

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФКУЗ Волгоградский  
научно-исследовательский  
противочумный институт  
Роспотребнадзора,

доктор медицинских наук, доцент

 А. В. Топорков

"  2021 г.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Расширенного межучрежденческого заседания специалистов  
Федерального казенного учреждения здравоохранения Волгоградский  
научно-исследовательский противочумный институт Федеральной службы  
по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,  
Федерального казенного учреждения здравоохранения Российский научно-  
исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной  
службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия  
человека, Научно-технологической организации международного  
сотрудничества Российско-Вьетнамский Тропический научно-  
исследовательский и технологический центр Министерства науки и высшего  
образования Российской Федерации и Министерства обороны  
Социалистической Республики Вьетнам.

Диссертация «Характеристика штаммов *Burkholderia pseudomallei* и  
близкородственных буркхольдерий, выделенных на территории  
Социалистической Республики Вьетнам, и совершенствование алгоритмов их  
идентификации», представленная на соискание ученой степени кандидата  
биологических наук по специальности 1.5.11 – Микробиология, выполнена в  
лаборатории патогенных буркхольдерий Федерального казенного  
учреждения здравоохранения «Волгоградский научно-исследовательский  
противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты  
прав потребителей и благополучия человека и институте медико-  
биологических проблем Научно-технологической организации  
международного сотрудничества Российско-Вьетнамский Тропический  
научно-исследовательский и технологический центр Министерства науки и

высшего образования Российской Федерации и Министерства обороны Социалистической Республики Вьетнам.

В период подготовки диссертации Буй Тхи Лан Ань являлась соискателем, прикрепленным к лаборатории патогенных буркхольдерий Федерального казенного учреждения здравоохранения «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, и работала в должности научного сотрудника института медико-биологических проблем Научно-технологической организации международного сотрудничества Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр Министерства науки и высшего образования Российской Федерации и Министерства обороны Социалистической Республики Вьетнам.

В 2008 г. Буй Т. Л. А. окончила магистратуру Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Московская государственная академия тонкой химической технологии имени М. В. Ломоносова» по направлению «химическая технология и биотехнология».

Удостоверение № 40/19 о сдаче кандидатских экзаменов по дисциплинам иностранный язык (англ.), история и философия науки и микробиология выдано в 2019 г. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Тема кандидатской диссертации соискателя была утверждена в 2017 г. на ученом совете ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (протокол № 6 от 17.11.2017 г.).

Научный руководитель – Захарова Ирина Борисовна, кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории патогенных буркхольдерий ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

### **Актуальность темы и направленность исследования**

Актуальность направления исследований, выполненных соискателем, не вызывает сомнений, поскольку возбудитель мелиоидоза не только является причиной инфекции человека и животных с высокой летальностью, но и может быть использован в качестве агента биотерроризма. При этом *B. pseudomallei* в большинстве общепринятых диагностических тестов проявляют свойства, аналогичные многим менее патогенным представителям рода *Burkholderia*, что создает определенные сложности при идентификации данного патогена.

В последнее десятилетие проблеме мелиоидоза во Вьетнаме уделяется значительное внимание, что позволило достичь заметного улучшения качества диагностики этой инфекции. При этом данные о генетических особенностях и фенотипических свойствах штаммов региональной популяции *B. pseudomallei* остаются фрагментарными. В связи с чем диссертационная работа Буй Т.Л.А., посвященная комплексному изучению диагностически значимых генетических и фенотипических особенностей вьетнамских природных и клинических штаммов *B. pseudomallei*, является обоснованной и актуальной для более полного понимания спектра генетического и фенотипического разнообразия в региональной популяции *B. pseudomallei* важного для повышения эффективности лабораторной диагностики инфекции.

### **Связь исследования с планом научных работ института**

Диссертация выполнена в рамках совместной российско-вьетнамской НИР № государственной регистрации АААА-А18-118032790070-8, выполненной в рамках реализации распоряжения Правительства РФ от 19.08.2017 г. № 1789-р по оказанию научно-методической и материально-технической поддержки Социалистической Республике Вьетнам.

## **Личное участие автора в получении научных результатов, изложенных в диссертации**

Автором совместно с научным руководителем к.б.н., доцентом Захаровой И. Б. разработаны структура и алгоритм выполнения диссертационной работы. Непосредственно автором был проведен анализ литературы по проблеме исследования. Вклад автора в получение и обработку экспериментальных данных является основным. Вкладом автора в выполнение раздела 3.7 было выделение и идентификация почвенных изолятов *Burkholderia* spp. для тестирования диагностикума. Сбор полевого материала, секвенирование нуклеотидных последовательностей проводили совместно с сотрудниками ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Выделение и презумптивная идентификация клинических штаммов *Burkholderia* spp. проводилась сотрудниками клинических лабораторий в провинциях Вьетнама, окончательная идентификация – непосредственно автором.

### **Степень достоверности результатов проведённых исследований**

Научные положения и выводы диссертационной работы Буй Т.Л.А. теоретически обоснованы и базируются на полученных в ходе работы данных. Достоверность полученных результатов обеспечена анализом достаточного объема фактического материала, полученного с использованием современных научных методов и не вызывает сомнений. Выводы вытекают из существа проделанной экспериментальной работы и соответствуют поставленным целям и задачам.

### **Научная новизна**

Впервые показан широкий диапазон морфологической variability вьетнамских штаммов *B. pseudomallei*: обнаружены морфотипы, не представленные среди основных морфотипов штаммов северо-восточного Таиланда. Впервые у возбудителя мелиоидоза установлено отсутствие единого для популяции доминантного морфотипа. В результате проведенных

исследований во Вьетнаме впервые обнаружены редко встречающиеся штаммы *B. pseudomallei* полностью (диаметр зоны задержки роста ( $d_{зр}$ ) 28-30 мм) или частично ( $d_{зр}$  13-14 мм) утратившие диагностически значимый признак резистентности к гентамицину. Впервые показан потенциал теста на утилизацию малоната, входящего в панель тестов для автоматизированного анализа, для дифференциации *B. pseudomallei* и *B. thailandensis*. Установлена генетическая гетерогенность вьетнамской популяции возбудителя мелиоидоза как между двумя макрорегионами страны, так и внутри каждого из них. Впервые показано, что клональные комплексы, включающие исследованные в настоящей работе штаммы, содержат сиквенс-типы (ST) штаммов всех известных эндемичных по мелиоидозу регионов мира, причем в трех из них ST штаммов из Вьетнама являются комплексообразующими. Выявлено 18 известных сиквенс-типов (ST 16, ST 41, ST 46, ST 70, ST 85, ST201, ST 351, ST 389, ST 500, ST 507, ST 541, ST549, ST 654, ST 858, ST 948, ST 1051, ST 1566, ST 1567) и 6 новых ST, до настоящего времени нигде более не обнаруженных. Впервые во Вьетнаме разработаны собственные генодиагностические средства для выявления и идентификации возбудителя мелиоидоза (аналитическая чувствительность  $10^4$  и  $10^3$  м.к./мл, при 100%-ой специфичности для чистых культур).

### **Теоретическая и практическая значимость**

Автором получены экспериментальные данные, подтверждающие гипотезу, что субрегион Меконга (Таиланд, Лаос, Камбоджа и Вьетнам) исторически являлся горячей точкой эволюции *B. pseudomallei* в Юго-Восточной Азии, а также свидетельства эволюционных событий, продолжающихся в популяции вьетнамских штаммов *B. pseudomallei* и в настоящее время («молодые» ST).

Созданный набор клинических и почвенных штаммов возбудителя мелиоидоза был использован в деятельности Референс-центра по мониторингу за возбудителем мелиоидоза ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора для

тестирования разработанных экспериментальных серий диагностикума для выявления возбудителей мелиоидоза и сапа в реакции латекс-агглютинации и генодиагностического препарата «Амплиген*Burk-mallei/pseudomallei*-PB» (Справка о внедрении прилагается).

Секвенированы, аннотированы и депонированы в GenBank NCBI шотган полногеномные сиквенсы 7 клинических и 6 почвенных штаммов *B. pseudomallei* (QLVC00000000, WOWY00000000, WSPI00000000, WSRT00000000, WSRU00000000, WSRV00000000, WTLF00000000 и QLUX00000000, QLUY00000000, QLVA00000000, QLVB00000000, WUMQ00000000, WUMR00000000) и штамма *B. cepacia* PT02 (QLUZ00000000). В международной базе данных PubMLST размещены аллельные профили 16 штаммов *B. pseudomallei* (id:5262, id:5265, id:5266, id:5267, id:5268, id:5269, id:5270, id:5271, id:5272, id:5273, id:5274, id:5275, id:5260, id:5261, id:5263, id:5264) и одного – *B. cepacia* (id:2680) (международный уровень внедрения). Материалы диссертации были использованы при подготовке практического руководства Лабораторный скрининг и идентификация *Burkholderia pseudomallei*. Под редакцией А. В. Топоркова, А. Н. Кузнецова, Х. Зы Нгуен. – Волгоград: Волга-Пресс, 2018. – 96 с., изданного на русском и вьетнамском языках.

**Полнота изложения материалов диссертации в работах,  
опубликованных соискателем**

Основные результаты исследований изложены в 16 опубликованных работах, в том числе 1 – в рецензируемых периодических изданиях, входящих в перечень ВАК, 1 – в зарубежном журнале, индексируемом WOSCC и SCOPUS, 1 практическом руководстве, 1 коллективной монографии, 2 – в других зарубежных журналах и 10 тезисов в материалах международных и Всероссийских научных конференций.

**Статьи в реферируемых научных журналах**

1. **Bui, L.A.T.** The Complexity of the identification of *Burkholderia cepacia* strain which caused septicemia / **L.A.T. Bui, I. Zakharova, I. Shpak, N.**

Tetryatnikova, D. Ustinov, Y. Kuzyutina, H.N. Nguyen, D. Viktorov // Jundishapur Journal of Microbiology. – 2018. – Vol. 11, N 11. – P. e82834. – DOI: 10.5812/jjm.82834. (**WoSCC, WoS и SCOPUS**)

2. Фролов, Д.М. Разработка теста латекс-агглютинации для выявления патогенных буркхольдерий и его апробация в эндемичных регионах Вьетнама /Д.М Фролов, Н.Н. Тетерятникова, **T.L.A. Bui**, И.Б. Захарова, Н.П. Храпова // Проблемы особо опасных инфекций. – 2020. – №4. – С.133-138. (**SCOPUS**)

#### **Монографии и практические руководства**

3. Захарова, И.Б. Лабораторный скрининг и идентификация *Burkholderia pseudomallei*: практическое руководство / И.Б. Захарова, И.М. Шпак, Н.Н. Тетерятникова, Ю.А. Кузютина, Г.А. Ткаченко, Л.В. Лемасова, Д.В. Викторов, **Т.Л. Ань Буй**, В. Кыонг Во, К. Шау Чинь; под ред. А.В. Топркова, А.Н. Кузнецова, Х. Зы Нгуен. – Волгоград: Волга-Пресс, 2018. – 96 с.

4. Захарова, И.Б. Мелиоидоз во Вьетнаме. Актуальные вопросы мониторинга *Burkholderia pseudomallei*/ И.Б. Захарова, **T.L.A. Bui**, И.М. Шпак, Н.Н. Тетерятникова, Ю.А. Кузютина и др.// В кн.: Актуальные направления и перспективы Российско-Вьетнамского сотрудничества в сфере обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия. Ред: Попова А.Ю., Топорков А.В. Волгоград: ООО «Издательство «Волга-Пресс», 2019. – С. 70–94. ISBN978-5-9908533-6-2

#### **Статьи в других научных изданиях**

5. **Bùi, T. L. A.** Evaluation of PCR and LAMP techniques for detection of *Burkholderia pseudomallei*/ **T. L. A. Bùi**, T. H. G. Phạm, T. L. A. Lê, V. C. Võ, Phạm V. H., A. T. Quế, I. Zakharova, D. Viktorov// Vietnam Journal of Preventive Medicine. – 2020. – V.30, 3. – P.55-60

6. Zakharova, I. Can Frozen *Burkholderia pseudomallei* Come Back to Life? / I. Zakharova, P. Chirskov, Ya. Lopasteyskaya, **T.L.A. Bui**, A. Toporkov, D. Viktorov// *EC Microbiology*. 2021– V.17, N4. – p. 58-63.

### Тезисы научных конференций

7. Zakharova, I. *Burkholderia pseudomallei* survives after freezing/ I. Zakharova, Ya. Lopasteyskaya, P. Chirskov, **L. A. T. Bui**, A. Toporkov, D. Viktorov// The 9th World Melioidosis Congress (WMC), Hanoi, Vietnam. Abstract book. – 2019. – P. 130

8. Zakharova, I. Genetic and morphological diversity of *Burkholderia pseudomallei* in northern Central Vietnam/ I. Zakharova, **L. A. T. Bui**, I. Shpak, N. Teteryatnikova et al. // The 9th World Melioidosis Congress (WMC), Hanoi, Vietnam. Abstract book. – 2019. – P. 187.

9. Vasilyeva, K. The variability of a gene composition of capsular polysaccharide biosynthesis cluster in *Burkholderia thailandensis*/ K. Vasilyeva, N. Teteryatnikova, Yu. Kuzyutina, **L. A. T. Bui**, et al. // The 9th World Melioidosis Congress (WMC), Hanoi, Vietnam. Abstract book. – 2019. – P. 186

10. Лопастейская, Я.А. Влияние биохимической вариабельности у изогенных морфотипов колоний *B. pseudomallei* на достоверность биохимической идентификации / Я.А. Лопастейская, **Т.Л.А. Буй**, И.Б. Захарова, Д.В. Викторов // Актуальные проблемы болезней, общих для человека и животных: Материалы III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (24-25 апреля 2019 г., Ставрополь).- 2019. - С. 175-176.

11. **Буй, Т.Л.А.** Идентификация штамма *Burkholderia* spp., выделенного от больной с предварительным диагнозом «melioidosis» / **Т.Л.А. Буй**, И.Б. Захарова, И.М. Шпак, Н.Н. Тетерятникова, Д.В. Устинов, Ю.А. Кузютина, Н.Х. Нгуен, Д.В. Викторов // Материалы XIV Межгосударственной научно-практической конференции «Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия в государствах-участниках СНГ», г. Саратов. – 2018. – С. 65-68.

12. **Буй, Т.Л.А.** Особенности биохимической идентификации клинических штаммов *Burkholderia pseudomallei*, выделенных во Вьетнаме /



**Т.Л.А. Буй**, Я.А. Лопастейская, Т.Н. Нго, Ю.А. Кузютина, И.Б. Захарова// Инфекция и иммунитет. –2017. – №5. – С. 907.

13. Тетерятникова, Н.Н. Идентификация штаммов *Burkholderia* spp., выделенных в провинциях центрального Вьетнама, методом мультиплексной ПЦР / Н.Н. Тетерятникова, **Т.Л.А. Буй**, И.Б. Захарова, Т.Н. Нго, Ю.А. Кузютина, Д.В. Викторов// Инфекция и иммунитет. –2017. – №5. – С. 907.

14. Антонов, А.С. Мультилокусное сиквенс-типирование изолятов *Burkholderia pseudomallei*, выделенных на территории Вьетнама / А.С. Антонов, Д.В. Устинов, **Т.Л.А. Bui**, Н.Н. Тетерятникова, Т.Н. Ngo, И.М. Шпак, И.Б. Захарова // Материалы IX Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены», г. Иркутск. – 2017. – С. 18-19.

15. Тетерятникова, Н.Н. Оценка эффективности метода детекции и дифференциации четырех видов *Burkholderia* spp., основанного на определении набора генов  $\beta$ -лактамаз молекулярных классов В и D в формате мультиплексной ПЦР / Н.Н. Тетерятникова, И.Б. Захарова, **Т.Л.А. Bui**, Т.Н. Ngo, Н.Г. Плеханова, Д.В. Викторов // Материалы II Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы болезней, общих для человека и животных», г. Ставрополь. – 2017. – С. 279-281.

16. Устинов, Д.В. Высокопроизводительное секвенирование штамма *Burkholderia thailandensis*, выделенного на территории Вьетнама в 2016 году / Д.В. Устинов, А.С. Антонов, **Т.Л.А. Bui**, Н.Н. Тетерятникова, Т.Н. Ngo, И.М. Шпак, И.Б. Захарова // Материалы IX Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены», г. Иркутск. – 2017. – С. 144.

**Соответствие содержания диссертации специальности, по которой  
она рекомендуется к защите**

Диссертационная работа Буй Т.Л.А. имеет завершенный характер, поставленная цель достигнута, задачи выполнены, новизна и практическая значимость подтверждены. Личный вклад соискателя определяющий.

По комплексу методических подходов и исследованных проблем диссертационная работа Буй Т.Л.А. соответствует специальности 1.5.11 – микробиология.

Конференция считает, что представленная Буй Т.Л.А. диссертация является квалификационной научно-исследовательской работой, имеющей теоретическое и практическое значение, и соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции Постановления от 21.04.2016 г., № 335).

Решением конференции диссертация Буй Т.Л.А. «Характеристика штаммов *Burkholderia pseudomallei* и близкородственных буркхольдерий, выделенных на территории Социалистической Республики Вьетнам, и совершенствование алгоритмов их идентификации» рекомендована для представления к защите в профильный диссертационный совет по специальности 1.5.11 – микробиология.

Заключение принято на расширенном заседании специалистов Федерального казенного учреждения здравоохранения Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Федерального казенного учреждения здравоохранения Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Научно-технологической организации международного сотрудничества Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр Министерства науки и высшего образования Российской Федерации и Министерства обороны Социалистической Республики Вьетнам.

Присутствовало на заседании – 24 человека (в том числе один доктор и пять кандидатов наук).

Результаты голосования:

«за» – 24; «против» – нет; «воздержалось» – нет.

Протокол № 1 от «19» февраля 2021 г.

Председатель заседания  
кандидат медицинских наук,  
старший научный сотрудник  
лаборатории биоинформационного анализа



Шпак  
Иван Михайлович

Секретарь заседания  
научный сотрудник лаборатории  
патогенных буркхольдерий



Чирсков  
Павел Романович

Подписи Шпака И.М., Чирскова П.Р.  
заверяю: начальник отдела делопроизводства  
ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский  
противочумный институт Роспотребнадзора



Чернова  
Елена Александровна