

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 64.1.002.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ
МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО
НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ
ЧЕЛОВЕКА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 09.09.2022 г. № 21
о присуждении Захаровой Ирине Борисовне, гражданке РФ, ученой степени
доктора биологических наук.

Диссертация «Мелиоидоз – актуальные вопросы современной эволюции и
разнообразия *Burkholderia pseudomallei* в аспектах совершенствования
лабораторной диагностики» по специальности 1.5.11. Микробиология принята
к защите 15.04.2022 г., протокол № 11, диссертационным советом 64.1.002.01
на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный
научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной
службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия
человека Российской Федерации, 142279, Московская обл., г.о. Серпухов,
п. Оболенск, Территория «Квартал А», д. 24, приказ о создании № 714/нк от
02.11.2012 г.

Соискатель Захарова Ирина Борисовна 1963 г. рождения защитила
диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук
«Физическая и функциональная характеристика криптоической плазмиды рPM1
возбудителя мелиоидоза» в 1999 г. в диссертационном совете Д 074.032.01,
созданном на базе Федерального казенного учреждения науки «Российский
научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной
службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия
человека Российской Федерации; работает ведущим научным сотрудником
лаборатории патогенных буркхольдерий в Федеральном казенном учреждении

здравоохранения «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации

Диссертация 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 Российской Федерации.

Научный консультант: доктор медицинских наук, доцент Топорков Андрей Владимирович, Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, директор.

Официальные оппоненты:

Малецкая Ольга Викторовна, доктор медицинских наук (специальность 1.5.11. Микробиология), профессор, Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, г. Ставрополь, заместитель директора по научной и противоэпидемической работе;

Павлович Наталья Владимировна, доктор медицинских наук (специальность 1.5.11. Микробиология), Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, лаборатория туляремии, главный научный сотрудник;

Кафтырева Лидия Алексеевна, доктор медицинских наук (специальность 1.5.11. 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 Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, лаборатория кишечных инфекций, заведующая дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное казенное учреждение 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 Российской Федерации, г. Иркутск, в своем положительном Заключении, подписанном Марковым Евгением Юрьевичем, доктором биологических наук, старшим научным сотрудником, биохимический отдел, заведующий; и Мироновой Лилией Валерьевной, доктором медицинских наук, заместителем директора по научной и лабораторно-диагностической работе, указала, что диссертация Захаровой Ирины Борисовны на тему «Мелиоидоз – актуальные вопросы современной эволюции и разнообразия *Burkholderia pseudomallei* в аспектах совершенствования лабораторной диагностики», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук, является завершённой, самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой, на основании выполненных автором исследований и разработок, осуществлено решение научной проблемы совершенствования методических подходов лабораторной диагностики мелиоидоза и дифференциации *Burkholderia pseudomallei* от других видов буркхольдерий, имеющей важное значение для медицинской микробиологии и практики, что полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (ред. 21.09.2021 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Соискатель имеет **167** опубликованных работ, в том числе по теме диссертации **121** работа, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано **29** работ, **10** патентов РФ, **1** база данных, **4** учебно-методических работы, **1** коллективная монография и **76** работ в других изданиях. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Викторов, Д.В. Молекулярное типирование штаммов *Burkholderia pseudomallei* с различной чувствительностью к антибиотикам / Д.В. Викторов, **И.Б. Захарова**, Л.К. Меринова, В.В. Алексеев // Мол. Генет. Микробиол. Вирусол. – 2006. – № 1. – С.7-11 (SCOPUS), цит. 3.

2. **Захарова, И.Б.** Молекулярное типирование и анализ полиморфизма генов β-лактамаз патогенных видов *Burkholderia* / **И.Б. Захарова**, А.В. Романова, Н.Н. Тетерятникова, В.С. Замараев, Д.В. Викторов // Вестн. Волгоград. Гос. Мед. Универ. – 2012. – № 2 (42). – С. 98-101 (ВАК), цит. 3.

3. Антонов, В.А. Современные подходы к диагностике сапа и мелиоидоза. идентификация и типирование *Burkholderia mallei* и *Burkholderia pseudomallei* / В.А. Антонов, В.И. Илюхин, Н.П. Храпова, Прохвятилова Е.В., Д.В. Викторов, Т.В. Сенина, А.А. Будченко, Г.А. Ткаченко, В.В. Алексеева, **Захарова И.Б.** и др.// Пробл. Особо Опасн. Инф. – 2012. – Т.112, № 2. – С. 46-50. (ВАК), цит. 8.

4. Молчанова, Е.В. Особенности идентификации *Burkholderia mallei* и *Burkholderia pseudomallei* с помощью микробиологического анализатора VITEK 2 Compact / Е.В. Молчанова, Я.А. Лопастейская, А.В. Незнамова, Ю.А. Кузютина, Н.П. Агеева, **Захарова И.Б.**, Д.В. Викторов, А.В. Топорков // Пробл. Особо Опасн. Инф. – 2016.– № 3.– С. 57-61. (ВАК), цит. 1

5. Лопастейская, Я.А. Применение времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ ионизацией (MALDI-ToF) для идентификации возбудителей сапа и мелиоидоза/ Я.А. Лопастейская, Е.В. Молчанова, Т.Н. Шаров, Ю.А. Кузютина, **И.Б. Захарова**,

Д.В. Викторов, А.В. Топорков // Клин. Лаб. Диагн.– 2016.– № 8 .– С.502-507. (SCOPUS), цит. 4.

6. **Zakharova, I.** Development of a multiplex PCR assay for the detection and differentiation of *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia thailandensis*, and *Burkholderia cepacia* complex / **I. Zakharova**, N. Teteryatnikova, A. Toporkov, D. Viktorov // Acta Tropica. – 2017. – Vol. 174. – P. 1-8. (SCOPUS), цит. 7.

7. **Zakharova, I. B.** Influence of Biochemical Features of *Burkholderia pseudomallei* Strains on Identification Reliability by Vitek 2 System / **I.B. Zakharova**, Y.A. Lopasteyskaya, A.V. Toporkov, D.V. Viktorov // J. Global Inf. Dis. – 2018. – Vol. 10, № 1. – P. 7-10. (SCOPUS), цит. 8.

8. 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. Teteryatnikova, D. Ustinov, Y. Kuzyutina, D. Viktorov // Jundishapur J. Microbiol. – 2018. – Vol. 11, №11. – P. e82834 (SCOPUS).

9. **Захарова, И.Б.** Мелиоидоз и сап: современное состояние проблемы и актуальные вопросы эпидемиологического надзора/ **И.Б. Захарова**, А.В. Топорков, Д.В. Викторов // Журн. Микробиол. Эпидемиол. Иммунобиол. – 2018. – № 6. – С. 103-109. (SCOPUS), цит. 5.

10. **Захарова, И.Б.** Мелиоидоз в аспектах эпидемиологии, клиники и лабораторной диагностики/ **И.Б. Захарова**, А.В. Топорков, Д.В. Викторов // Инфекция и иммунитет. – 2021. – Т. 11, № 3. – с. 409–422. (SCOPUS).

11. Пат. RU 2728356 С1 Набор олигонуклеотидных праймеров для выявления вариантных штаммов *Burkholderia thailandensis*, содержащих высоко гомологичный *Burkholderia pseudomallei* кластер генов биосинтеза капсульного полисахарида / Васильева К.В., **Захарова И.Б.** – Заявка: 2019122908 от 16.07.2019; опубл. 29.07.2020 Бюл. №22.

12. Пат. RU 2458117 С1 Мутантный штамм *Burkholderia cepacia* KM196, дефектный по продукции порина OprP1, для исследования молекулярных механизмов множественной резистентности к антибиотикам у

патогенных буркхольдерий / Л.К. Меринова, Е.В. Молчанова, О.А. Меринова, Д.В. Викторов, **И.Б. Захарова**, Н.П. Агеева, Е.А. Товба, М.В. Подшивалова – Заявка: 2011106729/10 от 22.02.2011; опубл. 10.08.2012, Бюл. № 22.

13. Пат. RU 2413763 C1 Инсерционный мутант *Burkholderia pseudomallei* - модельный штамм для молекулярно-генетического анализа механизмов формирования множественной антибиотикорезистентности у патогенных буркхольдерий / Д.В. Викторов, Л.К. Меринова, **И.Б. Захарова**, Н.П. Агеева, А.В. Романова, О.А. Меринова, Е.В. Калинин, В.С. Замараев, В.В. Алексеев – Заяв: 2009141036/10 от 05.11.2009; опуб. 10.02.2011, Бюл. № 7.

На диссертацию и автореферат поступило 7 положительных отзывов без замечаний от: (1) д-ра биол. наук, доцента **Ильичевой Татьяны Николаевны**, ведущего научного сотрудника отдела зоонозных инфекций и гриппа Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово Новосибирской обл.; (2) д-ра биол. наук **Кузнецова Андрея Николаевича**, генерального директора Российской части Научно-технологической организации международного сотрудничества «Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр» Минобрнауки РФ и Министерства обороны Вьетнама, г. Ханой; (3) д-ра биол. наук, профессора РАН **Дмитриева Александра Валентиновича**, директора Института экспериментальной медицины Минобрнауки РФ, г. Санкт-Петербург; (4) д-ра биол. наук **Александровой Алины Витальевны**, ведущего научного сотрудника кафедры микологии и альгологии Биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, г. Москва; (5) д-ра биол. наук **Калининой Ольги Викторовны**, профессора кафедры лабораторной медицины и генетики Института медицинского образования Национального медицинского исследовательского центра имени В. А. Алмазова Минздрава РФ, г. Санкт-Петербург; (6) д-ра биол. наук, профессора **Григорьевой Галины Ивановны**, руководителя отдела научного планирования Нижегородского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии

им. академика И.М. Блохиной Роспотребнадзора и канд. биол. наук **Голицыной Людмилы Николаевны**, ведущего научного сотрудника лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций того же института, г. Нижний Новгород; 7) д-ра мед. наук **Макаровой Марии Александровны**, старшего научного сотрудника лаборатории идентификации патогенов Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Пастера Роспотребнадзора, г. Санкт-Петербург.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что:

доктор медицинских наук, профессор, **Малецкая Ольга Викторовна** является высококомпетентным специалистом в области анализа заболеваемости природно-очаговыми инфекциями бактериальной и вирусной природы и имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей докторской диссертации Захаровой И.Б. (**Журн. Микробиол. Эпидемиол. Иммунобиол.** – 2019. – № 2. – С. 44-50; 2019. – № 4. – С. 46-52; 2021. – Т. 98, № 1. – С. 84-90; **Пробл. Особо Опасн. Инф.** – 2019. – № 2. – С. 14-21; 2019. – № 4. – С. 79-84; 2021. – № 1. – С. 17- 22; 2020. – № 1. – С. 14-20; 2020. – № 2. – С 48-56; 2020. – № 4. – С. 75-80);

доктор медицинских наук **Павлович Наталья Владимировна** является признанным специалистом в области микробиологии и лабораторной диагностики особо опасных инфекций и имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей докторской диссертации Захаровой И.Б. (**Антибиот. Химиотер.** – 2021. – Т. 66, № 1-2. – С. 26-32; 2021. – Т. 66, № 7-8. – С. 38-44. 2019. –Т. 64, № 7-8. – С. 8-12; **Здор. Насел. Среда Обитан.** – 2021. – Т. 29, № 12. – С. 64-71; 2021. – Т. 29. – № 7. – С. 67-75; **Наука Юга Рос.** – 2020. – Т. 16, № 1. – С. 77-87; **Chem. Heterocycl. Comp.** – 2019. – Т. 55, № 11. – С. 1128-1130; **Вестн. Биотехнол. Физ.-Хим. Биол. Овчинн.** – 2019. – Т. 15, № 1. – С. 42-46; **Инф. Иммуно.** – 2019. – Т. 9, № 2. – С. 262-272; **Пробл. Особо Опасн. Инф.** – 2017. – № 4. – С. 92-96);

доктор медицинских наук **Кафтырева Лидия Алексеевна** является признанным специалистом в области медицинской микробиологии, включая анализ генетического разнообразия и филогении детерминант вирулентности, проблем развития устойчивости к антимикробным препаратам и идентификации бактериальных патогенов, и имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей докторской диссертации Захаровой И.Б. (**J. Biochem.** – 2021. – Т. 170, № 5. – С. 675-681; **Клин. Лаб. Диагн.** – 2020. – Т. 65, № 11. – С. 707-711; 2020. – Т. 65, № 4. – С. 251-257; 2020. – Т. 65, № 5. – С. 308- 315; 2020. – Т. 65, № 6. – С. 368-374; 2020. – Т. 65, № 9. – С. 557-561; **Инф. Иммунол.** – 2020. – Т. 10, № 3. – С. 565-569; **Клин. Микробиол. Антимикроб. Химиотер.** – 2019. – Т. 21, № S1. – С. 27-28; **Front. Microbiol.** – 2019. – Т. 10, № MAR. – С. 2465).

Назначение ведущей организации обосновано широкой известностью ее достижений в области исследований филогении и геномики возбудителей I-II групп патогенности, эпидемиологии вызываемых ими инфекций, большим опытом ее специалистов в совершенствовании лабораторной диагностики особо опасных инфекций и наличием публикаций в сфере исследований, соответствующей докторской диссертации Захаровой И.Б. (**Mol. Phylogenet. Evolut.** – 2021. – Т. 159. – С. 107116; **Мед. Паразитол. Паразитар. Бол.** – 2021. – № 3. – С. 12-20; **Пробл. Особо Опасн. Инф.** – 2021. – № 2. – С. 138-147; 2021. – № 2. – С. 79-86; 2021. – № 3. – С. 89-97; 2020. – № 1. – С. 115-123; **Анализ Риска Здор.** – 2021. – № 2. – С. 94-104; **Генетика.** – 2020. – Т. 56, № 7. – С. 783-791; **Бюлл. Экспер. Биол. Мед.** 2020. – Т. 169, № 4. – С. 468-471).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработаны технологические решения, позволяющие существенно повысить эффективность средств идентификации видов комплекса «*B. pseudomallei*» и их дифференциации с филогенетически близкими бактериями рода *Burkholderia*, основанные на эффективной белковой экстракции при необходимом уровне биологической безопасности при работе с

бактериальными агентами II группы патогенности; оптимизации протокола времяпролетной масс-спектрометрии и выявлении особенностей биохимических профилей атипичных штаммов *B. pseudomallei* и *B. mallei*, ранее некорректно идентифицируемых автоматическими анализаторами как *B. ceracia*; определении новых генодиагностических мишеней для идентификации *B. pseudomallei*, *B. mallei* и *B. thailandensis* в формате мультиплексной ПЦР; набор праймеров, детектирующих β -лактамазы буркхольдерий комплекса «*B. pseudomallei*» молекулярных классов А, В и D, относящихся к суперсемействам β -лактамазы/транспептидазы и металло-гидролазы/оксидоредуктазы (Пат. RU 2474614 С1); два набора праймеров для амплификации и клонирования генов высокоиммуногенных мембранных протеинов *B. pseudomallei* с целью получения рекомбинантных антигенов (Пат. RU 2608505 и RU 2608506); набор праймеров для выявления вариантных штаммов *B. thailandensis*, содержащих высокоомологичный *B. pseudomallei* кластер генов биосинтеза капсульного полисахарида (Пат. RU 2728356);

предложена гипотеза о том, что область экологической пригодности для сохранения возбудителя мелиоидоза в природе гораздо шире, чем прогнозировалось ранее, и существует потенциальная возможность интродукции возбудителя на территорию Российской Федерации. Гипотеза подтверждена полученными данными о толерантности *Burkholderia pseudomallei* к длительному воздействию низких температур, включая отрицательные;

доказаны отличия влияния возраста и предрасполагающих заболеваний на риск развития мелиоидоза у коренных и некоренных жителей эндемичных регионов – для путешественников показано отсутствие статистически достоверной зависимости количества заболевших от возраста ($t = 0,36$, $p = 0,7458$) и наличия предрасполагающих заболеваний ($t = 1,24$, $p = 0,3040$);

введен в МУ 4.2.3744-22 «Лабораторная диагностика мелиоидоза и сапа. Организация и проведение в лабораториях различного уровня» пункт, предусматривающий, в дополнение к классическим критериям, выдачу

окончательного положительного ответа «мелиоидоз неуточненный А. 24.3» при наличии положительных результатов ПЦР с использованием не менее двух диагностических наборов, детектирующих отличающиеся видоспецифические мишени, наличии в эпиданамнезе посещения эндемичных по мелиоидозу регионов мира, при отсутствии в парных сыворотках больного нарастания титров специфических антител, отсутствии специфического роста на питательных средах при посеве нативного материала. Комплексная оценка результативности методов лабораторной диагностики мелиоидоза показала, что диагностическая чувствительность метода ПЦР составляет не менее 99 %, бактериологического метода – 60 %, при этом уровень ложноотрицательных результатов составляет 42 % среди микробиологически подтвержденных диагнозов мелиоидоза в реакции непрямой гемагглютинации, 33 % - в реакции твердофазного иммуноферментного анализа, 10,5 % в реакции непрямого метода ферментного анализа.

Теоретическая значимость исследования подтверждается тем, что:

доказано, что вариабельная часть видового пангенома *Burkholderia thailandensis* содержит более широкий, чем считалось ранее, набор генетических детерминант факторов патогенности. Установлено, что гомология белковых продуктов ортологичных генов *B. thailandensis* и *B. pseudomallei*, обеспечивающих способность возбудителя мелиоидоза успешно инфицировать и колонизировать млекопитающих, превышает среднее значение совпадения их протеомов и составляет 91 % (ДИ 82-100 %) и 89 % (ДИ 81-98 %) для ортологов, локализованных на хромосомах 1 и 2, соответственно. Штаммы вида *B. thailandensis* отличаются по набору факторов патогенности для чувствительных лабораторных животных и способны вызывать инфекции людей различной степени тяжести, включая сепсис, из чего следует, что *B. thailandensis* не является авирулентным для млекопитающих видом, как считалось до настоящего времени, и относится к оппортунистическим патогенам;

применительно к проблематике диссертации с получением обладающих новизной результатов использован комплекс методов исследования: микробиологических (культивирование *B. pseudomallei* и близкородственных буркхольдерий и их морфологическая характеристика, биохимическое и масс-спектрометрическое профилирование штаммов), молекулярно-генетических (выделение нуклеиновых кислот, идентификация возбудителя методом ПЦР, полногеномное и частичное секвенирование, мультилокусное сиквенс-типирование, мультилокусное сиквенс-типирование ядра генома), биоинформатических (сборка и аннотация геномов, определение аллелей локусов по схеме MLST, филогенетический анализ), ретроспективный анализ клинико-демографических данных заносных случаев мелиоидоза в неэндемичные регионы и методов статистического анализа (с использованием инструментария Microsoft Excel 2013).

изложены данные о различиях видов комплекса «*B. pseudomallei*» по набору генов β-лактамаз молекулярных классов В и D: у *B. pseudomallei* присутствуют три гена (BPS_RS30385, BPS_RS29690 и BPS_RS29225), у *B. mallei* (BPS_RS30385 и BPS_RS29225) и *B. thailandensis* (BPS_RS29690 и BPS_RS29225) - по два гена, локализованных в структурно стабильных областях основного генома видов и стабильно наследующихся без селективного давления в течение 69 (ДИ 35-103) лет, что позволяет использовать их в качестве диагностических генетических мишеней для дифференциации этих видов как внутри комплекса, так и с видами комплекса «*B. seracia*»;

изучена роль гомологичной рекомбинации в процессах адаптивной микроэволюции возбудителя мелиоидоза, получено экспериментальное подтверждение гипотезы о неслучайном распределении штаммов *Burkholderia pseudomallei* по различным экологическим нишам; на основании филогенетического анализа данных мультилокусного сиквенс-типирования полного генома и ядра генома штаммов вьетнамской популяции *B. pseudomallei* показано, что формирование новых сиквенс-типов (ST), являющихся одно- и

двух-локусными вариантами ранее обнаруженных ST, происходит в результате гомологичной рекомбинации;

раскрыта тенденция увеличения числа зарегистрированных случаев мелиоидоза во всех известных эндемичных регионах мира и статистически достоверная корреляция (критерий корреляции $R_{xy}=0,945$) между трендом роста международного туризма и возрастающей динамикой случаев заноса мелиоидоза в неэндемичные страны мира;

проведена модернизация перечня регламентированных алгоритмов и методов индикации и идентификации возбудителей мелиоидоза и сапа, что отражено в утвержденных нормативных документах МР 3.1.0129-18 «Порядок организации и проведения индикации патогенных биологических агентов, в том числе неустановленного систематического положения», МУ 4.2.3744-22 «Лабораторная диагностика мелиоидоза и сапа. Организация и проведение в лабораториях различного уровня», а также МУК 4.2.3733-21 «Подготовка культур микроорганизмов I-II групп патогенности для анализа методом MALDI-TOF масс-спектрометрии и формирование баз данных референсных масс-спектров для автоматической идентификации микроорганизмов», подготовленных при непосредственном участии соискателя;

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны и внедрены: Диагностический препарат «Набор реагентов для выявления и дифференциации буркхольдерий группы «*pseudomallei*» в формате мультиплексной полимеразной цепной реакции с электрофоретической детекцией «Амплиген Буркхольдерии группы «*pseudomallei*» βL B/D - EPh» по ТУ 21.20.23-014-01898084-2016» (РУ № РЗН 2018/7785 от 07.11.2018 г.), включенный в Перечень диагностических препаратов, рекомендованных МУ 4.2.3744-22 «Лабораторная диагностика мелиоидоза и сапа. Организация и проведение в лабораториях различного уровня» - утверждены Главным государственным санитарным врачом

Российской Федерации А. Ю. Поповой 14.03.2022 г. - федеральный уровень внедрения;

депонированы в базу данных GenBank NCBI 17 нуклеотидных последовательностей генов β -лактамаз молекулярных классов В и D штаммов *B. pseudomallei*, *B. mallei* и *B. thailandensis* дикого типа и их полирезистентных производных, последовательности шотган-полногеномных сиквенсов 15 штаммов *B. pseudomallei*, одного штамма *B. cepacia* и 3 штаммов *B. thailandensis* - международный уровень внедрения;

в Государственную коллекцию патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб» (ГКПБ «М») депонированы полирезистентные варианты штаммов *Burkholderia* spp. и инсерционные мутанты со сниженным уровнем устойчивости к β -лактамам (Справки о депонировании от 20.05.2005 и 04.07.2005); в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» депонированы охарактеризованные типичные штаммы *B. pseudomallei* и *B. mallei* дикого типа (Справки о депонировании №№ 360-363 от 23.03.2012 г.) - федеральный уровень внедрения;

разработанные в настоящей работе методические приемы, алгоритмы анализа и генодиагностический набор реагентов используются в деятельности Референс-центра по мониторингу за возбудителями сапа и мелиоидоза ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора (Справка о внедрении №34-30-02/12-2210-2022 от 22.03.2022 г.) - учрежденческий уровень внедрения;

результаты диссертационного исследования используются лабораторией молекулярной биологии Российско-Вьетнамского Тропического научно-исследовательского и технологического центра, г. Ханой, для идентификации клинических и почвенных изолятов на эндемичной по мелиоидозу территории Социалистической Республики Вьетнам (Справка о внедрении №223 от 04.01.2022 г.) и вошли в практическое руководство «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 - международный уровень внедрения;

аналитические и экспериментальные данные, полученные при выполнении диссертационной работы, послужили основой Методических указаний МУ 4.2.3744-22 «Лабораторная диагностика мелиоидоза и сапа. Организация и проведение в лабораториях различного уровня» (утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 14.03.2022 г.), Методических указаний МУК 4.2.3733-21 «Подготовка культур микроорганизмов I-II групп патогенности для анализа методом MALDI-TOF масс-спектрометрии и формирование баз данных референсных масс-спектров для автоматической идентификации микроорганизмов» (утверждены 28.12. 2021 г.) и Методических рекомендаций МР 3.1.0129-18 «Порядок организации и проведения индикации патогенных биологических агентов, в том числе неустановленного систематического положения» (утверждены 31.05.2018 г.) - федеральный уровень внедрения;

определена область использования полученных данных о влиянии биологических особенностей буркхольдерий комплекса «*B. pseudomallei*» на эффективность их выявления и идентификации, включающая совершенствование методических подходов лабораторной диагностики мелиоидоза и сапа и актуализацию вопросов эпидемиологии мелиоидоза;

создан протокол пробоподготовки для идентификации возбудителей мелиоидоза и сапа методом MALDI-TOF MS, обеспечивающий эффективную белковую экстракцию при необходимом уровне биологической безопасности для работы с микроорганизмами II группы патогенности, созданы наборы референтных масс-спектров белков штаммов *B. pseudomallei* и *B. mallei*, внедренные в базы данных S.A.R.A.M.I.S.TM и MALDI Biotyper (Свидетельство о государственной регистрации базы данных «Белковые профили масс-

спектров микроорганизмов I-II групп патогенности для программы MALDI Biotyper» № 2016620345 от 15.03.2016 г.).

представлены рекомендации по включению результатов исследования в лекционные курсы дополнительного образования при ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора (Справка о внедрении №34-30-02/12-2210-2022 от 22.03.2022 г.)

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

степень достоверности результатов исследований подтверждается значительным объемом проанализированных литературных данных и фактического материала, полученного с использованием современных методов исследования на метрологически поверенном оборудовании с последующей статистической обработкой; основные положения, изложенные в диссертационной работе, опубликованы в рецензируемых отечественных и зарубежных журналах и прошли экспертную оценку;

идея диссертационного исследования базируется на анализе имеющихся в литературе данных по вопросам лабораторной диагностики и эпидемиологии мелиоидоза;

установлено соответствие полученных автором результатов с опубликованными ранее в научной литературе данными других авторов – в части толерантности *B. pseudomallei* к низким положительным температурам, вероятности ошибочного определения видовой принадлежности возбудителя мелиоидоза фенотипическими методами, необходимости расширения баз данных для MALDI-TOF масс-спектрометрии дополнительными эталонными спектрами буркхольдерий комплекса «*B. pseudomallei*»;

использованы современные методы получения и обработки информации.

Личный вклад соискателя состоит в:

персональном участии в разработке и обосновании концепции исследования, определении алгоритмов и методологии выполнения работы, формулировке цели и задач, обобщении литературных данных по проблеме исследования, проведении аналитических, *in silico* и экспериментальных

исследований, анализе и интерпретации результатов, а также в подготовке основных результатов работы для представления к опубликованию; отдельные этапы экспериментальных исследований и сбор полевого материала выполнены совместно с сотрудниками лаборатории патогенных буркхольдерий ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, работавших под руководством соискателя.

На заседании 09.09.2022 г. диссертационный совет принял решение присудить Захаровой Ирине Борисовне ученую степень доктора биологических наук за решение проблемы выявления диагностически значимых особенностей *V. pseudomallei*, разработку новых технологических решений и средств, значительно повышающих эффективность лабораторной диагностики мелиоидоза, совокупность которых можно квалифицировать как существенное достижение в совершенствовании системы мероприятий по санитарной охране территории Российской Федерации от заноса и распространения мелиоидоза на территории нашей страны.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве **19** человек, из них **8** докторов наук по специальности 1.5.11. Микробиология, участвовавших в заседании, из **23** человек, входящих в состав совета, проголосовали: за **19** против **нет**, недействительных бюллетеней **нет**.

Председатель
диссертационного совета
академик РАН, д.м.н., профессор


(Дятлов Иван Алексеевич)

Ученый секретарь
диссертационного совета
к.б.н.


(Фурсова Надежда Константиновна)

Дата оформления Заключения – 09.09.2022 г.
Печать организации, на базе которой создан диссертационный совет.