

Заключение Комиссии диссертационного совета 64.1.004.01 при Федеральном бюджетном учреждении науки «Московский научно-исследовательский институт им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по кандидатской диссертации Кузнецовой Дарьи Александровны «Роль сидерофора иерсиниахелина в физиологии возбудителя чумы» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. – микробиология

Научный руководитель:

Подладчикова Ольга Николаевна – кандидат химических наук (03.00.04 – биохимия), ведущий научный сотрудник лаборатории природно-очаговых и зоонозных инфекций Федерального казенного учреждения здравоохранения «Ростовский-на-Дону Ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора).

Работа Кузнецовой Д.А. соответствует специальности 1.5.11. – микробиология (медицинские науки).

Работа посвящена изучению роли иерсиниахелина в физиологии возбудителя чумы.

В ходе исследования Кузнецовой Д.А. проведен детальный сравнительный анализ генетических детерминантов сидерофора иерсиниахелина, расположенных в хромосомном *usi* локусе и показана их специфичность для бактерий *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*. На основе нуклеотидных последовательностей генов *usi* локуса предложены праймеры, позволяющие проводить внутривидовую дифференциацию штаммов *Y. pseudotuberculosis* методом ПЦР *in silico* и *in vitro*. С помощью этих праймеров штаммы возбудителя псевдотуберкулеза можно разделить на четыре геногруппы по длине ампликона: 292-257-239-204 п.н.

Разработана и зарегистрирована компьютерная программа «SiderophoreAnalyzer – программа для выявления генов, отвечающих за синтез сидерофоров, в полногеномных нуклеотидных последовательностях энтеробактерий» (свидетельство о регистрации от 03.11.2022 г.).

Впервые с помощью методов молекулярного клонирования соискателем доказано, что сидерофор иерсиниахелин кодируется функционально активными генами *usi* локуса бактерий *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*, а структура терминатора транскрипции *usi* локуса влияет на экспрессию иерсиниахелина.

Соискателем проведен анализ функциональной активности иерсиниахелина в бактериях чумного микроба путем сравнения трех вариантов вакцинного штамма *Y. pestis* EV76 (pMT1, pCD1, pPCP1), различающихся по продукции иерсиниахелина: родительского штамма *Y. pestis* EV76, его мутанта, не продуцирующего этот сидерофор, а также мутанта, комплементированного рекомбинантной плазмидой pSC-A-5EV, содержащей гены биосинтеза иерсиниахелина. На модели этих штаммов показано участие иерсиниахелина в процессах ассимиляции железа и защите бактерий

от токсического действия реактивных форм кислорода. При температуре 26°C в условиях дефицита железа нерсиниахелин секретируется в окружающую среду, способствуя усвоению железа бактериями, при температуре 37°C он остается внутри клеток, защищая их от бактерицидного действия реактивных соединений кислорода. У нерсиниахелина выявлено новое для сидерофоров свойство – способность стимулировать образование геморагий в организме хозяина, которое не было обнаружено у других сидерофоров.

Теоретической значимостью работы является то, что результаты проведенного Кузнецовой Д.А. исследования расширяют представление о роли бактериальных сидерофоров и представляют фундаментальную основу для дальнейшего изучения роли нерсиниахелина в патогенезе чумы и псевдотуберкулеза как одного из факторов вирулентности.

Практическая значимость заключается в том, что получение препаративных количеств и расшифровка структуры нерсиниахелина открывают перспективы создания конъюгатов этого сидерофора с различными антибиотиками. Конструирование подобных противомикробных препаратов нового поколения, избирательное действие которых обусловлено специфичностью рецепторов сидерофоров на поверхности бактерий, на сегодняшний день является одним из направлений борьбы с антибиотикорезистентными микробами.

Разработанные праймеры, позволяющие проводить внутривидовую дифференциацию штаммов *Y. pseudotuberculosis*, целесообразно использовать в эпидемиологическом надзоре для отслеживания популяционной структуры возбудителя псевдотуберкулеза на территории Российской Федерации.

Компьютерная программа «SiderophoreAnalyzer – программа для выявления генов, отвечающих за синтез сидерофоров, в полногеномных нуклеотидных последовательностях энтеробактерий» дает возможность оценить наличие и разнообразие в геномах бактерий сидерофор-зависимых систем ассимиляции железа. Программа внедрена в оперативную работу ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (акт внедрения от 10.10.2024 г.) и ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» (акт внедрения от 10.10.2024 г.).

Материалы диссертации используются в педагогическом процессе в отделе профессиональной переподготовки и повышения квалификации специалистов ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора в программе профессиональной переподготовки для врачей и биологов «Бактериология. Основы безопасной работы с ПБА I-II групп патогенности» и циклах повышения квалификации «Природно-очаговые и другие опасные зооантропонозные инфекционные болезни», «Выявление и типирование возбудителей инфекционных болезней с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР)» (акт внедрения от 25.09.2024 г.).

Достоверность результатов обусловлена использованием различных общепринятых современных методов исследования (бактериологического, биологического, молекулярно-генетического, биохимического), а также достаточным

объемом проведенных исследований. Научные положения и выводы, сформулированные Кузнецовой Д.А., логически вытекают из результатов проведенных экспериментов.

По объему проведенных исследований, их новизне и научно-практической значимости работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. – микробиология.

Комиссия не установила в диссертации и в автореферате фактов некорректного заимствования материалов без ссылок на первоисточники. Результаты проверки с помощью системы «Антиплагиат» показал, что оригинальность текста составляет 95,47%.

Материалы диссертации представлены на конференциях различного уровня: 16th Medical Biodefense Conference (г. Мюнхен, 28-31 октября 2018 г.), II Региональная научно-практическая конференция студентов и молодых ученых «Актуальные вопросы медицинской микробиологии на современном этапе» (г. Ростов-на-Дону, 22 декабря 2018 г.), XII Ежегодный Всероссийский интернет-конгресс по инфекционным болезням с международным участием (7-9 сентября 2020 г.), XII Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены» (г. Ростов-на-Дону, 21-22 октября 2020 г.), Межучрежденческие онлайн конференции «Совершенствование молекулярно-генетических методов индикации и идентификации возбудителей природно-очаговых и зоонозных инфекций, актуальных для юга европейской части России» (30 марта 2021г., 21 февраля 2023 г.), Межрегиональная научно-практическая конференция «Актуальные вопросы эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными заболеваниями на юге России. Ермолевские чтения» (г. Ростов-на-Дону, 9-10 сентября 2021 г.), Международный симпозиум «Yersinia 14» (г. Санкт-Петербург, 26-28 сентября 2022 г.), XV Ежегодный Всероссийский конгресс по инфекционным болезням с международным участием (г. Москва, 27-29 февраля 2023 г.).

По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 3 статьи в ведущих рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, 2 - в других изданиях и 4 в материалах конференций (тезисы), 1 патент, 1 программа для ЭВМ.

Диссертация соответствует профилю Диссертационного совета 64.1.004.01.

В качестве **ведущей организации** предлагается утвердить Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В качестве **официальных оппонентов** предлагаются:

1. Харсеева Галина Георгиевна – доктор медицинских наук, профессор (03.00.07 – микробиология), заведующий кафедрой микробиологии и вирусологии № 2 Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,
2. Дентовская Светлана Владимировна – доктор медицинских наук (03.02.03 – микробиология, 03.01.04 – биохимия), главный научный сотрудник лаборатории микробиологии чумы Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Согласие оппонентов и ведущей организации имеются.

Заключение: комиссия Диссертационного совета 64.1.004.01. рекомендует диссертацию Кузнецовой Дарьи Александровны «Роль сидерофора нерсиннахелина в физиологии возбудителя чумы» по специальности 1.5.11. микробиология к приему к защите.

Заключение подготовили члены Диссертационного совета 64.1.004.01:

Председатель:

Заместитель директора по инновационному развитию и технологиям ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора, доктор биологических наук

 Затевалов Александр Михайлович

Члены комиссии:

Заместитель директора по медицинской биотехнологии ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора, доктор биологических наук, доцент

 Воропаева Елена Александровна

Руководитель Образовательного центра ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора, доктор медицинских наук, профессор

 Миронов Андрей Юрьевич

Ведущий научный сотрудник Исследовательского центра по изучению дифтерии, коклюша и столбняка ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора, кандидат медицинских наук

 Пименова Алена Сергеевна