

## О Т З Ы В

на автореферат диссертации ПЛЕХАНОВА Никиты Александровича  
«Анализ структуры и экспрессии генов факторов адаптации у генетически измененных штаммов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология

Стремительное распространение в мире генетически измененных штаммов холерных вибрионов Эль Тор, сочетающих в себе характерную для этого биовара способность к адаптации к условиям окружающей среды и высокую вирулентность, свойственную представителям классического биовара, определяет риски их проникновения на территорию Российской Федерации и вытекающего возникновения эпидемических осложнений. Случаи завоза таких штаммов уже были неоднократно зарегистрированы в текущем столетии. Для предотвращения их длительного сохранения в объектах окружающей среды необходимо знание молекулярных механизмов адаптации возбудителей к действию различных неблагоприятных факторов. Поэтому не вызывает сомнений актуальность диссертационной работы Н.А.Плеханова, целью которой явилось выявление особенностей в структуре и экспрессии генов, кодирующих факторы адаптации к неблагоприятным воздействиям внешней среды, у штаммов геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор, завезенных в разные годы на территорию Российской Федерации, и анализ их устойчивости к действию стрессовых факторов.

В соответствии с целью автором поставлено 5 задач, которые успешно решены в процессе выполнения работы. Научная новизна представленных материалов состоит в том, что получены приоритетные данные о структуре генов, ответственных за подвижность, биосинтез экзополисахарида, формирования биопленки, глобального стрессового регулятора *rpoS* и ключевых регуляторных генов системы Quorum Sensing *hapR* и *luxO*; выявлены отличия в структуре генов *msh*-кластера штаммов, выделенных в последние 2 десятилетия, от таковых выделенных ранее; установлено отсутствие различий в способности к образованию биопленки между прототипными штаммами с интактным островом пандемичности VSP-II и геновариантами с делециями в этом острове; показана повышенная устойчивость геновариантов к температурному, осмотическому и оксидативному стрессам, при этом раскрыты некоторые механизмы этой повышенной устойчивости.

Большим достоинством диссертации представляется удачное сочетание глубокого биоинформационного анализа нуклеотидных последовательностей отдельных генов и участков генома с изучением штаммов с разными генотипами по фенотипу в условиях стрессорных воздействий включая не только определение их выживаемости, но и уровней продукции различных факторов – холерного токсина, протеаз, гемолизина, фосфолипазы, белков внешней мембраны OmpT/OmpU, экзополисахарида, а также культурально-морфологических свойств, подвижности и способности к биопленкообразованию *in vitro*.

Установленные диссертантом факты указывают на то, что вероятность более или менее длительного выживания в объектах окружающей среды высоковирулентных штаммов холерных вибрионов и их распространения существует даже в условиях умеренного климата нашей страны, поэтому своевременное выявление таких штаммов имеет важное значение для принятия соответствующих мер со стороны санэпидслужб. С этой целью соискателем была разработана и апробирована мультиплексная ПЦР-тест-система, позволяющая одновременно определять серогруппу (O1 или O139), биовар (классический или Эль Тор), токсигенность анализируемого штамма, выявлять геноварианты *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор и дифференцировать их на основе анализа структуры острова пандемичности VSP-II

на изоляты с низким и высоким эпидемическим потенциалом. Предложенный способ защиты патентом на изобретение и, на наш взгляд, является наиболее значимым практическим выходом работы.

Обращает на себя внимание высокий методический уровень проведенных исследований, грамотная интерпретация полученных результатов, достоверность которых не вызывает сомнений. Выводы полностью соответствуют поставленным задачам. Материалы работы были неоднократно представлены на научных конференциях регионального, федерального и международного уровня. По теме диссертации опубликовано 10 работ, в том числе 5 статей в изданиях, рекомендованных ВАК.

Изложенное позволяет заключить, что представленная к защите диссертация Плеханова Никиты Александровича «Анализ структуры и экспрессии генов факторов адаптации у генетически измененных штаммов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных исследований решена важная для отечественного здравоохранения научно-практическая задача идентификации и дифференциации геновариантов возбудителя холеры. По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, объему и методическому уровню проведенных исследований, качеству изложения и репрезентативности фактического материала работа полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК (утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г., № 842, п.9, 10, 13), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, безусловно, заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03. – микробиология.

Ведущий научный сотрудник ФКУЗ  
Ростовский-на-Дону противочумный  
институт Роспотребнадзора,  
доктор биологических наук,  
старший научный сотрудник

Монахова Елена Владимировна

ул. М.Горького, 117/40  
Ростов-на-Дону 344002  
Тел. (863) 240-91-33 раб.  
8 960 4560864 моб.  
e-mail [monakhova\\_ev@antiplague.ru](mailto:monakhova_ev@antiplague.ru)



Подпись Монаховой Е.В.

ЗАВЕРЯЮ

Начальник отдела кадров

Стоян Елена Евгеньевна