

КАЗАКСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ  
ДЕНСАУЛЫҚ САҚТАУ МИНИСТРЛІГІНІҢ

«МАСҒҰТ АЙҚЫМБАЕВ АТЫНДАҒЫ  
ҚАЗАҚ ҚАРАНТИНДІК ЖӘНЕ  
ЗООНОЗДЫҚ ИНФЕКЦИЯЛАР  
ҒЫЛЫМИ ОРТАЛЫҒЫ»

ШАРУАШЫЛЫҚ ЖҮРГІЗУ ҚҰҚЫҒЫНДАҒЫ  
РЕСПУБЛИКАЛЫҚ МЕМЛЕКЕТТІК  
КӘСІПОРЫНЫ

050054 Алматы қаласы, Капальская к-сі, 14  
Тел. +7 (727) 223-38-21, факс: +7 (727)223-38-30  
E-mail: ncorg@kscqzd.kz

28.01.2019г. № 01-05/131



РЕСПУБЛИКАНСКОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
ПРЕДПРИЯТИЕ  
НА ПРАВЕ ХОЗЯЙСТВЕННОГО ВЕДЕНИЯ

«КАЗАХСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
КАРАНТИННЫХ И ЗООНОЗНЫХ  
ИНФЕКЦИЙ ИМЕНИ МАСГУТА  
АЙКИМБАЕВА»

МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

050054 г. Алматы, ул. Капальская, 14  
Тел. +7 (727) 223-38-21, факс: +7 (727) 223-38-30  
E-mail: ncorg@kscqzd.kz

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Крицкого Андрея Александровича «Фенотипический и молекулярно-генетический анализ диагностических и адаптационных свойств генетически измененных штаммов *Vibrio cholerae* O1 биовара El Tor», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология

Холера является одной из актуальнейших проблем последнего десятилетия. Мир живет в период седьмой пандемии этой инфекции, которая среди прочих особо опасных в эпидемиологическом отношении заболеваний, пожалуй, на первом месте по социальной значимости, которая имеет тенденцию к быстрому распространению, вызывая большие экономические потери.

Официальные данные по регистрации холеры являются лишь вершиной айсберга, истинные значения заболеваемости и летальности при этой инфекции намного превышают их. Эксперты ВОЗ сообщают, что ежегодно в мире фиксируются от 3 млн. случаев холеры, в результате чего погибает до 120 тыс. человек. Это расхождение, по мнению исследователей, связано с неполной регистрацией и ограничениями в системах надзора. Регистрируемое число случаев заболеваний не включает оценочные данные в 500000-700000 ежегодных случаев заболеваний, называемых «острой водной диареей», в Юго-Восточной и Центральной Азии. На подаваемую информацию по заболеваемости холерой влияет и боязнь санкций, связанных с путешествиями и торговлей, недоучет больных ослабляет эффективность мероприятий по контролю. К многочисленным особенностям течения современного холерного эпидемического процесса относится огромное количество больных с бессимптомным носительством возбудителя, играющих основную роль в распространении инфекции в популяции людей.

Как отмечает автор, распространение генетически измененных штаммов в эндемичных по холере странах и их периодический занос на территорию Российской Федерации указывает на необходимость изучения генетических основ изменения их диагностически значимых свойств и выяснения причин высокого уровня адаптации к меняющимся условиям окружающей среды, определившего вытеснение ими типичных штаммов. В частности изменение в реакции Фогес–Проскауэра, которая оказалась

000767

слабоположительной, что указывало на снижение у них способности ферментировать глюкозу до ацетоина. Несмотря на важность этих данных для диагностики холеры, генетический механизм изменения продукции ацетоина у природных геновариантов требует установления для оптимизации микробиологического мониторинга холерных вибрионов и конечно, получение новых сведений об адаптационных особенностях холерных вибрионов будет способствовать расширению фундаментальных знаний об изменении структуры и функции генома возбудителя холеры Эль Тор в процессе эволюции. А также, эти сведения создадут реальную основу для разработки новых диагностических методов, с целью оптимизации микробиологических мониторинговых исследований. и возможное выявление нового генетического маркера для детекции измененных штаммов *V. cholerae* O1 Эль Тор.

Диссертант выполнил поставленные перед собой задачи по определению фенотипических и молекулярно-генетических особенностей *V. cholerae* путем: создания набора олигонуклеотидных праймеров, зондов и сконструированных штаммов *E. coli* TOP 10, несущих плазмиду pCR 2.1. с клонированными участками генов холерного вибриона *alsR*, *aphA*, *ctxA*, *hapR*, *recA*, *rpoS*, *toxR*, а также доказательства эффективности использования этого комплекса для определения экспрессии структурных и регуляторных генов в различных штаммах *V. cholerae* O1; установлением для дифференциации биоваров, в реакции Фогес–Проскауэра изменение у всех изученных природных генетически измененных штаммов биоваров *V. cholerae* O1, выделенных на территории Российской Федерации в разные периоды 7-ой пандемии холеры (1993-2014 гг.) и в отличие от типичных изолятов, у 72,2% исследованных геновариантов возбудителя холеры, что реакция Фогес–Проскауэра является слабоположительной, у 27,8% – отрицательной, что указывает на снижение либо отсутствие их способности образовывать ацетоин из глюкозы; определением что, измененная способность к образованию ацетоина у геновариантов возбудителя холеры Эль Тор является следствием делеции единичного нуклеотида (Т в позиции 315) в структурном гене *alsD*, кодирующем ацетолатат декарбоксилазу, а также высокого уровня экспрессии гена *aphA*, негативного регулятора биосинтеза ацетоина, превышающего таковой у типичных штаммов в среднем в 2,5 раза; выявлением зависимости ростовых свойств генетически измененных штаммов от содержания глюкозы при культивировании их на средах в условиях дефицита питательных веществ в отличие от типичных штаммов; доказательства высокого уровня адаптации генетически измененных штаммов *V. cholerae*, в сравнении с типичными изолятами, к действию таких неблагоприятных факторов окружающей среды, как дефицит питательных веществ; выявления различия в экспрессии генов факторов адаптации (*rpoS*, *hapR*) у типичных и генетически измененных штаммов *V. cholerae* O1 биовара El Tor методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени.

Основной целью представленной к защите работы Крицкого А.А. является выявление фенотипических и молекулярно-генетических особенностей генетически измененных штаммов *V. cholerae* O1 биовара El Tor, влияющих на их диагностически значимые и адаптационные свойства, которая была успешно достигнута.

Все вышеизложенное отраженные в настоящей работе свидетельствуют об актуальности разработки и научно-обоснованного подхода к совершенствованию лабораторной диагностики холерного вибриона.

Полученные положительные данные об особенностях фенотипических, молекулярно-генетических свойствах исследованных штаммов холерных вибрионов в работе, дали возможность депонировать в государственную коллекцию патогенных бактерий, которая отражает большую теоретическую и практическую значимость работы соискателя.



В автореферате указан объем выполненных работ, где диссертационная работа изложена на 132 страницах, что содержит введение, обзор литературы, главу с описанием используемых материалов и методов исследования, раздел собственных исследований, заключение, выводы и список литературы, включающий 222 зарубежных и 31 отечественных источников, 12 таблиц и 18 рисунков, соответствующих требованиям структуре и объему диссертации.

Данная научная работа составлена на основании материалов собственных исследований и данных, опубликованных в отечественной и зарубежной литературе, и предназначено для органов и лечебно-профилактических учреждений, участвующих в организации и проведении противохолерных мероприятий, бактериологических лабораторий учреждений, осуществляющих государственный санитарно-эпидемиологический надзор, лечебно-профилактических и противочумных учреждений, для специалистов, занимающихся проблемой холеры, научных работников.

Документ воспринимается цельным и с глубоким пониманием всех проблем, связанных с экологией и микробиологией холерного вибриона и современной лабораторной диагностики холеры.

Считаем, что выбранная тема работы Крицкого Андрей Александровича, является актуальной и имеет важную научную новизну, работа проведена на высоком профессиональном уровне и является обязательным при лабораторной диагностике холеры. Положения, выносимые на защиту кандидатской диссертации Крицкого А.А. достаточно аргументированы и рецензируются положительно.

Таким образом, по актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований, научной и практической значимости диссертационная работа Крицкого А. «Фенотипический и молекулярно-генетический анализ диагностических и адаптационных свойств генетически измененных штаммов *Vibrio cholerae* O1 биовара El Tor», представленная к защите на соискание ученой степени, соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года за № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Директор, д.м.н.

Кандидат медицинских наук

Подписи заверяю:

Ученый секретарь, к.б.н. Кенсе



Т. К. Ерубаяев

Р. С. Мусагалиева

С. К. Умарова

27.02.2019 г.