

О Т З Ы В

на автореферат диссертации Агафоновой Елены Юрьевны
«Вариабельность генома нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль
Тор», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических
наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Актуальность диссертационной работы Агафоновой Е.Ю. не вызывает сомнений: холера, находящаяся на третьем этапе распространения 7-й ее пандемии, остается актуальной проблемой здравоохранения во всем мире и в России. При этом эпидемическими особенностями холеры в России является как возникновение острых локальных вспышек, связанных с заносом инфекции извне вследствие различных видов меж- и внутригосударственной миграции населения, так и регистрация только выделения холерных вибрионов, в основном авирулентных, из объектов окружающей среды.

В этой связи безусловный научный интерес представляет изучение штаммов холерных вибрионов с исследованием структуры генома и функций основных генов, ответственных за эпидемический и пандемический потенциал патогена.

Принципиальным с точки зрения контроля за холерой выступает идентификация специфического маркера - профага СТХφ гена *ctxAB*, при этом для нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, выделяемых ежегодно в различных регионах РФ в поверхностных водоемах и от людей, характерно отсутствие профага СТХφ с генами холерного токсина. Основная потенциальная эпидемическая опасность обусловлена в этом случае возможностью реверсии изолятов в токсигенные за счет приобретения профага СТХφ с генами холерного токсина. В этой связи исследование, проведенное Еленой Юрьевной, позволяющее оценить эпидемическую значимость штаммов *ctxA⁻tcpA⁺*, циркулирующих на территории РФ, представляется актуальным и своевременным. При этом обращает на себя внимание обширность коллекции исследованных штаммов *V. cholerae*. Так, автором показано наличие различающихся генотипов для двух групп нетоксигенных штаммов, - штаммов, характерных для неэндемичных (генотипы *ctxA⁻tcpA⁺VSP⁻* и *ctxA⁻tcpA⁺VSP⁻*) и для эндемичных (*ctxA⁻tcpA⁺VSP⁺*) по холере регионов, что определяет возможность использования этих мишеней для оценки эпидемической значимости изолятов.

Агафоновой Е.Ю. установлено, что геному нетоксигенных штаммов *ctxA⁻tcpA⁺VSP⁻* и *ctxA⁻tcpA⁻VSP⁻* свойственна большая вариабельность, что обусловлено различными типами мутаций в генах острова патогенности VPI-2, острова персистенции EPI, а также в генах коровой области генома *hlyA*, *hapA* и *rtxA*. Одним из важнейших аспектов является трактовка наличия гена *tcpA* у холерных вибрионов *ctxA⁻tcpA⁺VSP⁻*, поскольку полученные Еленой Юрьевной новые данные об отсутствии у таких штаммов островов пандемичности VSP-I и VSP-II свидетельствуют о том, что образование из них эпидемически опасных штаммов практически невозможно в природных условиях и такие штаммы являются эпидемически безопасными.

Автором в работе проведен филогенетический анализ 47 токсигенных и нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 Эль Тор, который позволил выделить три филогенетически обособленные группы нетоксигенных изолятов и установить тесную филогенетическую связь холерных вибрионов $ctxA^-tcpA^+VSP^+$ из эндемичных по холере регионов с токсигенными штаммами. Проведенное исследование открывает новые перспективы изучения популяционной структуры нетоксигенных холерных вибрионов, циркулирующих на территории РФ и сопредельных стран, что может быть использовано для разработки новых молекулярно-генетических способов определения их эпидемической значимости, происхождения и путей заноса.

Не оспаривая по сути мнения автора о том, что филогенетический подход, основанный на анализе характера распределения и локализации SNP, эффективен и позволяет сгруппировать штаммы различного происхождения, следует отметить, что наиболее целесообразным для генетической характеристики популяции является применение комплекса филогенетических методов анализа различных генетических мишеней, что может позволить расширить представления о филогенетических связях между анализируемыми штаммами. Высказанное замечание не снижает общей положительной оценки как самой диссертационной работы Агафоновой Е.Ю., так и ее научного и прикладного значения.

Обращает на себя внимание высокая практическая значимость исследования Е.Ю. Агафоновой, которая обусловлена как разработкой способа оценки эпидемической значимости нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, осуществленной на основе мультиплексной ПЦР, так и созданием экспрессионной генно-инженерной конструкции, открывающей возможность создания на ее основе эффективного штамма-продуцента иммуногенной В-субъединицы холерного токсина, что может служить основой для разработки средств профилактики.

Материалы диссертации изложены автором в 13 публикациях, в том числе в трех статьях, опубликованных в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикации материалов диссертационных исследований, а также в патенте.

В качестве несомненного достоинства диссертационной работы необходимо отметить депонирование сконструированных штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор с измененной продукцией термолабильного гемолизина (KM2041) и иммуногенной В-субъединицей холерного токсина (KM2042) и значительного числа полногеномных нуклеотидных последовательностей.

Выводы диссертации основаны на большом экспериментальном материале, полученном с использованием современных бактериологических и молекулярно-генетических методов, включая секвенирование следующего поколения, достоверны и полностью вытекают из материалов исследований, отражают цель и задачи исследования.

Проведенные Еленой Юрьевной исследования, безусловно, своевременны и имеют большое практическое и теоретическое значение.

Заключение

Диссертационная работа Агафоновой Елены Юрьевны «Вариабельность генома нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология, по актуальности темы, научной новизне, практической значимости результатов, объему исследований, методическому уровню отвечает требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по заявленной специальности.

Зав. лабораторией молекулярно-генетических технологий ФБУН «Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», кандидат биологических наук

Ольга Александровна Фрейлихман
8 апреля 2019 г.

197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14; (812) 233-20-92, e-mail: olgal-7@mail.ru

«Подпись О.А. Фрейлихман заверяю»

Ученый секретарь ФБУН «Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, к.м.н.



Для Трифонова Г.Ф.
документов