

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 30 сентября 2014 г. № 3

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 001.043.01 НА БАЗЕ
ФГБУ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ГРИППА»
МИНЗДРАВА РОССИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

О присуждении Даниленко Дарье Михайловне ученой степени
кандидата биологических наук.

Диссертация «Анализ эволюционной изменчивости и биологических свойств вирусов пандемического гриппа А(Н1N1)pdm09, циркулировавших в России в период с 2009 по 2013 гг.» в виде рукописи по специальности 03.02.02 – вирусология принята к защите 15 июля 2014 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 Даниленко Дарья Михайловна, 1983 года рождения, гражданка РФ, в 2006 г. окончила кафедру микробиологии биолого-почвенного факультета Санкт-Петербургского Государственного Университета. С 2007 по 2010 гг. работала в должности младшего научного сотрудника, с 2010 по 2013 – в должности научного сотрудника, в настоящее время – в должности старшего научного сотрудника в ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России. Соискатель Даниленко Дарья Михайловна окончила в 2013 г. заочную аспирантуру по специальности 03.02.02 – вирусология - на базе ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России.

Диссертация выполнена в лаборатории эволюционной изменчивости вирусов гриппа, Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт гриппа» Минздрава России.

Научный руководитель – доктор биологических наук **Михаил Юрьевич Еропкин**, ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа» Минздрава России, заведующий лабораторией эволюционной изменчивости вирусов гриппа.

Официальные оппоненты:

1. **Виталий Васильевич Зверев** - академик РАН, доктор биологических наук, профессор, директор Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова» РАМН
2. **Юлия Андреевна Дешева** - доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела вирусологии им. академика А. А. Смородинцева ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» Северо-Западного отделения РАМН

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация **Федеральное бюджетное учреждение науки «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»**, Санкт-Петербург, в своем заключении, составленном и подписанном Ольгой Викторовной Калининой, доктором биологических наук, ведущим научным сотрудником лаборатории молекулярной биологии ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера и утвержденном членом-корреспондентом РАН, и утвержденным профессором Арегом Артемовичем Тотоляном, заместителем директора по науке ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, дала положительный отзыв на диссертацию.

Соискатель имеет 40 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации – 15 работ, из которых 9 опубликовано в рецензируемых научных изданиях.

Наиболее важные публикации:

1. Киселев О.И. Пандемический грипп в России. I. Диагностика и молекулярно-биологические характеристики вируса / Киселев О.И., Комиссаров А.Б., Стукова М.А., Бузицкая Ж.В., Писарева М.М., Елпаева Е.А., Даниленко Д.М. и др. // **Вопр. Вирусол.** – 2011. – Т. 56, №1. – С.17-21.
2. Даниленко Д.М. Пандемический грипп в 2009 г в России. II. Особенности выделения и биологические свойства вирусов / Даниленко Д.М., Коновалова Н.И., Еропкин М.Ю. и др. // **Вопр. Вирусол.** – 2011. – Т. 56, №2. – С. 4-9.
3. Даниленко Д.М. Сравнительное изучение чувствительности клеточных линий различного происхождения к вирусам пандемического гриппа H1N1v, вирусам гриппа птиц, свиней и человека / Даниленко Д.М., Смирнова Т.Д., Гудкова Т.М. и др. // **Вопр. Вирусол.** – 2011. – Т. 56, №6. – С. 14-19.
4. Даниленко Д.М. Возможности использования поликлональных крысиных антисывороток в антигенном анализе вирусов гриппа человека / Даниленко Д.М., Коновалова Н.И., Прокопец А.В. и др. // **Эпидемиол. и вакцинопрофилактика.** – 2013. – Т.68, №1. – С. 73-79.
5. Sominina A. Influenza surveillance in Russia based on epidemiological and laboratory data for the period from 2005 to 2012 / Sominina A., Burtseva E., Eropkin M., Karpova L., Zarubaev V., Smorodintseva E., Konovalova N., Danilenko D. et al. // **Am. J. Infect. Dis.** – 2013. – V. 9, #3. – P. 77-93.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

- 1) Отзыв на автореферат, подписанный доктором биологических наук Азаевым Мамедьяром Шакировичем, заведующим отделом научно-методической подготовки персонала с возбудителями особо опасных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» и доктором биологических наук

Ильичевой Татьяной Николаевной, заведующей лабораторией серомониторинга гриппа отдела зоонозных инфекций и гриппа ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», пос. Кольцово, Новосибирская область. Отзыв положительный, замечаний нет.

2) Отзыв на автореферат, подписанный доктором биологических наук Ивановой Валерией Тимофеевной, ведущим научным сотрудником лаборатории этиологии и эпидемиологии гриппа ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского», Москва. Отзыв положительный, замечаний нет.

3) Отзыв на автореферат, подписанный доктором медицинских наук Муриной Еленой Александровной, заведующей отделом вирусологии и молекулярно-биологических методов исследования ФГБУ «НИИ детских инфекций» ФМБА России. 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 и произведен в соответствии с требованиями пункта 22 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» №842 от 24.09.2013 г.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- доказана эффективность и целесообразность использования развивающихся куриных эмбрионов в качестве модельной системы при выделении вирусов гриппа подтипа А(Н1N1)pdm09 из секционных материалов;

- введен метод антигенного картирования, рекомендованный ВОЗ, для доказательства антигенной однородности большинства исследованных штаммов A(H1N1)pdm09, циркулировавших на территории РФ в 2009-2013 гг., с эталонным штаммом, кандидатом в вакцинные штаммы, A/Калифорния/07/09;
- проведен объективный анализ возможных путей эволюции вирусов A(H1N1)pdm09 на основе данных филогенетического анализа и анализа сайтов, подверженных позитивной селекции, в генах, кодирующих поверхностные белки вируса – гемагглютинин и нейраминидазу.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- изучены биологические свойства вирусов гриппа A(H1N1)pdm09 – способность к репликации в клеточных линиях человека и животных, интенсивность вирус-индуцируемого апоптоза в клеточных линиях человека, активность нейраминидазы значительного числа штаммов A(H1N1)pdm09 - в сравнении с широким спектром эпидемических вирусов гриппа человека прошлых лет, а также вирусами гриппа свиней и птиц;
- подробно изложены и проанализированы антигенные характеристики всех изученных изолятов, предложены суждения об их антигенной однородности;
- определена нейраминидазная активность широкого спектра вирусов гриппа птиц, свиней и человека, и установлено, что нейраминидаза вирусов гриппа A(H1N1)pdm09 обладает активностью, характерной для эпидемических вирусов гриппа A(H1N1) и вирусов гриппа свиней независимо от системы выделения вируса;
- выявлены основные аминокислотные позиции, подверженные изменениям в ходе циркуляции вируса A(H1N1)pdm09 за пятилетний

период. Эти изменения соответствовали АК заменам, характерным для генетических групп по 3,4,5,6,7 по HA.

- проанализированы сайты в молекулах HA и NA, находящиеся под действием позитивной селекции и описана их значимость для дальнейшей эволюции вирусов гриппа A(H1N1)pdm09. Показано, что для HA основное давление отбора приходится на позиции 222 и 223 в HA1, находящиеся в области рецептор-связывающего сайта, позиция 47 в HA2, ответственная за стабильность тримера HA, в то время как действие селективного отбора на NA на данном этапе циркуляции вирусов не выражено.

-

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

- определена антигенная принадлежность штаммов A(H1N1)pdm09, циркулировавших в России в 2009-2013 гг., что было важно для оценки необходимости обновления штаммового состава гриппозных диагностикумов и вакцин;
- представленные результаты использованы при проведении практических занятий по выделению и идентификации вирусов гриппа учебных курсов ВОЗ по повышению квалификации врачей-вирусологов в мае 2011 г. и ноябре 2013г;
- в рамках сотрудничества с ВОЗ за пятилетний период передано 137 штаммов вирусов гриппа A(H1N1)pdm09 в референс-лаборатории (CDC&P, Атланта, Джорджия, США и NIMR, Лондон, Великобритания) с целью международного мониторинга за гриппом.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- результаты получены с использованием современных методов и сертифицированного оборудования, проходящем плановый и контрольно-технический осмотры;
- теория исследования построена в соответствии с международной системой мониторинга при национальных центрах по гриппу и согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;
- идея исследования базируется на необходимости анализа широкой выборки российских штаммов A(H1N1)pdm09, о чем свидетельствует значительный объем проанализированной литературы по различным аспектам исследуемого вопроса;
- установлено, что полученные в ходе исследования факты не противоречат данным, которые представлены в независимых источниках ранее, при этом существенно расширяют понимание отдельных аспектов изучаемого вопроса;
- использованы современные методики сбора и обработки исходной информации – за пятилетний период изучены 968 штаммов вирусов гриппа A(H1N1)pdm09 с применением современных методов антигенного картирования, молекулярно-биологического и филогенетического анализа, а также компьютерного моделирования сайтов в HA и NA, подвергающихся действию позитивной селекции.

Личный вклад соискателя состоит: в самостоятельном выполнении всех основных разделов работы. Автором проведено выделение, типирование и антигенный анализ большинства исследованных изолятов. Автором впервые в России выполнено антигенное картирование изолятов A(H1N1)pdm09, рекомендованное ВОЗ для представления результатов антигенного анализа выделенных штаммов вирусов гриппа. Все эти данные внесли существенный вклад в усиление надзора за гриппом на территории РФ, и были важны для

принятия решений о необходимости обновления штаммового состава гриппозных вакцин и диагностикумов за исследуемый период. Автором проведен основной объем работ по изучению репродукции вирусов гриппа на клеточных линиях человека и животных и индукции апоптоза. Большая часть исследований, посвященных молекулярно-биологическому и филогенетическому анализу последовательностей HA и NA, а также оценки позитивной селекции, также проведены лично автором. Автором проведена основная статистическая обработка большинства полученных результатов, апробация результатов исследования, а также подготовка основных публикаций по выполненной работе.

На заседании 30 сентября 2014 г. диссертационный совет сделал вывод о том, что диссертация представляет собой научно-квалификационную работу, соответствующую требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., и принял решение присудить Даниленко Дарье Михайловне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 18 докторов наук по специальности 03.02.02. – вирусология, участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, проголосовали:

за присуждение ученой степени - 19 человек;

против присуждения ученой степени – нет;

недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета Д 001.043.01
Академик РАН,
доктор биологических наук, профессор

Киселев Олег Иванович

Ученый секретарь диссертационного совета Д 001.043.01

кандидат медицинских наук

Суховецкая Вера Федотовна

30 сентября 2014 г.