

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 10 июня 2021 г. № 4.

О присуждении Борисовой Анастасии Борисовне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата медицинских наук.

**Диссертация** «Молекулярно-генетическая диагностика и клинические особенности заболеваний, вызываемых представителями рода *Bordetella*» по специальностям 03.02.03 – микробиология, 14.01.09 – инфекционные болезни принята к защите 08.04.2021г. протокол № 1 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 част. изм.

**Соискатель** Борисова Анастасия Борисовна, 1993 года рождения. В 2017 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, педиатрический факультет по специальности «Педиатрия». С 2017 по 2019 год проходила обучение в ординатуре по специальности «Педиатрия» в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. С целью повышения профессионального уровня прошла краткосрочное повышение квалификации «Микробиологическая диагностика дифтерии и коклюша» (2018 г.), повышение квалификации по специальности «Клиническая лабораторная диагностика» (2019 г.), повышение квалификации по специальности «Бактериология» (2020 г.). Прикреплена к Федеральному бюджетному учреждению науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека для подготовки диссертации на соискание ученой степени кандидата наук по специальностям 03.02.03 – микробиология, 14.01.09 – инфекционные болезни без освоения программ подготовки научно-педагогических кадров (Приказ № 107/1 от 28.12.2018 г.).

С 2018 г. по настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника клинического отдела 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.

Диссертация выполнена в клиническом отделе 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.

**Научные руководители:** **Афанасьев Станислав Степанович** - доктор медицинских наук (03.00.07 - микробиология), профессор, Федеральное бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, лаборатория клинической микробиологии и биотехнологии, главный научный сотрудник; **Петрова Марина Семеновна** - кандидат медицинских наук (14.00.09 – педиатрия), Федеральное бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, клинический отдел, ведущий научный сотрудник.

**Официальные оппоненты:** **Кафтырева Лидия Алексеевна** - доктор медицинских наук (03.00.07 – микробиология), 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 кишечных инфекций, заведующая; **Усенко Денис Валериевич** - доктор медицинских наук (14.01.09 – инфекционные болезни), Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, клинический отдел инфекционной патологии, ведущий научный сотрудник – дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Курский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Курск) в своем положительном заключении, подписанным д.б.н., доцентом Медведевой Ольгой Анатольевной, кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии, и/о заведующей кафедры, и к.м.н., доцентом Киселевой Викторией Валентиновной, кафедра инфекционных болезней и эпидемиологии, заведующей кафедрой, указала, что диссертация является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научно-практической задачи совершенствования генодиагностики коклюша и заболеваний, обусловленных другими бордетеллами, в том числе с выделением *B.holmesii*, и характеристике особенностей клинического течения заболевания, вызванного *B.holmesii*, по сравнению с коклюшем, вызванным *B.pertussis*.

**Соискатель имеет 7 работ**, опубликованных по теме диссертации, из них 5 работ опубликованы в рецензируемых научных изданиях, 1 патент РФ на изобретение, 1 заявка на изобретение, 2 публикации в материалах конференций, общим объемом 81 страница и авторским вкладом – 68 страниц. Наиболее значимые работы:

1) Петрова, М.С. Особенности течения коклюшеподобного заболевания, вызванного *Bordetella holmesii* / М.С. Петрова, А.Б. Борисова, В.А. Алешкин, С.С. Афанасьев, О.В. Шамшева, Ю.Н. Урбан, О.Ю. Борисова, А.С. Пименова, А.В.Алешкин, М.С. Афанасьев, Е.В. Власов, С.В.

Бунин // Вопросы практической педиатрии. – 2018. – Т. 13, № 6. – С. 50-57. 2) Гадуа, Н.Т. Выявление *Bordetella holmesii* среди больных, госпитализированных в стационар с подозрением на коклюш или коклюшеподобные заболевания / Н.Т. Гадуа, А.Б. Борисова, А.С. Пименова, О.Ю. Борисова, М.С. Петрова, О.В. Шамшева, С.С. Афанасьев, Л.И. Кафарская, Е.В. Власов, М.С. Афанасьев, А.В. Алешкин, С.В. Бунин, В.А. Алешкин // Журнал Инфектологии. – 2019. – Т. 11, № 2. – С. 45-52. 3) Борисова, А.Б. Разработка методики генодиагностики коклюша и коклюшеподобных заболеваний на основе ПЦР в реальном времени в мультиплексном формате / А.Б. Борисова, Ю.Н. Урбан, Н.Т. Гадуа, О.Ю. Борисова, А.С. Пименова, М.С. Афанасьев, М.С. Петрова, С.С. Афанасьев, С.В. Сметанина // Клиническая лабораторная диагностика. – 2020. – Т. 65, № 9. – С. 567–573. 4) Петрова, М.С. Особенности клиники и диагностики коклюша у взрослых / М.С. Петрова, А.Б. Борисова, Т.А. Скирда, С.В. Сметанина, М.В. Базарова, О.Ю. Борисова, М.С. Афанасьев, А.В. Алешкин, С.С. Афанасьев, В.А. Алешкин // Инфекционные болезни. – 2020. – Т. 18, № 3. – С. 104-110. 5) Пименова, А.С. Применение метода ПЦР для видовой идентификации возбудителя коклюша в Российской Федерации / А.С. Пименова, А.Б. Борисова, Н.Т. Гадуа, О.Ю. Борисова, С.С. Афанасьев, М.С. Петрова, М.С. Афанасьев, А.Ю. Миронов, В.А. Алёшкин // Клиническая лабораторная диагностика. – 2021. – Т. 66, № 1. – С. 52-58.

**На диссертацию и автореферат поступило 7 положительных отзывов без замечаний от:** 1) д.м.н., доцента Малышева В.В., профессора кафедры микробиологии ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ; 2) д.м.н. Алексеевой И.А., главного эксперта лаборатории анатоксинов и антитоксических препаратов ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» МЗ РФ; 3) д.б.н. Каратаева Г.И., руководителя лаборатории генетики бактерий, ведущего научного сотрудника ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ; 4) д.м.н. Кистеневой Л.Б., заведующей лабораторией хронических вирусных инфекций ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ; 5) д.м.н. Краевой Л.А., заведующей лабораторией медицинской бактериологии ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора; 6) к.м.н. Кулагиной М.Г., доцента кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБВОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» МЗ РФ; 7) д.б.н., доцента Заславской М.И., профессора кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины ФГБВОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» МЗ РФ. В отзывах отмечено, что в ходе диссертационного исследования разработан новый способ генодиагностики на основе мультиплексной ПЦР в реальном времени, позволяющий выявлять ДНК *B.pertussis*, *B.parapertussis* и *B.holmesii*; зарегистрирована циркуляция *B.holmesii*, как возбудителя коклюшеподобного заболевания, на территории РФ; выявлены дифференциально-диагностические критерии заболевания, вызванного *B.holmesii*, по сравнению с коклюшем, вызванным *B.pertussis*.

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

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований

впервые разработана методика генодиагностики на основе мультиплексной ПЦР в реальном времени, которая позволяет выявлять и дифференцировать ДНК *B.pertussis*, ДНК *B.parapertussis* и ДНК *B.holmesii* в биологическом материале. Предложены клинические критерии диагностики заболевания, вызванного *B.holmesii*, в сравнении с коклюшем, вызванным *B.pertussis*, и обоснована необходимость использования генодиагностики при обследовании больных с подозрением на коклюш для расширения возможности идентификации представителей рода *Bordetella*, являющиеся актуальными на сегодняшний день возбудителями. Доказана высокая эффективность выявления ДНК *B.pertussis*, ДНК *B.parapertussis* и ДНК *B.holmesii* в биологическом материале (аналитическая чувствительность составила  $5 \times 10^1$  ГЭ / мл, диагностическая чувствительность составила 98,8%, диагностическая специфичность – 99,2% и индекс точности – 99,0%). Впервые введены дифференциально-диагностические критерии заболевания, вызванного *B.holmesii*, в сравнении с коклюшем, вызванным *B.pertussis*.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что впервые на территории РФ доказана циркуляция *B.holmesii*, как возбудителя коклюшеподобного заболевания, что подтверждает повсеместную циркуляцию этого микроорганизма в мире и вносит вклад в расширение представлений о возможных возбудителях коклюша и коклюшеподобных заболеваний. Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс микробиологических и молекулярно-генетических методов исследования, которые позволили наработать доказательную базу для проведения адекватной оценки возможностей применения разработанной методики. Изложены этапы разработки методики генодиагностики на основе мультиплексной ПЦР в реальном времени и алгоритмы интерпретации полученных результатов для выявления наличия моно- и ко-инфекции. Раскрыты возможности применения разработанной методики генодиагностики коклюша и коклюшеподобных заболеваний для выявления *B.holmesii* у лиц с подозрением на коклюш, который может встречаться в виде моно- и ко-инфекции с *B.pertussis* и *B.parapertussis*. Впервые изучены и описаны особенности клинической картины заболевания, вызванного *B.holmesii*, которое носит коклюшеподобный характер и основной формой является типичная легкая форма ( $90,0 \pm 6,7$  %), среднетяжелые зарегистрированы только в случаях сочетанного течения с коклюшем. При среднетяжелых формах заболевания была зарегистрирована ко-инфекция *B.holmesii* + *B.pertussis*, что приводило к утяжелению клинической картины. Проведена модернизация генодиагностики коклюша и заболеваний, обусловленных другими бордетеллами, на основе ПЦР в режиме реального времени в мультиплексном формате с целью повышения эффективности выявления ДНК возбудителей этих инфекций, что повысит качество оказания медицинской помощи больным с подозрением на коклюш.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработанная методика генодиагностики коклюша и заболеваний, обусловленных другими бордетеллами, внедрена в работу Референс-центра по мониторингу за возбудителями кори, краснухи, эпидемического паротита, коклюша и дифтерии при проведении микробиологического и молекулярно-генетического мониторинга штаммов возбудителя коклюша, циркулирующих на территории России; использованы в лекционном курсе при проведении региональных семинаров по бактериологической диагностике дифтерии и коклюша (Ханты-Мансийск, 2019 г.; Владивосток, 2019 г.) (акт внедрения от 01.12.2020 г.); использованы в учебно-образовательном процессе кафедры микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии

ФГБОУ ВО «Тверской государственной медицинский университет» МЗ РФ (акт внедрения от 19.11.2020 г.). Определены перспективы применения разработанной методики, которые расширят возможности диагностики с целью повышения эффективности лабораторного подтверждения диагноза у больных с подозрением на коклюш, в том числе при легких и атипичных формах клинического течения, контактных лиц в очагах инфекции, а также у длительно кашляющих для раннего выявления больных и установления причин длительного кашля у разных возрастных групп населения. Создана комбинация ДНК-мишеней (фрагменты трех инсерционных элементов - IS481, hIS1001, IS1001 и фрагмент гена *ptxA*, кодирующего S1 субъединицу коклюшного токсина), позволяющая выявлять и дифференцировать ДНК *B.pertussis*, ДНК *B.parapertussis* и ДНК *B.holmesii*. Представлены методические указания «Лабораторная диагностика коклюша и заболеваний, обусловленных другими бордетеллами»; результаты исследований по оценке эффективности ПЦР-диагностики на территории РФ послужили основой аналитической справки «Состояние лабораторной диагностики коклюшной инфекции в России в 2013 - 2017 гг.» и были представлены на Проблемной комиссии Ученого Совета Роспотребнадзора «Профилактика инфекций, управляемых средствами вакцинопрофилактики» (26.12.2019 г.).

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что для экспериментальных работ объем выборки изученных штаммов микроорганизмов является достаточным, методы статистической обработки подобраны адекватно, эксперименты проведены на высоком научно-методическом уровне с применением современных методов и сертифицированного оборудования, показана воспроизводимость результатов исследования в различных условиях. Диссертантом изучено 895 образцов биологического материала, проведено 160 бактериологических и 2370 молекулярно-генетических исследований. Теория исследования построена на известных данных и согласуется с опубликованными экспериментальными данными, посвященными изучению микроорганизмов рода *Bordetella*. Идея базируется на отечественных и мировых данных в области изучения свойств микроорганизмов рода *Bordetella*, в том числе *B.holmesii*. Использовано сравнение авторских данных и данных, полученных ранее по проблеме идентификации *B.holmesii* с помощью молекулярно-генетических методов исследования, выявления особенностей клинической картины заболевания, вызванного *B.holmesii* по сравнению с коклюшем, вызванным *B.pertussis*, и перспектив их практического применения. Установлено, что большинство результатов исследования согласуется с результатами других авторов, представленными в независимых источниках. Используются классические и современные методы исследования, методы описательной статистики, специализированные компьютерные программы и международные базы данных.

Личный вклад соискателя состоит в составлении плана исследования, проведении аналитического обзора литературы, выполнении микробиологических, молекулярно-генетических и клинических исследований. Самостоятельно проведен анализ полученных данных, их статистическая обработка и обобщение результатов. Подбор специфичных олигонуклеотидных праймеров для ПЦР-РВ в формате мультиплекс проведен совместно с с.н.с. лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, к.б.н. Ю.Н. Урбан; конструирование праймеров для идентификации *B.holmesii* проведены совместно с.н.с. лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, к.м.н. А.В. Чаплиным; апробация

разработанной методики с помощью бактериологических и молекулярно-генетических исследований проведена совместно с сотрудниками лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора с.н.с, к.м.н. Н.Т. Гадуа и с.н.с, к.м.н. А.С. Пименовой.

На заседании 10 июня 2021 года диссертационный совет принял решение присудить Борисовой Анастасии Борисовне ученую степень кандидата медицинских наук по специальностям 03.02.03 – микробиология, 14.01.09 – инфекционные болезни.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человек, из них 12 докторов наук по специальности 03.02.03 – микробиология, участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета и введенных на разовую защиту 3 докторов наук по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни, проголосовали: за – 20, против – 1, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета,  
доктор биологических наук



Комбарова Светлана Юрьевна

Ученый секретарь диссертационного совета,  
доктор медицинских наук, профессор  
11.06.2021

Борисова Ольга Юрьевна