

О результатах публичной защиты диссертации в виде научного доклада

ДЕДКОВА ВЛАДИМИРА ГЕОРГИЕВИЧА

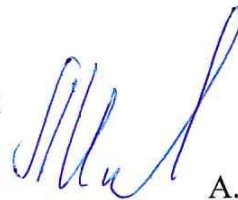
Диссертация в виде научного доклада на тему: «Система молекулярно-эпидемиологического мониторинга для оперативного реагирования на возникающие биологические угрозы», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 1.5.10. Вирусология и 3.2.2. Эпидемиология, выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Диссертационный совет 24.1.255.01 на базе ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) принял решение о присуждении ученой степени доктора медицинских наук по специальностям: 1.5.10. Вирусология и 3.2.2. Эпидемиология **ДЕДКОВУ ВЛАДИМИРУ ГЕОРГИЕВИЧУ** (Протокол № 39 от 17 декабря 2025 года).

Присутствовали: Ишмухаметов А.А. д.м.н., профессор, академик РАН (1.5.10. Вирусология), Еровиченков А.А. д.м.н., профессор (1.5.10. Вирусология), Белякова А.В. к.б.н. (1.5.10. Вирусология), Костинов М.П. д.м.н., профессор, член-корр. РАН (1.5.10. Вирусология), Гордейчук И.В. к.м.н. (1.5.10. Вирусология), Дзагурова Т.К. д.м.н. (1.5.10. Вирусология), Иванов А.П. д.м.н. (1.5.10. Вирусология), Никитин Н.А. д.б.н. (1.5.10. Вирусология), Карганова Г.Г. д.б.н., профессор (1.5.10. Вирусология), Тикунова Н.В. д.б.н., доцент (1.5.10. Вирусология), Козловская Л.И. д.б.н. (1.5.10. Вирусология), Гамбарян А.С. д.б.н. (1.5.10. Вирусология), Колясникова Н.М. д.м.н. (1.5.10. Вирусология), Кюрегян К.К. д.б.н., профессор РАН (1.5.10. Вирусология), Калинина Н.О. д.б.н., профессор (1.5.10. Вирусология), Иванова О.Е. д.м.н. (1.5.10. Вирусология), Лиознов Д.А. д.м.н., профессор (1.5.10. Вирусология), Борисевич И.В. д.м.н., профессор (1.5.10. Вирусология).

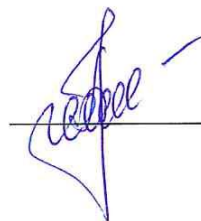
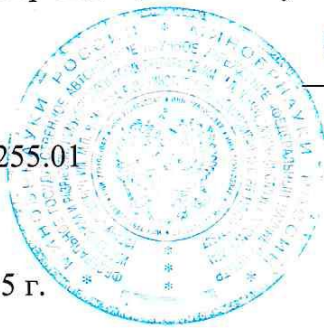
Введенные специалисты по специальности 3.2.2. Эпидемиология: Брико Н.И. д.м.н., профессор, академик РАН (3.2.2. Эпидемиология), Орлова О.А. д.м.н. (3.2.2. Эпидемиология), Марьин Г.Г. д.м.н., доцент (3.2.2. Эпидемиология), Марданлы С.Г. д.м.н. (3.2.2. Эпидемиология).

Председатель диссертационного совета 24.1.255.01
академик РАН, профессор, доктор медицинских наук



А.А. Ишмухаметов

Ученый секретарь
диссертационного совета 24.1.255.01
кандидат биологических наук



А.В. Белякова

«17» декабря

2025 г.

ПРОТОКОЛ № 39

заседания совета по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора наук,
соискание ученой степени кандидата наук
24.1.255.01 на базе ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита)

от 17 декабря 2025 года
11:00 час. МСК.

По списку членов диссертационного совета – 25 чел.

Присутствовало на заседании – 22 чел.

Председатель

диссертационного совета

– Ишмухаметов А.А., академик РАН,
профессор, д.м.н.

Заместитель председателя

диссертационного совета

– Еровиченков А.А., профессор, д.м.н.

Ученый секретарь

диссертационного совета

– Белякова А.В., к.б.н.

Присутствовали члены диссертационного совета:

Костинов М.П. д.м.н., профессор, член-корр. РАН (1.5.10. Вирусология), Гордейчук И.В. к.м.н. (1.5.10. Вирусология), Дзагурова Т.К. д.м.н. (1.5.10. Вирусология), Иванов А.П. д.м.н. (1.5.10. Вирусология), Никитин Н.А. д.б.н. (1.5.10. Вирусология), Карганова Г.Г. д.б.н., профессор (1.5.10. Вирусология), Тикунова Н.В. д.б.н., доцент (1.5.10. Вирусология), Козловская Л.И. д.б.н. (1.5.10. Вирусология), Гамбарян А.С. д.б.н. (1.5.10. Вирусология), Колясникова Н.М. д.м.н. (1.5.10. Вирусология), Кюрегян К.К. д.б.н., профессор РАН (1.5.10. Вирусология), Калинина Н.О. д.б.н., профессор (1.5.10. Вирусология), Иванова О.Е. д.м.н. (1.5.10. Вирусология), Лиознов Д.А. д.м.н., профессор (1.5.10. Вирусология), Борисевич И.В. д.м.н., профессор (1.5.10. Вирусология).

Введенные специалисты по специальности 3.2.2. Эпидемиология: Брико Н.И. д.м.н., профессор, академик РАН (3.2.2. Эпидемиология), Орлова О.А. д.м.н. (3.2.2. Эпидемиология), Марьин Г.Г. д.м.н., доцент (3.2.2. Эпидемиология), Марданлы С.Г. д.м.н. (3.2.2. Эпидемиология).

ПОВЕСТКА ЗАСЕДАНИЯ:

1. Защита диссертации в виде научного доклада ДЕДКОВА Владимира Георгиевича на тему: «Система молекулярно-эпидемиологического мониторинга для оперативного реагирования на возникающие биологические угрозы», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 1.5.10. Вирусология и 3.2.2. Эпидемиология. Работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Научный консультант – Попова Анна Юрьевна, доктор медицинских наук, профессор, руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главный государственный санитарный врач Российской Федерации.

Официальные оппоненты:

Лобзин Юрий Владимирович – академик РАН, профессор, доктор медицинских наук, Заслуженный деятель науки Российской Федерации, Почетный Президент Федерального

государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», выступающий в качестве специалиста по специальности – 1.5.10. Вирусология.

Михайлов Михаил Иванович – академик РАН, профессор, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии вирусных гепатитов Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, выступающий в качестве специалиста по специальности – 3.2.2. Эпидемиология.

Руденко Лариса Георгиевна – доктор медицинских наук, профессор, Заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник отдела вирусологии и иммунологии имени академика РАМН А.А. Смородинцева Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины», выступающий в качестве специалиста по специальности – 1.5.10. Вирусология.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Министерство науки и высшего образования Российской Федерации (105064, Москва, Малый Казенный переулок, д.5А).

1. СЛУШАЛИ: доклад по диссертации в виде научного доклада Дедкова Владимира Георгиевича на тему: «Система молекулярно-эпидемиологического мониторинга для оперативного реагирования на возникающие биологические угрозы», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 1.5.10. Вирусология и 3.2.2. Эпидемиология.

Актуальность темы исследования

Феномен глобализации, т.е. растущий и все более свободный поток информации, товаров, капитала и людей через политические и географические границы, позволяет быстро распространяться инфекционным заболеваниям, как новым, так и давно известным, по всему миру. Распространение болезней в глобальных географических масштабах – явление характерное для всей истории человечества. Примерами таких болезней являются чума, холера, сифилис, грипп различных типов и другие заболевания. На примере пандемии свиного гриппа H1N1 2009 года, тяжелого острого респираторного синдрома и ближневосточного респираторного синдрома, вызванных коронавирусами (SARS-CoV-1 и MERS-CoV) и лихорадки Зика, а также массовой эпизоотии гриппа птиц в 2003-2004 гг., было показано, что чрезвычайные ситуации, связанные с новыми инфекциями, могут представлять серьезную угрозу для человечества, и подчёркивают необходимость новых подходов, к выявлению и мониторингу новых инфекционных заболеваний.

В зависимости от уровня социально-экономического развития, удельный вес смертности от инфекций варьирует от 5% в Европе до 62% в Африке (Всемирная организация здравоохранения, ВОЗ, 2023). В целом в структуре причин смерти на инфекционные болезни приходится около 18,8%.

Важнейшими факторами, усиливающими эпидемиологическую и социально-экономическую значимость инфекционных болезней, являются тенденции развития хозяйственной деятельности человека, которые характеризуются усиленным воздействием на

окружающую среду вредных факторов промышленного производства и биологических отходов жизнедеятельности человека и сельскохозяйственных животных.

Мировые интеграционные процессы и глобализация мировой экономики облегчают миграцию населения из слаборазвитых государств с низким уровнем санитарно-эпидемиологической защиты в развитые страны. В результате этого увеличивается вероятность возникновения вспышек инфекционных болезней, ранее не регистрируемых в странах, принимающих иммигрантов. Ситуация еще более усложняется в связи с бурным развитием международного туризма и экотуризма, которые сопровождаются вторжением в сбалансированные экосистемы, возникновением контактов с животными и членистоногими, являющимися природными резервуарами новых вирусных инфекций.

Данные обстоятельства, в совокупности с резкими социально-экономическими изменениями в последние годы, не способствуют улучшению экологической и санитарно-эпидемиологической обстановки в мире. Наблюдается рост числа заболеваний неясной этиологии на фоне падения напряженности коллективного иммунитета, особенно в условиях высокой плотности населения в мегаполисах.

Санитарно-эпидемиологический надзор за инфекционными болезнями включает систему методов и средств их лабораторной диагностики. Быстрое и точное выявление и характеристика возбудителя инфекционных заболеваний - определяющий фактор для своевременного проведения профилактических и противоэпидемических мероприятий.

Современная лабораторная диагностика инфекционных заболеваний основана на использовании прямых методов выявления возбудителей, их антигенов или нуклеиновых кислот, а также не прямых методов, направленных на выявление специфических факторов гуморального и клеточного иммунитета к патогену. В ряде случаев сходные по первоначальной симптоматике, но существенно различающиеся по смертности и тяжести течения, инфекционные болезни, вызываются разными инфекционными агентами. Часто возникает необходимость исключения патологических аллергических состояний, сходных по клиническим проявлениям с некоторыми инфекционными заболеваниями.

Оперативная дифференциальная лабораторная диагностика инфекционных заболеваний позволяет принимать адекватные, экономически целесообразные меры по предотвращению распространения инфекции. Об эффективности проводимых в Российской Федерации работ в этом направлении свидетельствуют примеры успешного мониторинга и предотвращения распространения завозимых из-за рубежа возбудителей инфекций, таких как холера, тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС), грипп А H5N1, грипп А H1N1 и др.

В эпидемиологическом смысле чрезвычайно высокую опасность представляют собой вирусные инфекции, относящиеся к I группе патогенности и вызывающие высокую летальность: возбудители натуральной оспы, геморрагических лихорадок Марбург, Эбола, Ласса, аргентинской (вирус Хунин), боливийской (вирус Мачупо) и др. Данные патогены хотя и не циркулируют на территории Российской Федерации, но могут быть завезены как гражданами нашей страны после посещения эндемичных регионов, так и гражданами государств Африки и Южной Америки, прибывающих в нашу страну на учебу или с прочими целями.

Следует иметь в виду, что возросшая мобильность и активная хозяйственная деятельность населения в сочетании с отсутствием настороженности в отношении возникновения вспышек инфекционных заболеваний может приводить к возникновению эпидемий особо опасных инфекционных заболеваний. Так в декабре 2013 г. на территории республики Гвинея возникла вспышка лихорадки Эбола, вызванная вирусом Эбола Заир

(ZEBOV), которая распространилась на пять стран, включая Гвинею, Либерию, Нигерию, Сенегал и Сьерра Леоне. Особенностью данной вспышки, переросшей в эпидемию, стало то обстоятельство, что территорией распространения инфекции стала Западная Африка, где ранее циркуляция вирусов рода *Orthoebolavirus* не наблюдалась. По этой причине, и в силу плохого оснащения лабораторной службы, выявление возбудителя произошло с большой задержкой, что привело к запаздыванию соответствующих противоэпидемических мероприятий и распространению инфекции из сельской местности на городские территории с общим количеством населения около 25 миллионов человек. Суммарное количество пострадавших в результате эпидемии 2013-2016 составило 28652, при этом 11325 случаев закончилось летально. Фактически, будучи занесенным в городскую черту, вирус распространялся как контактный антропоноз, при этом оценочное значение показателя базовой скорости репродукции составило около 1,8.

Таким образом, крупнейшая за всю историю изучения семейства *Filoviridae* эпидемия в Западной Африке (2013-2016 гг.), вызванная вирусом ZEBOV, выявила не только недооценку эпидемического потенциала филовирусов, но и недостаточность имеющихся теоретических представлений об их географическом распространении и механизмах функционирования природных очагов.

Не меньшую опасность представляют собой относящиеся ко II группе патогенности вирусы (возбудители клещевого энцефалита, омской геморрагической лихорадки, японского энцефалита, лихорадки Западного Нила, желтой лихорадки, лихорадки Денге, лихорадки Зика, Крымской-Конго геморрагической лихорадки и др.). Инфекционные заболевания, вызываемые этими агентами, относятся к трансмиссивным зоонозам, и формируют в природной среде постоянно проявляющиеся очаги инфекции. Часть из них циркулирует на территории Российской Федерации, часть эндемична в странах, пользующихся популярностью у российских туристов. В этой связи наибольшее количество завозных случаев геморрагических лихорадок приходится на лихорадку Денге, общее количество случаев завоза которой в период с 2013 г. (начало регистрации) по 2023 г. составило 1577 случаев (данные Роспотребнадзора, 2024). С 2019 года и по настоящее время продолжается пандемия новой коронавирусной инфекции COVID-19, обусловленная вирусом SARS-CoV-2. По состоянию на 02.03.2025 года подтверждено 777 594 331 случаев заболевания, при этом 7 089 989 случаев закончились смертельным исходом (ВОЗ). Несмотря на усилия мирового сообщества и объявленную ВОЗ чрезвычайную ситуацию остановить развитие пандемии долго не удавалось. Остается спорным и вопрос о происхождении вируса. При этом исследование вопроса о происхождении вируса фактически не ведется в виду беспрецедентной политизации. Ситуация осложняется тем, что вирус продолжает активно изменяться, что позволяет ему изменять свои биологические свойства, ускользая от постинфекционного и поствакцинального иммунитета, что чрезвычайно затрудняет планирование противоэпидемических мероприятий и требует постоянного широкомасштабного генетического мониторинга для адекватной оценки генетического разнообразия циркулирующих вариантов вируса.

В связи с выше сказанным, необходимость создания Национальной системы молекулярно-генетического мониторинга с целью оперативного реагирования на вновь возникающие угрозы является чрезвычайно важной проблемой, стоящей перед эпидемиологическим сообществом.

Степень разработанности темы

Быстрое появление и распространение SARS-CoV-2 продемонстрировало, насколько важно быть готовыми в будущем к любым случаям возникновения новых заболеваний. Необходимо уметь выявлять новые патогены на ранней стадии и устранять факторы риска, которые способствуют их появлению и распространению. Появление SARS-CoV-2 произошло на фоне роста числа случаев инфицирования патогенами, представляющими высокую угрозу. К таким патогенам следует отнести SARS-CoV-1, MERS-CoV, вирусы Ласса, Марбург, Эбола, Нипах, вирус птичьего гриппа и арбовирусы, такие как вирусы Денге, Зика и Чикунгунья. Существует не только необходимость в надёжном и всеобъемлющем наблюдении и принятии срочных мер для быстрого выявления и смягчения последствий, но и необходимость в надёжных и систематических процессах при организации исследований, необходимых для изучения появления новых патогенов и путей их передачи от естественных резервуаров к людям.

В этой связи расшифровка случаев инфекционных заболеваний неясной этиологии является актуальной проблемой общественного здравоохранения. К сожалению, лишь в весьма небольшой доле случаев таких заболеваний удается получить лабораторно подтвержденный диагноз. До недавнего времени этой проблеме не уделялось достаточного внимания в связи с тем, что большая часть встречающихся в средних широтах инфекционных заболеваний имеет выраженную клиническую картину с хорошо различимой патогномоничной симптоматикой. Однако в последние годы наблюдается рост случаев инфекционных заболеваний, не имеющих характерной клинической картины. В частности, большинство трансмиссивных заболеваний вирусной этиологии часто имеет сходное клиническое течение, особенно на начальном этапе заболевания. В качестве примера можно привести лихорадку Зика, сходную по клиническим проявлениям с лихорадкой Денге и лихорадкой Чикунгунья. Первые два заболевания обусловлены ортофлавивирусами, тогда как лихорадка Чикунгунья вызывается представителем рода *Alphavirus*. При этом природные очаги циркуляции, а также переносчики для всех трех вирусов одинаковы.

В структуре инфекционных заболеваний неясной этиологии ведущую роль играют инфекционные агенты вирусной природы. Высокая изменчивость геномов вирусов и способность адаптироваться к новым хозяевам, в сочетании с климатическими изменениями, а также, изменяющийся характер хозяйственной деятельности человека и процессы глобализации способствуют возникновению эмерджентных вспышек вирусных инфекций, обусловленных как вновь возникающими, так и редкими, либо нехарактерными для данной территории видами вирусов. Вероятно, на сегодняшний день охарактеризован всего лишь один процент от всех вирусов. Согласно данным математического моделирования существует не менее 320 000 видов вирусов млекопитающих, большая часть которых еще не описана. Все они потенциально являются возбудителями инфекционных заболеваний человека и животных. В связи с этим выявление новых вирусов, мониторинг циркуляции известных вирусов и оценка путей их распространения являются одним из жизненно важных аспектов дозорного эпидемиологического надзора, проводимого с целью своевременного реагирования на вновь возникающие угрозы, прогнозирования и раннего выявления вспышек вирусных заболеваний человека и животных.

Не вызывает сомнения тот факт, что наиболее удобным, дешевым и результативным методом лабораторной диагностики инфекционных заболеваний является метод полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с использованием специфических праймеров и ДНК-зондов. Помимо ПЦР-РВ, в последнее десятилетие активно

разрабатываются альтернативные методы молекулярной диагностики, основанные на различных подходах. Тем не менее, ПЦР-РВ все еще остается «золотым стандартом» молекулярной диагностики. Этот подход уже довольно долго и успешно используется, как для исследования представителей отдельных вирусных родов, так и при анализе разнообразия вирусов в различных типах биологического материала. В настоящее время описано значительное количество праймеров, предназначенных для обнаружения определенных вирусных видов. Однако их невозможно использовать в мультиплексных реакциях из-за различных температур отжига праймеров, неспецифической амплификации и потенциальной самокомплементарности. Таким образом, для видового определения вирусов разных родов необходимо проводить большое количество разных ПЦР. Во многих случаях также бывает сложно очертить круг инфекционных агентов, которые могли послужить причиной данного заболевания. Таким образом, для проведения исследований методом специфической ПЦР требуется предварительная гипотеза о наличии конкретных вирусов в образце, в отсутствие которой процесс идентификации патогенов может занять значительное время, что накладывает ограничение на выбор тактики лечения и снижает эффективность противоэпидемических мероприятий. Кроме того, большинство диагностических лабораторий имеет довольно ограниченный спектр наборов, позволяющих выявлять лишь очень небольшое количество инфекционных агентов, наиболее часто встречающихся на данной территории.

Появление технологий массового параллельного секвенирования (или как их часто называют — NGS, Next Generation Sequencing) вызвало революцию в самых различных областях медицины и биологии. Так, полногеномное секвенирование (WGS, Whole Genome Sequencing) вирусов становится все более важным не только для фундаментальных исследований, но и для клинической науки и, в перспективе, лабораторной диагностики.

В то время как полногеномное секвенирование бактериальных геномов является относительно простой задачей, изучение вирусных геномов, будь то выделенных из культуральных проб, или непосредственно из клинических образцов, практически всегда осложняется наличием ДНК-хозяина. Чтобы решить эту проблему, изучение геномов вирусов проводится как путем ультраглубокого секвенирования, так и обогащением нуклеиновых кислот вирусов перед секвенированием. Последнее может осуществляться либо напрямую, либо же путем концентрации вирусных частиц. При этом все эти подходы имеют собственные издержки и сложности.

Так, широко распространен метагеномный подход, позволяющий обнаруживать различные вирусные патогены с использованием так называемого «шот-ган» (англ. «shot-gun») секвенирования, который все более активно применяется для выявления патогенов и для характеристики микробного разнообразия в экологических и клинических образцах. Прямое «шот-ган» секвенирование таких образцов приводит к генерации данных, преимущественно состоящих из последовательностей, относящихся к геномам хозяина и/или других организмов, и лишь с крайне незначительной долей последовательностей искомых вирусных патогенов, что заметно снижает чувствительность эксперимента.

Глубина покрытия, при такого рода экспериментах, недостаточна для обнаружения мутаций резистентности к лекарственным препаратам, а стоимость подобных исследований высока. Таким образом, метагеномное секвенирование обычно проводится только на небольшом количестве образцов, для исследовательских целей.

Альтернативой метагеномным подходам является целевое обогащение определенного вирусного генома(-ов), или их фрагментов перед секвенированием. Так, эффективность

исследования может быть значимо увеличена за счет комбинирования родоспецифичной ПЦР и технологий NGS. ПЦР-амплификация вирусного генетического материала с использованием праймеров, которые являются комплементарными известной нуклеотидной последовательности, является наиболее распространенным подходом для обогащения небольших вирусных геномов, таких как ВИЧ и вирус гриппа. В качестве примера обогащения ПЦР-амплификацией, за которым следует секвенирование, можно привести филогенетический анализ вспышки вируса кори на зимних Олимпийских играх 2010 г. и отслеживание эпидемий лихорадок Эбола и Зика. С помощью секвенирования амплифицированных длинных (2,5–3 т.п.о.) фрагментов была исследована вариабельность генома норовируса и возможность его нозокомиальной передачи среди пациентов нескольких госпиталей во Вьетнаме, что выявило независимые интродукции возбудителя в больницу и внутрибольничную передачу, несмотря на предпринимаемые меры по борьбе с инфекцией.

Известно, что ПЦР-амплификация более подходит для WGS образцов с низкой концентрацией вирусов, чем метагеномные методы. Другие методы, такие как целевое обогащение вирусных последовательностей, могут тоже приводить к хорошим результатам.

Перекрывающиеся ПЦР-ампликоны в сочетании с NGS использовали для секвенирования целых геномов больших вирусов, таких как, например, цитомегаловирус человека. Этот метод имеет ограниченную масштабируемость, так как требуется синтез множества праймеров и большое количество исходной ДНК. Этот факт ограничивает число подходящих образцов, а соответственно и геномов, которые могут быть получены с использованием такого подхода. Например, для амплификации генома вируса Эбола Заир потребовалось 8–19 продуктов ПЦР, а в двух исследованиях норовирусов было необходимо 14 и 22 продуктов ПЦР, соответственно. Однако, для клинической диагностики такой подход является проблематичным из-за значительного объема лабораторной нагрузки, связанной с многочисленными ПЦР постановками, необходимости индивидуальной нормализации концентраций различных ПЦР-продуктов до смешивания, высокой вероятности отказа ПЦР-реакции из-за несоответствия праймера матрице. Поэтому, несмотря на техническую возможность секвенирования вирусов размером вплоть до 250 тысяч н.т., пропорциональная взаимосвязь между длиной генома и технической сложностью делает секвенирование вирусных геномов более 50 тысяч н.т. на основе ПЦР нецелесообразным с использованием современных технологий, в частности для крупных исследований с большим числом образцов, или рутинной диагностики.

Целевое обогащение на зондах (также известное как гибридизация или специфическое обогащение) может быть использовано для секвенирования полных вирусных геномов непосредственно из клинических образцов без необходимости предварительного культивирования или ПЦР. Эти методы обычно включают небольшие РНК- или ДНК-зонды, которые являются комплементарными к референсной последовательности патогенов (или панели эталонных последовательностей). В реакции гибридизации зонды, связанные с твердой подложкой (например, мечеными стрептавидином магнитными частицами), захватывают или «вытягивают» комплементарные последовательности ДНК из общего пула нуклеиновых кислот в образце. Захват сопровождается последующим лигированием адаптеров, специфичных для секвенатора, и небольшим числом циклов ПЦР для обогащения успешно лигированных фрагментов. Этот подход был успешно использован для характеристики клинически значимых вирусов разного размера, таких как вирус гепатита С, вирусы простого герпеса (HSV), вирус ветряной оспы (VZV), вирус Эпштейна–Барр (EBV), вирус герпеса человека 6 (HHV-6) и вирус

герпеса человека 7 (HHV-7). Целевое обогащение возможно, если имеется несоответствие между матрицей и зондом; однако, в то время как ПЦР-амплификация требует только знания фланкирующих областей целевой области, для целевого обогащения путем гибридизации необходима информация о всей внутренней последовательности для дизайна зондов. Однако стоит отметить, что целевое обогащение не подходит для характеристики совершенно новых вирусов, которые имеют низкую гомологию с известными вирусами, и для которых метагеномика, а также и ПЦР с использованием вырожденных (смесь аналогичных, но вариативных) праймеров, может быть лучшим подходом.

Таким образом, разработка подходов к проведению молекулярно-генетического мониторинга является чрезвычайно актуальной проблемой общественного здравоохранения.

Цель исследования: создание системы непрерывного молекулярно-генетического мониторинга для оперативного реагирования на возникающие биологические угрозы.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи

1. Создать концепцию модульного научно-исследовательского комплекса оперативного реагирования на биологические угрозы.
2. Создать алгоритм экстренной разработки средств молекулярной детекции вирусов.
3. С помощью алгоритма разработать диагностические методики в формате ОТ-ПЦР/ПЦР-РВ для выявления генетических маркеров актуальных и опасных инфекций вирусной этиологии.
4. Выработать подход к изучению разнообразия и экологии вирусов позвоночных, обладающих эпидемическим потенциалом.
5. С помощью разработанных подходов дать молекулярно-генетическую характеристику вирусов Эбола Заир, Парамушир, Вад Медани, бешенства, Дугбе.
6. Разработать критерии оценки потенциальной опасности существующих и вновь выявляемых вирусных агентов.
7. С помощью разработанных критериев оценить эпидемический потенциал возбудителей особо опасных инфекций I-II группы патогенности с трансмиссивным и нетрансмиссивным механизмами передачи.

Научная новизна

1. Получены 15 полногеномных последовательностей опасных вирусов Эбола Заир (*Orthoebolavirus*), Крымской-Конго геморрагической лихорадки (*Orthonairovirus*), Нгари (*Orthobunyavirus*), а также вирусов Дугбе (*Orthonairovirus*), Парамушир (*Orthonairovirus*), Вад Медани (*Orbivirus*) – потенциальных возбудителей инфекционных заболеваний человека и животных.
2. Оценено генетическое разнообразие вирусов Парамушир, Вад Медани, Дугбе, Нгари и механизмы его формирования.
3. Впервые показана способность множественной межсегментной внутривидовой реассортации вирусов Парамушир, Вад Медани, Дугбе, Нгари.
4. Разработана концепция модульного научно-исследовательского комплекса своевременного реагирования на биологические угрозы.
5. Создан алгоритм экстренной разработки диагностических систем в формате ОТ-ПЦР-РВ с целью оперативного реагирования на вновь возникающие угрозы инфекционного характера.

6. Разработаны подходы использования высокопроизводительного секвенирования для оперативной расшифровки этиологии инфекционных заболеваний, а также для рутинного генетического мониторинга.

7. Предложена система оценки эпидемической опасности вновь выявляемых и редких инфекционных агентов вирусной этиологии.

Теоретическая и практическая значимость работы

Разработаны молекулярно-диагностические методики для выявления генетических маркеров вирусов рода Эбола и рода Марбург, вируса Ласса, вируса Луйо, вируса клещевого энцефалита, коронавируса SARS-CoV-2, вируса оспы обезьян, нового вакцинного штамма (nOPV2) типа 2 вируса полиомиелита, вируса кори, вируса Нипах, вируса тяжелой лихорадки с тромбоцитопеническим синдромом (SFTSV), вируса Хунин, вируса Хендра, вируса Гуанарито, вируса Мачупо, вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки.

Депонированы в международную базу GenBank NCBI 2 нуклеотидные последовательности вируса ортонайровируса Парамушир, 1 последовательность орбивируса Вад Медани, 2 последовательности вирусов бешенства, 2 последовательности ортобуньявируса Нгари, 2 последовательности ортонайровируса Дугбе, 2 последовательности вируса Эбола Заир.

Разработана методика высокопроизводительного секвенирования вирусов Эбола Заир, Парамушир, Дугбе.

Разработанные молекулярно-диагностические методики послужили основой для создания диагностических наборов АмплиСенс® EBOV-Zaire-F1 (ПУ РЗН 2014/2036), АмплиСенс® FiloA-screen-F1 (ПУ РЗН 2018/7265), АмплиСенс® FiloB-screen-F1, АмплиСенс® RABV-F1, АмплиСенс® LASV-F1 COVID-19Amp (ПУ РЗН 2020/10498), nOPV2-AmpPS (ПУ МИ-RUBY-000108), MPX-AmpPS, MV-AmpPS (ПУ МИ-RUBY-000105), NIPV- AmpPS, HENV-AmpPS, которые внедрены в практику.

Результаты работы представлены в 12 главах монографий.

При написании раздела 5 диссертации в форме научного доклада использованы материалы кандидатской диссертации Сафоновой М.В. «Оценка эпидемического потенциала вируса Кемерово (Р. *Orbivirus*, Сем. *Reoviridae*)» по специальности 03.02.02. Вирусология, 14.02.02. Эпидемиология, выполненной в Федеральном бюджетном учреждении науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера) под научным руководством и личным участием Дедкова В.Г.

Методология и методы исследования

Методологическая основа работы построена в соответствии с поставленной целью исследования с учетом проведенного обзора научной литературы по теме диссертационного исследования. Исследование носило комплексный характер и осуществлялось с применением классических вирусологических, молекулярно-генетических, биоинформатических и эпидемиологических методов.

Положения, выносимые на защиту

1. Предложена концепция модульного научно-исследовательского комплекса своевременного реагирования на биологические угрозы, позволяющая адекватно и оперативно отвечать на возникающие угрозы биологического характера. Созданный алгоритм экстренной разработки средств молекулярной детекции вирусов позволяет разрабатывать диагностические наборы на основе метода ОТ-ПЦР/ПЦР-РВ.

2. Разработаны методики выявления генетических маркеров актуальных и особо опасных возбудителей вирусной этиологии.

3. Разработанные алгоритмы расшифровки этиологии инфекционных заболеваний, а также рутинного генетического мониторинга методами высокопроизводительного секвенирования позволяют оперативно выявлять циркулирующие (в том числе, редко встречающиеся), либо неизвестные ранее патогены, в целях текущего и превентивного эпидемиологического надзора.

4. Генетическим анализом установлено, что происхождение западноафриканских штаммов вирус Эбола Заир, вызвавших эпидемию в Западной Африке в 2013-2015 гг., не несет признаков какого-либо направленного воздействия на геном, и носит естественный характер; потенциальные возбудители заболеваний человека и животных, ортонайровирус Парамушир и орбивирус Вад Медани, способны к множественной межсегментной реассортации.

5. Предложенная концепция оценки эпидемического потенциала вновь выявляемых и редких инфекционных агентов вирусной этиологии позволяет эмпирически оценить их потенциальную опасность и объем дополнительных исследований, необходимых для предотвращения распространения выявленной инфекции.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов исследования основана на использовании современных методологических подходов при выявлении инфекционных агентов вирусной этиологии. В работе использован комплекс современных молекулярно-генетических исследований, объем которых позволил корректно провести статистическую обработку полученных данных.

Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на следующих конференциях с международным участием: Международная научно-практическая конференция «Перспективы сотрудничества государств-членов Шанхайской организации сотрудничества в противодействии угрозе инфекционных болезней» -2015; The International Symposium System Biology and Biomedicine (SBioMed-2016), The 10th International Conference on bioinformatics of genome regulation and structure/systems biology. 2016; The 1st International Conference on North East Asia Biodiversity-2018; Молекулярная диагностика 2017; Молекулярная диагностика 2018 (BGRS/SB-2018); The 11th International Conference; «Молекулярная диагностика и биобезопасность - 2020». На всероссийских конференциях: «Эпидемиологическое благополучие-2021; «Профилактическая медицина-2022» к 100-летию государственной санитарно-эпидемиологической службы России; III Международная научно-практическая конференция по вопросам противодействия новой коронавирусной инфекции и другим инфекционным заболеваниям – 2022; XII Съезд Всероссийского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов -2022; Международный симпозиум - научная конференция «100 лет с именем Пастера» - 2023, IV Международный форум «Дни вирусологии 2023», а также на международных конференциях: ISID Congress 2022 (Malaysia Kuala Lumpur) и 9th International Symposium on Filoviruses 2017 (Marburg, Germany).

Апробация диссертации состоялась на заседании Ученого Совета ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера Роспотребнадзора 18.12.2024 г.

Публикации по теме диссертации в виде научного доклада

По теме диссертационного исследования опубликовано 72 научные публикации, из них статей, опубликованных в Перечне рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней

доктора (Перечень ВАК), а также индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus – 52 (Квартиль WoS/Scopus Q1, Q2, ВАК: K1, K2), научных обзоров – 3, получено патентов на изобретение РФ – 17, кроме того глав из монографий – 14.

Соответствие паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют специальностям 1.5.10. Вирусология и 3.2.2. Эпидемиология. Результаты проведенного исследования соответствуют областям исследований: пунктам 4, 6, 8, 10 паспорта специальности 1.5.10. Вирусология и пунктам 5, 6, 8 паспорта специальности 3.2.2. Эпидемиология.

Личный вклад соискателя

Планирование исследования проводилось лично автором. Основной объем исследования проведен автором работы самостоятельно. Непосредственно автором разработан дизайн диагностических методик в формате обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) для выявления генетических маркеров филовиров, аренавирусов, вируса бешенства, вируса SARS-CoV-2. Автор лично участвовал в проведении клинической апробации разработанных методик, в том числе во время эпидемии лихорадки Эбола в 2014 г. выезжал с целью авторского надзора за использованием методики выявления вируса Эбола Заир в Республику Гвинея.

Непосредственно автором осуществлялась предварительная пробоподготовка для последующего секвенирования высокопроизводительными методами. Также автор осуществлял сборку геномов, сравнительный и филогенетический анализ полученных последовательностей, их аннотацию и депонирование в базу данных GenBank, систематизирование и эпидемиологическую оценку полученных данных.

Отдельные этапы работы выполнены на базе научной группы генной инженерии и биотехнологии Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора (ФБУН ЦНИИЭ), лаборатории молекулярной генетики патогенных микроорганизмов и лаборатории молекулярно-генетического мониторинга Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора (ФБУН НИИЭМ им. Пастера). Концепция оценки эпидемической опасности вновь выявляемых и редких инфекционных агентов вирусной этиологии была разработана совместно с к.б.н. Сафоновой М.В. (ФКУЗ Противочумный центр Роспотребнадзора) и к.б.н. Долговой А.С. (ФБУН НИИЭМ им. Пастера). Помимо прочего Сафонова М.В. и Долгова А.С. внесли существенный вклад в отдельные этапы исследования, за что автор выражает им глубокую признательность.

Выводы

1. Создана концепция модульного научно-исследовательского комплекса оперативного реагирования на биологические угрозы.
2. С помощью алгоритма экстренной разработки средств молекулярной детекции вирусов созданы диагностические методики в формате ОТ-ПЦР-РВ для выявления генетических маркеров актуальных и особо опасных вирусов, соответствующие по своим аналитическим характеристикам лучшим зарубежным аналогам.
3. Разработаны подходы к изучению разнообразия и экологии вирусов позвоночных, обладающих эпидемическим потенциалом.

4. Показано, что штамм вируса Эбола Заир, вызвавший эпидемию в Западной Африке 2013 - 2015 гг. не подвергался «генетическому давлению» и образовался в ходе естественного эволюционного процесса.

5. Установлено, что вирус Парамушир продолжает циркулировать в дальневосточном регионе страны и способен к внутривидовой реассортации и рекомбинации.

6. Впервые показана циркуляция вируса Вад Медани на территории Российской Федерации и его способность к множественной межсегментной реассортации.

7. В ходе изучения биологического материала от лиц с энцефалитами неясной этиологии установлен факт гиподиагностики бешенства.

8. С помощью разработанных критериев оценки потенциальной опасности существующих и вновь выявляемых вирусных агентов показано, что возбудители особо опасных вирусных инфекций I-II группы патогенности, способные передаваться нетрансмиссивно, а также от человека к человеку, обладают высоким эпидемическим потенциалом, в то время как возбудители вирусных инфекций II группы патогенности с трансмиссивным механизмом передачи обладают средним и приближающимся к высокому эпидемическому потенциалу, который ограничивается отсутствием возможности нетрансмиссивной передачи или отсутствием передачи от человека к человеку.

Официальные оппоненты - Лобзин Ю.В. д.м.н., профессор, академик РАН, Михайлов М.И. д.м.н., профессор, академик РАН, Руденко Л.Г. профессор, д.м.н. – *дали положительные отзывы на диссертацию в виде научного доклада.*

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (105064, Москва, Малый Казенный переулок, д.5А) - *дала положительный отзыв на диссертацию.*

Счетная комиссия избрана в составе: председатель – Еровиченков А.А. профессор, д.м.н., члены комиссии Козловская Л.И. д.б.н., Колясникова Н.М. д.м.н.

Результаты тайного голосования: при проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человека, из них 9 докторов по специальности 1.5.10. Вирусология (медицинские науки), 7 докторов по специальности 1.5.10. Вирусология (биологические науки), 2 кандидата наук по специальности 1.5.10. Вирусология (медицинские/биологические науки), участвовавших в заседании, из 21 человека, входящего в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 4 человека доктора медицинских наук по специальности 3.2.2. Эпидемиология проголосовали: за – 22, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Протокол тайного голосования утвержден открытым голосованием - единогласно.

ПОСТАНОВИЛИ: основываясь на результатах тайного голосования присудить ДЕДКОВУ Владимиру Георгиевичу ученую степень доктора медицинских наук по специальностям 1.5.10. Вирусология и 3.2.2. Эпидемиология.

Председатель диссертационного совета 24.1.255.01
академик РАН, профессор, доктор медицинских наук

А.А. Ишмухаметов

Ученый секретарь диссертационного совета 24.1.255.01

кандидат биологических наук

А.В. Белякова

«17» декабря 2025 г.

