

ОТЗЫВ

научного руководителя по диссертационной работе

Макашовой Марина Александровны на тему:

«Анализ взаимодействия *Yersinia pestis* с почвенной микрофауной Горно-Алтайского высокогорного очага чумы», представляемой на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности

1.5.11 – микробиология

Диссертационная работа Макашовой Марины Александровны выполнена в лаборатории молекулярной микробиологии Федерального казенного учреждения науки «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в соответствии с плановой тематикой НИР.

Актуальность выполненного исследования обусловлена тем, что чума по-прежнему представляет угрозу в области здравоохранения, что обусловлено высокой вирулентностью возбудителя, широким распространением природных очагов и сохранением напряженной ситуации по чуме на ряде территорий. Одним из наиболее важных направлений исследований этиологического агента чумы, *Yersinia pestis*, является изучение особенностей экологии и механизмов сохранения во время межэпизоотических периодов в очагах чумы. В соответствии с классическими представлениями о природной очаговости возбудитель чумы сохраняется, циркулируя между носителями и переносчиками, в то же время классическая схема трансмиссии не может объяснить персистенцию *Y. pestis* в течение длительных межэпизоотических периодов. Это позволяет предположить наличие других природных резервуаров возбудителя, наиболее вероятным из которых являются доминирующие члены почвенных биоценозов природных очагов чумы. В связи с этим актуальным является изучение взаимодействий *Y. pestis* с представителями почвенной микрофауны из одного биоценоза эпизоотически активных в настоящее время очагов чумы. Одним из них является Горно-Алтайский высокогорный очаг, в котором циркулируют эпидемически значимые и высоковирулентные штаммы *Y. pestis* основного подвида античного биовара филогенетической линии 4.ANT.

Диссертационное исследование Макашовой М.А. посвящено изучению комплексной характеристики свойств и взаимодействия штаммов *Y. pestis* филогенетической линии 4.ANT с почвенной микрофауной Горно-Алтайского высокогорного очага чумы. В работе приведен обзор современных данных литературы о генетическом разнообразии и географическом распространении штаммов *Y. pestis*, классические и современные представления о механизмах энзоотии чумы в природных очагах. При выполнении диссертационной работы использованы как традиционные микробиологические, так и современные молекулярно-генетические и биоинформатические методы.

М.А. Макашовой установлено, что штаммы *Y. pestis* филогенетической линии 4.ANT античного биовара основного подвида, как и штаммы других линий эволюции этого биовара, зависят от присутствия в среде аминокислот фенилаланина, метионина и треонина, но отличаются от них вариабельностью зависимости от цистеина, тогда как штаммы других филогенетических линий нуждаются дополнительно в лейцине и пролине. С помощью сравнительного анализа полногеномных последовательностей штаммов *Y. pestis* античного биовара в 14 генах метаболических путей серы и цистеина выявлено 19 мутаций, при том, что для большинства эволюционных линий характерен свой мутационный профиль этих генов. В почвах нор грызунов Горно-Алтайского высокогорного очага чумы при анализе последовательной генов рибосомальных РНК установлено присутствие простейших *Acanthamoeba castellanii* и *Dictyostelium sphaerocephalum*, свободноживущих нематоды рода *Panagrolaimus* и семейства Diplogasteroidae. При изучении взаимодействий *Y. pestis* филогенетической линии 4.ANT с почвенной микрофауной, выделенной из Горно-Алтайского высокогорного очага, в условиях эксперимента установлена способность возбудителя чумы сохраняться в ассоциации с амебами *A. castellanii* в отсутствие питательных веществ в течении 22 месяцев без изменения свойств и потери вирулентности. Кроме того, *Y. pestis* филогенетической линии 4.ANT способен формировать биопленку на кутикуле почвенных нематод *Panagrolaimus sp.*, образовывать конгломераты клеток в их пищеварительном тракте, не оказывая значимого влияния на продолжительность жизни нематод. В процессе изучения спектра нематод, паразитирующих в блохах *Citellophilus tesquorum* и *Frontopsylla elatoides* в Тувинском горном очаге чумы, при сравнении последовательностей рибосомальных генов установлена систематическая принадлежность энтомопаразитических нематод к роду *Rubzovinema*. На основе анализа генов 16S рибосомальной РНК и гена домашнего хозяйства *recA* охарактеризована микробиота паразитарной системы нематода-блоха из Горно-Алтайского высокогорного и Тувинского горного очагов чумы, включающая представителей α -протеобактерий, γ -протеобактерий и актиномицетов родов *Cutibacterium*, *Pseudomonas*, *Brevundimonas*, *Wolbachia*.

Материалы диссертации были представлены на 15 всероссийских и международных научно-практических конференциях. По материалам исследования опубликовано 14 печатных работ, включая 1 патент на изобретение, 4 статьи в периодических изданиях из «Перечня ведущих рецензируемых научных журналов, утвержденных ВАК Министерства образования и науки России», из которых 3 статьи опубликованы в журнале, индексируемом в МБД Scopus. Разработаны и утверждены методические рекомендации учрежденческого уровня по получению рекомбинантных биолюминесцентных штаммов *Y. pestis* и *Escherichia coli*. В международной базе данных NCBI GenBank депонированы 29 нуклеотидных последовательностей генов рибосомальных РНК простейших и нематод.

Актуальность выполненной диссертационной работы, ее научная новизна, теоретическая и практическая значимость не вызывают сомнения. Все выводы аргумен-

тированы и достоверны. В работе Макашовой М.А. представлены результаты развернутых исследований фенотипических и генетических свойств и филогенетической принадлежности большого числа штаммов *Y. pestis* из различных природных очагов чумы мира, установлена систематическая принадлежность почвенных простейших и получены новые данные о взаимодействиях *Y. pestis* с почвенной микрофауной, что подтверждает соответствие диссертационного исследования специальности 1.5.11 – микробиология.

Диссертационная работа выполнена на современном методическом уровне с применением современных технологий (секвенирование, методы геномной инженерии), а также традиционных методов микробиологии. Хороший уровень профессиональной подготовки, трудолюбие, целенаправленность, заинтересованность в проведении научных экспериментов и аккуратность в работе позволили Макашовой М.А. получить большое количество новых интересных данных, обеспечивших решение поставленных теоретических и практических задач и достижение цели диссертационного исследования.

Считаю, что диссертационная работа Макашовой М.А. является законченным экспериментальным исследованием, которое соответствует требованиям «Положений о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Российской Федерации, и может быть представлена к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.11 – микробиология.

Научный руководитель,
главный научный сотрудник лаборатории
молекулярной микробиологии
ФКУН Российский противочумный
институт «Микроб» Роспотребнадзора
д.б.н., старший научный сотрудник

Г.А. Ерошенко

«20» сентября 2025 г.

Подпись Г.А. Ерошенко заверяю

ученый секретарь
ФКУН Российский противочумный
институт «Микроб» Роспотребнадзора

О.В. Кедрова

Федеральное казенное учреждение науки «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора). 410005, г. Саратов, ул. Университетская, д. 46.

Тел. (8452) 26-21-31, факс (8452) 51-52-12. E-mail: rusrapi@microbe.ru.