концепция о закономерностях и направлениях эволюции *M. tuberculosis* в условиях широкого распространения туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя. Предложены оригинальные подходы к оценке эпидемиологической значимости генотипов, кластеров возбудителя, ассоциированных с множественной лекарственной устойчивостью *M. tuberculosis*. Доказана ассоциация принадлежности кластеров 100-32 B0/W148, 1065-32 Central Asian/Russian, 1071-32 древней сублинии Beijing и генотипа SIT262/Ural *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя, обусловленной различными спектрами мутаций. Введены новые представления о неравномерности распределения генотипов и кластеров в гетерогенных популяциях *M. tuberculosis* на территориях Северо-Запада России; о спектре мутаций устойчивости к основным - изониазиду и рифампицину - и новому противотуберкулезному препарату - бемаквину у различных генотипов и кластеров возбудителя.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказана эпидемиологическая значимость определенных генотипов *M. tuberculosis*, ассоциированных с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя. Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс бактериологических, молекулярно-генетических и статистических методов исследования. Изложены факты, доказывающие неравномерность распределения генотипов в гетерогенных популяциях *M. tuberculosis* на территориях Северо-Запада России. Получены новые данные о спектре геномных мутаций устойчивости к бемаквину, расширяющие теоретические представления о пуле генов резистентности *M. tuberculosis*. Раскрыта тенденция к увеличению доли эволюционно «успешного» генотипа Beijing в структуре территориальных популяций *M. tuberculosis*; доказана эпидемиологическая значимость штаммов с множественной лекарственной устойчивостью кластера 100-32 B0/W148 Beijing на территориях с высокими показателями заболеваемости туберкулезом. Изучены и установлены связи между первичной множественной лекарственной устойчивостью, ассоциированной с определенным спектром мутаций, и принадлежностью штаммов *M. tuberculosis* к различным генотипам. Проведена модернизация методического подхода к проведению мониторинга популяции *M. tuberculosis* на основе комплекса молекулярно-генетических методов с использованием мультиплексной ПЦР.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработаны и внедрены в виде четырех патентов на изобретение РФ способы быстрого выявления актуальных эпидемиологически и клинически значимых генотипов генетического семейства Beijing *M. tuberculosis*: «Способ детекции изолятов *Mycobacterium tuberculosis* Beijing 94-32-кластера в формате реального времени» (№ 2689800), «Способ выявления микобактерий туберкулеза Центрально-Азиатского эпидемического кластера генотипа Beijing» (№ 2735415), «Способ детекции филогенетических сублиний генотипа Beijing *Mycobacterium tuberculosis* в формате реального времени» (№ 2743365),

«Способ детекции генотипа *Mycobacterium tuberculosis* Beijing 1071-32-кластер в формате реального времени» (№ 2768021). Определен алгоритм генотипирования штаммов *M. tuberculosis* при проведении молекулярно-эпидемиологического мониторинга микробных популяций, который внедрен в практическую деятельность бактериологической лаборатории ФГБУ «Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии» Минздрава России (акт внедрения от 01.12.2022 г.). Созданы две электронные базы данных («Сполигопрофили *Mycobacterium tuberculosis* на Северо-Западе России», ФИПС № 2014620898 и «Сполигопрофили штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих в Республике Коми», ФИПС № 2019622064), включающие уникальные характеристики штаммов (сполиготип, принадлежность к генетическому семейству, профиль фенотипической устойчивости к противотуберкулезным препаратам). В международную базу сполиготипов SITVIT2 представлены и депонированы 408 профилей сполиготипирования штаммов *M. tuberculosis*. В международном банке данных GenBank депонированы полногеномные последовательности 43 серийных изолятов *M. tuberculosis* 11 больных МЛУ-ТБ, леченных бедаквилином: (PRJNA525341, PRJNA635788). Материалы диссертации внедрены в образовательный процесс Учебного отдела ФГБУ «Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии» Минздрава России – в программы повышения квалификации врачей (акт внедрения от 01.12.2022 г.), в курс лекций на кафедрах эпидемиологии, общественного здоровья и здравоохранения ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России (акт внедрения от 15.12.2022 г.), на кафедре фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Архангельск (акт внедрения от 12.12.2022 г.), в образовательный процесс на кафедре поликлинической терапии и профилактической медицины с курсом общественного здоровья и здравоохранения ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова» и в работу микробиологической лаборатории ГБУЗ «Республиканский клинический противотуберкулезный диспансер имени Галины Доржиевны Дугаровой», г. Улан-Удэ (акт внедрения от 14.12.2022 г.).

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что объем изученных штаммов *M. tuberculosis* является достаточным для экспериментальных работ: в ходе выполнения диссертационной работы изучена лекарственная чувствительность и молекулярно-генетические характеристики 787 штаммов *M. tuberculosis*, выделенных от впервые выявленных больных туберкулезом легких в восьми регионах СЗФО и 43 серийных изолятов, полученных от больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя, проходивших лечение бедаквилином. Методы статистической обработки подобраны адекватно, исследования проведены на высоком научно-методическом уровне с использованием сертифицированного оборудования.

Теория исследования построена на известных, проверяемых данных, согласуется с опубликованными экспериментальными данными, посвященными изучению структуры популяции микобактерий туберкулеза, определению мутаций, ассоциированных с лекарственной устойчивостью возбудителя к противотуберкулезным препаратам и разработке молекулярно-генетических методов. Идея базируется на анализе теории и практики, обобщении экспериментальных данных и передового опыта в 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 существенно дополняют их. Используются классические и современные методы исследования: микробиологические, молекулярно-генетические, биоинформационные и статистические.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в выполнении диссертационной работы на всех её этапах, включая анализ научной литературы, обоснование актуальности темы, формулирование цели и задач, разработку дизайна исследования; автор самостоятельно разработала алгоритм и осуществляла генотипирование, систематизацию, статистическую обработку и анализ полученных данных. Разработка способов определения основных генотипов *Beijing M. tuberculosis* и оформление заявок на патенты выполнены совместно с научными сотрудниками ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера д.б.н. И.В. Мокроусовым и ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России к.б.н. Е.А. Шитиковым. MIRU-VNTR-типирование с электрофоретической детекцией, выполнено в лаборатории молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (Санкт-Петербург) совместно с научными сотрудниками А.А. Герасимовой, Д.Р. Терентьевой и Р.С. Мударисовой. Микробиологические исследования и определение генотипической лекарственной устойчивости выполнены совместно с научными сотрудниками ФГБУ «НИИ фтизиопульмонологии» Минздрава России к.м.н. Н.С. Соловьевой и к.м.н. В.Ю. Журавлевым. Полногеномное секвенирование серийных изолятов *M. tuberculosis* проведено совместно с сотрудниками ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера д.б.н. А.В. Семеновым, к.б.н. Ю.В. Останковой и к.б.н. Д.Е. Полевым.

На заседании 09 ноября 2023 года диссертационный совет принял решение присудить Вязовой Анне Александровне ученую степень доктора биологических наук по специальности 1.5.11. – микробиология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 12 докторов наук по специальности 1.5.11. – микробиология, участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 16, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель диссертационного совета,
доктор биологических наук, профессор

Алёшкин Владимир Андрианович

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор
10.11.2023г.

Борисова Ольга Юрьевна

