

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 001.043.01 НА БАЗЕ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ  
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ГРИППА»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО  
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА  
МЕДИЦИНСКИХ НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 23 мая 2017 г. № 3

О присуждении Устюжанину Александру Владимировичу учёной степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Молекулярно-генетический мониторинг носительства неполиомиелитных энтеровирусов в анализе и прогнозе уровня заболеваемости энтеровирусным менингитом в условиях мегаполиса» по специальности 03.02.02 -вирусология принята к защите 28 февраля 2017 г., протокол № 2, диссертационным советом Д 001.043.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт гриппа» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197376, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 15/17, утвержденного приказом № 980/нк от 16 декабря 2013 г.

Соискатель Устюжанин Александр Владимирович, 1987 года рождения, в 2010 году с отличием закончил медико-профилактический факультет Уральской государственной медицинской академии с присвоением квалификации «врача» по специальности «Медико-профилактическое дело». В 2011 г. окончил интернатуру по специальности «Клиническая лабораторная диагностика», прошел первичную специализацию по специальности «Бактериология».

С 2011 по 2014 гг. успешно прошел обучение в аспирантуре на кафедре

микробиологии, вирусологии и иммунологии. С 2012 года по настоящее время работает в должности ассистента кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО "Уральский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения РФ.

Диссертация выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования "Уральский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель – доктор медицинских наук, профессор Сергеев Александр Григорьевич, ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии

Официальные оппоненты:

1. **Иванова Ольга Евгеньевна** - доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П.Чумакова" РАН, Врио руководителя Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова" РАН» (ФГБНУ "ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН");

2. **Романенкова Наталья Ивановна** - кандидат медицинских наук, Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере прав потребителей и благополучия человека, ведущий научный сотрудник лаборатории этиологии и контроля вирусных инфекций.

Дали положительные отзывы на диссертацию, содержащие следующие вопросы и замечания:

1. Для сравнительного анализа спектра серотипов энтеровирусов, обнаруженных у больных энтеровирусным менингитом (табл.1) и у здоровых детей (табл. 3) был исследован биологический материал, собранный в разные временные периоды.

2. Для оценки эпидемического потенциала штаммов энтеровирусов автор предложил формулу, которая выражается соотношением частоты носительства энтеровируса, доминирующего в циркуляции серотипа, и заболеваемости энтеровирусным менингитом, обусловленным этим же серотипом НПЭВ. Диссертанту удалось установить конкретный серотип лишь у половины энтеровирусов, которые были обнаружены методом ПЦР у здоровых детей. С эпидемиологической точки зрения более корректными были бы расчеты показателей на основе штаммов энтеровирусов с установленным серотипом.

3. Почему вы делаете заключение о низкой чувствительности и информативности исследования сточной воды на основании сравнения данных по исследованию проб сточной воды вирусологическим методом в 1998-2010 годах с данными молекулярно-генетического исследования материала от здоровых носителей, полученными в 2010-2014 годах (табл. 6.1)? Такое сравнение нельзя признать корректным, поскольку эти исследования были проведены разными методами и в разное время.

4. В чем заключается разница таких свойств микроорганизмов как «патогенность» и «вирулентность», какими методами можно определить наличие вирулентности у вирусов?

5. В рукописи диссертации и автореферате не совпадает формулировка п.5 в разделе «Научная новизна».

6. В таблицах 3.2, 3.3, 6.2 допущены ошибки (неправильно подсчитано количество штаммов, количество исследований, показатели заболеваемости на 100 тыс., соответственно).

7. Неправильно указаны номера рисунков: 6.1 вместо 4.2; 6.3 и 6.4 вместо 4.3, 4.4; 6.5, 6.6 вместо 4.5, 4.6; 6.1 вместо 5.1).

8. На всех рисунках следовало указывать значение осей.

9. Цветная печать сделала бы рисунки более информативными.

10. На наш взгляд в разделе «Обзор литературы» весьма уместно было бы привести более полные, чем это сделано во «Введении», сведения о классификации энтеровирусов, эпидемиологии, клиническом, социальном и экономическом значении заболеваний, вызываемых НПЭВ. Это в значительной степени укрепило бы позицию автора о необходимости мониторинга циркуляции НПЭВ.

11. В Разделе 1.2 Обзора литературы «Индикация энтеровирусов в пробах фекалий лиц с бессимптомной формой инфекции», обсуждается необходимость исследования фекальных материалов от клинически здоровых детей, преимущества использования молекулярно-генетических методов, автор полемизирует не с научными статьями, но, главным образом, с методическими документами (МУ, СП), в том числе – ставшими «историческими», выпущенными в 1971 и 1987 гг.

12. В разделе «Материалы и методы» указаны различные виды клинических материалов, исследованные автором (фекалии, ликвор, носоглоточные смывы), но не описано, как этот материал готовили для последующего исследования.

13. В Таблице 2.2 «Количество обследованных, проживающих на территории Свердловской области и сопредельных областей на наличие в биологическом материале энтеровирусов» не указан вид биологического материала и группа обследованных (по аналогии с табл. 2.1).

14. В таблице 2.3 «Количество проведенных исследований» фигурирует «культуральная жидкость». Поскольку автор не проводил исследований с использованием культур клеток, следовало указать, откуда были получены такие пробы.

15. Среди материалов, которые исследовал автор (табл 2.1) указаны образцы фекалий от случаев ОВП. Так как в РФ первичные материалы от случаев ОВП поступают только в лаборатории Национальной лабораторной сети, очевидно, что они были предоставлены автору и в таком случае, следовало дать соответствующее разъяснение.

16. Недочетом является то, что автор не представил сведения о том, где и каким образом были собраны клинические материалы от различных групп (больные ЭВМ, ЭВИ, здоровые).

17. Так как автор рекомендует проводить мониторинг циркуляции НПЭВ именно среди здорового населения, хотелось бы знать, как где может быть организован отбор материала для проведения такого мониторинга, какого количества материалов достаточно, какой должна быть кратность и продолжительность отбора для получения репрезентативных результатов. Эти моменты следовало бы принять во внимание, так как на основании получаемых данных автор высчитывает показатель отношения частоты выявления доминирующего этиологического агента ЭВМ в ликворе больных и в фекальном материале практически здоровых лиц для оценки эпидемического потенциала циркулирующих штаммов НПЭВ и использования «в качестве прогностического показателя вирулентности при оценке эпидемического потенциала обнаруженных штаммов».

18. На наш взгляд, автор излишне категоричен, когда делает заключение о том, что «результаты вирусологического исследования сточных вод ... являются малоинформативными, единственным подходом к получению достоверной оперативной информации об особенностях развития

эпидемического процесса, позволяющей приблизиться к решению прогнозирования уровня заболеваемости, является, по нашему мнению, мониторинг интенсивности циркуляции и спектра НПЭВ среди практически здорового населения». Нельзя игнорировать то, что одним из существенных преимуществ исследования сточных вод является простота организации такого исследования. В последние несколько лет молекулярные методы весьма широко внедрены в работу вирусологических лабораторий наряду с традиционными вирусологическими методами.

19. Сравнение частоты выявления и количества обнаруженных серотипов вирусов Коксаки А, В, ECHO в пробах сточных вод и образцах фекалий клинически здоровых детей г. Екатеринбурга (табл. 6.1) не совсем корректно так как эти исследования проводились в разные периоды времени разными методами. Результаты исследования сточных вод, предоставленные Федеральной службой Роспотребнадзора по Свердловской области, были получены в 1998-2010гг., когда в лабораториях использовали только вирусологические методы. Следовало бы принять во внимание результаты работы, выполненные также в Свердловском регионе, где вирусологический мониторинг за НПЭВ представлен в виде унифицированной системы, включающий надзор за циркуляцией НПЭВ и в объектах окружающей среды, и среди здоровых лиц, тем более, что эта работа приведена в списке изученной автором литературы №81 в библиографии.

Ведущая организация:

**Федеральное бюджетное учреждение науки «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере прав потребителей и благополучия человека, г. Нижний Новгород.** Заключение подготовлено доктором медицинских наук, профессором, заведующей лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций Натальей

Алексеевной Новиковой и утверждено доктором медицинских наук, профессором, директором ФБУН НИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора Ефимовым Евгением Игоревичем. Положительно оценивая работу в целом, подчеркивая ее актуальность, новизну, теоретическую и практическую значимость, отзыв содержит замечания:

1. Содержание раздела «Актуальность темы», представленного в автореферате, отличается от представленного в материалах диссертации.
2. Формирование групп вирусов по принципу Коксаки А, Коксаки В, ECHO может вносить путаницу в анализ, т.к. эти группы не являются таксономическими и, например, КА9 относится к виду Энтеровирус В, и рассматривать его вместе с другими Коксаки А вирусами (вид А) неправильно.
3. Предполагается, что некоторые штаммы вируса КА9 являются эндемичными для г. Екатеринбурга. При обсуждении этого вопроса следует учитывать, что в регионах с умеренным климатом отсутствуют условия для формирования эндемичных штаммов ЭВ.

Для соискателя были сформулированы следующие вопросы:

- Что понимается под термином «эндемичность»?
- На основании каких критериев и свойств определяется вирулентность вирусов?

Отмечено, что, несмотря на сделанные замечания, диссертация Устюжанина Александра Владимировича «Молекулярно-генетический мониторинг носительства неполиомиелитных энтеровирусов в анализе и прогнозе уровня заболеваемости энтеровирусным менингитом в условиях мегаполиса» является законченной научно-исследовательской работой, которая соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присвоения

ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Диссертационная работа и отзыв обсуждены и одобрены на расширенном заседании лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных инфекций 27.04.2017 г (протокол № 2).

Соискатель имеет 11 научных работ, из них – 5 статей в рецензируемых журналах ВАК Министерства образования и науки РФ.

**Публикации, содержащие основные научные результаты диссертации, опубликованные в журналах, рецензируемых ВАК:**

1. Устюжанин А. В. Анализ филогенетических связей энтеровирусов, выделенных от больных серозным менингитом в г. Екатеринбурге и Свердловской области в 2008 году / А. В. Устюжанин, А. В. Резайкин, Т. Э. Снитковская, С. В. Скрябина, А. У. Сабитов, Ю. Б. Хаматова, А. Г. Сергеев // Уральский медицинский журнал. 2011. - № 13 (91). - С. 19-24.
2. Устюжанин А.В. Молекулярно-генетическая характеристика энтеровирусов, циркулирующих среди клинически здоровых (на территории г. Екатеринбурга с 2010 по 2012 г.) / А. В. Устюжанин, А. В. Резайкин, А. Г. Сергеев, Я. С. Палицина // Медицинский вестник МВД. - 2013. - № 4 (65). - С. 54-57.
3. Устюжанин А.В. Филогенетический анализ вируса ECHO6 – возбудителя серозного менингита на территории г. Екатеринбурга и Свердловской области в период с 2005 по 2012гг / А.В. Устюжанин, А. В. Резайкин, Т. Э. Снитковская, С.В. Скрябина, А. Г. Сергеев // Здоровье населения и среда обитания. - 2013. - № 9 (246). - С. 35-38.
4. Сергеев А.Г. Оценка эпидемиологической опасности штаммов неполиомиелитных энтеровирусов, циркулирующих среди населения, по результатам молекулярно-генетического мониторинга / А.Г. Сергеев, А. В.

**Устюжанин, А. В. Резайкин, А. В. Алимов // Дальневосточный журнал инфекционной патологии.** - 2015. - № 28 (28). - С. 20-26.

**5. Устюжанин А.В.** Значение молекулярно-генетического мониторинга в оценке степени вирулентности и эпидемической значимости штаммов неполиомиелитных энтеровирусов, циркулирующих среди населения. / А. В. Устюжанин, А. В. Резайкин, А. Г. Сергеев, Т. Э. Снитковская // Вестник Уральской медицинской академической науки. - 2015. - № 1 (52). - С. 72-76.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. Отзыв на автореферат, написанный доктором медицинских наук, профессором Рудаковым Николаем Викторовичем, директором ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций». Отзыв положительный, замечаний нет;

2. Отзыв на автореферат, написанный доктором медицинских наук, профессором, заслуженным деятелем науки РФ Горовиц Эдуардом Семеновичем, заведующим кафедрой микробиологии и вирусологии Пермского государственного медицинского университета имени академика Е. А. Вагнера. Отзыв положительный, замечаний нет;

3. Отзыв на автореферат, написанный доктором биологических наук, профессором Лебедевым В.Н., ведущим научным сотрудником отдела ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России и кандидатом медицинских наук Петровым А. А., начальником отдела ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России Отзыв положительный, есть замечания:

3.1. Декларируемая цель исследования «Оценка эпидемиологического потенциала этиологических агентов энтеровирусного менингита на основе результатов молекулярно –генетического мониторинга носительства НПЭВ среди населения крупного промышленного центра (г. Екатеринбург)» (стр.4) не соответствует названию диссертации – «Молекулярно-генетический мониторинг носительства неполиомиелитных энтеровирусов в анализе и

прогнозе уровня заболеваемости энтеровирусным менингитом в условиях мегаполиса»;

3.2. Согласно требованиям п. 7 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», на защиту должны выноситься новые результаты и положения, выдвигаемые для публичной защиты, а не «положения, выносимые на защиту» (стр.6). В этой связи следует отметить, что в данном структурном элементе рассматриваемой работы представлены главным образом именно научные результаты;

3.3. В автореферате не указаны реквизиты документов, подтверждающих практическую реализацию работы (внедрение результатов исследований в учебный процесс кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Уральского государственного медицинского университета);

3.4. Автор использует неточный термин «эпидемиологическая ситуация» (стр.4,5), правильно – эпидемическая ситуация;

3.5. В реферате должен быть представлен полный перечень работ автора по теме диссертации, а не только работ, опубликованных в рецензируемых научных журналах из перечня ВАК;

Вывод: автореферат докторской диссертации Устюжанина Александра Владимировича соответствует требованиям п. 25 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденном постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года.

4. Отзыв на автореферат, написанный доктором медицинских наук, профессором, Евстроповым Александром Николаевичем, заведующим кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. Отзыв положительный, замечаний нет;

5. Отзыв на автореферат, написанный доктором медицинских наук, профессором, академиком РАМН Злобиным Владимиром Игоревичем,

директор НИИ биомедицинских технологий заведующим кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии с курсом клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Отзыв положительный, замечаний нет.

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается** их высокой квалификацией, заинтересованностью в тематике представленного научного исследования, собственными значительными достижениями в данной отрасли науки, наличием публикаций по теме диссертации и способностью определить научную и практическую ценность выполненной научно-исследовательской работы.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

- **подтвержден** выбор наиболее информативной возрастной группы - дети 3-6 лет для проведения молекулярно-генетического мониторинга циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов среди практически здорового населения;
- **впервые определен** спектр серотипов неполиомиелитных энтеровирусов, выявленных среди практически здорового населения, в котором преобладают слабовирулентные плохо культивируемые штаммы вирусов Коксаки группы А (виды А и С), в то время как этиологическими агентами энтеровирусного менингита являются представители энтеровирусов вида В;
- **получены** данные о том, что повышение уровня выявляемости неполиомиелитных энтеровирусов у практически здоровых лиц опережает рост показателя заболеваемости энтеровирусным менингитом, однако сроки этого опережения могут варьировать в широких пределах (от одного до четырех месяцев), а процент вирусоносителей, выявленных во время сезонных подъемов, может быть высоким по отношению к среднемесячным показателям

при низком уровне заболеваемости ЭВМ и наоборот, относительно низким при высокой заболеваемости;

- впервые показано высокое генетическое родство у штаммов одного серотипа, обнаруженных в одном эпидсезоне в ликворе больных и фекалиях лиц с бессимптомной формой инфекции на основе филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей неполиомиелитных энтеровирусов, выделенных от больных энтеровирусным менингитом и вирусоносителей (Коксаки A9, ECHO 6, 30).

#### **Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

- установлено, что среднегодовой уровень вирусоносительства неполиомиелитных энтеровирусов среди здоровых детей города Екатеринбурга в возрасте 3-6 лет составляет 10,7%;
- впервые определен спектр геновариантов серотипов неполиомиелитных, циркулирующих на территории г. Екатеринбурга и Свердловской области с 2005 по 2014 годы;
- охарактеризована частота встречаемости различных серотипов неполиомиелитных энтеровирусов в ликворе больных энтеровирусным менингитом во время сезонных подъемов заболеваемости и в фекалиях здоровых лиц.

#### **Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем что:**

- данные о генетических вариантах серотипов неполиомиелитных энтеровирусов, циркулирующих на территории Екатеринбурга и Свердловской области служат основанием для своевременного включения в циркуляцию «новых» для данной территории штаммов неполиомиелитных энтеровирусов;
- необходимо проведение мониторинга циркуляции неполиомиелитных

энтеровирусов среди здорового населения в рамках эпидемиологического надзора за циркуляцией энтеровирусов;

- **дополнена** генетическая информация GenBank NCBI 162 нуклеотидными последовательностями (VP2 и VP1) для **проведения** филогенетического анализа и установления генетического родства штаммов неполиомиелитных энтеровирусов исследователями, **занимающимися** молекулярной эпидемиологией и эволюцией вирусов
- результаты диссертационной работы **используются** в учебном процессе на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, (акт о внедрении прилагается).

**Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:**

- **результаты подтверждаются** достаточным количеством исследований и научно обоснованной интерпретацией;
- для экспериментальных работ **задействован** широкий комплекс современных методов, результаты получены с использованием сертифицированного оборудования, проходящего плановый и контрольно-технический осмотры;
- **в работе были использованы** адекватные современные экспериментальные, молекулярно-биологические и компьютерные методы.

**Личный вклад соискателя** состоит в самостоятельном проведении лабораторных исследований (выделение, амплификация нуклеиновых кислот, генотипирование НПЭВ, филогенетический анализ), статистической обработке и анализе полученных результатов. Автором осуществлен аналитический обзор литературы, интерпретация и изложение полученных

данных, формулирование выводов, а также подготовка основных публикаций по теме работы

**На заседании 23 мая 2017 года диссертационный совет Д 001.043.01** сделал вывод о том, что диссертация «Молекулярно-генетический мониторинг носительства неполиомиелитных энтеровирусов в анализе и прогнозе уровня заболеваемости энтеровирусным менингитом в условиях мегаполиса» представляет собой научно-квалификационную работу, соответствующую требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., и принял решение присудить Устюжанину Александру Владимировичу учёную степень кандидата медицинских наук.

**При проведении тайного голосования диссертационный совет** в количестве 15 человек, из них 14 докторов наук по специальности 03.02.02. - вирусология, участвовавших в заседании, из 20 человек, входящих в состав совета, проголосовали:

За присуждение ученой степени – 15 человек,

Против присуждения ученой степени – нет,

Недействительных бюллетеней – нет.

Председатель  
диссертационного совета ДС 001.043.01  
доктор биологических наук

Жилинская И.Н.

Ученый секретарь  
диссертационного совета ДС 001.043.01  
кандидат биологических наук

Амосова И.В.

23 мая 2017 г.