

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 64.1.006.01,  
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО КАЗЕННОГО УЧРЕЖДЕНИЯ  
НАУКИ «РОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ПРОТИВОЧУМНЫЙ ИНСТИТУТ «МИКРОБ» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ  
ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И  
БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ  
УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК**

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 19 июня 2024 г. № 9

О присуждении **Макашовой Марине Александровне**, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

**Диссертация** «Анализ взаимодействия *Yersinia pestis* с почвенной микрофауной Горно-Алтайского высокогорного очага чумы» по специальности 1.5.11 – микробиология принята к защите 18 апреля 2024 г. (протокол заседания № 7) диссертационным советом 64.1.006.01, созданным на базе Федерального казенного учреждения науки «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 410005, г. Саратов, ул. Университетская, 46, приказом Минобрнауки России № 903/нк от 6 августа 2015 года с изменениями в составе совета на основании приказов Минобрнауки России № 661/нк от 30 октября 2020 г и № 561/нк от 03 июня 2021 г.

**Соискатель** Макашова Марина Александровна, 1995 года рождения. В 2018 г. с отличием окончила Саратовский национальный исследовательский университет им. Н.Г. Чернышевского по специальности «Биоинженерия и биоинформатика». С сентября 2018 года по настоящее время работает в ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора в должности младшего научного сотрудника, а с 2023 г. – научного сотрудника лаборатории молекулярной микробиологии.

Диссертация выполнена в лаборатории молекулярной микробиологии отдела микробиологии Федерального казенного учреждения науки «Российский научно-

исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

**Научный руководитель:** доктор биологических наук, старший научный сотрудник **Ерошенко Галина Александровна**, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора

**Официальные оппоненты:**

**Дентовская Светлана Владимировна**, доктор медицинских наук, Федеральное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, руководитель лаборатории микробиологии чумы;

**Шелудько Андрей Вячеславович**, доктор биологических наук, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук», заведующий лабораторией генетики микроорганизмов, дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки **Федеральный исследовательский центр "Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук"**, в своем положительном отзыве, подписанном доктором медицинских наук, профессором **Бываловым Андреем Анатольевичем**, заведующим лабораторией физиологии микроорганизмов Института физиологии Федерального исследовательского центра «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук» и доктором медицинских наук **Бойко Евгением Рафаиловичем**, директором Института физиологии Федерального исследовательского центра «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук», отметила, что результаты представленной работы могут быть востребованы при проведении дальнейших исследований природных резервуаров чумы в почвенных биоценозах иных природных очагов и высказала ряд вопросов и замечаний: 1. Следовало бы указать,

кем и в какое время года проводился сбор проб из почв нор грызунов Горно-Алтайского высокогорного очага чумы (подглавы 4.1. и 5.1); 2. Если представленные в таблицах 3.2, 3.4, 3.5 данные получены не только в данной работе, были бы желательны соответствующие ссылки; 3. Название диссертации не в полной мере охватывает все представленные в работе материалы, так как исследования проводились и с пробами, полученными не только из Горно-Алтайского высокогорного очага чумы; 4. Имеются ли иные, кроме описанных в диссертации, перспективы применения в экспериментальных исследованиях полученных флуоресцентных штаммов *Y.pestis*? В целом диссертация Макашовой Марины Александровны является самостоятельной завершенной, научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной задачи комплексной характеристики свойств и взаимодействия штаммов *Y.pestis* филогенетической линии 4.ANT с почвенной микрофауной Горно-Алтайского высокогорного очага чумы, имеющей значение для развития микробиологии и эпидемиологии возбудителя чумы. Ведущая организация указала, что диссертационная работа Макашовой Марины Александровны полностью соответствуют критериям, указанным в разделе II, п.п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (ред. от 25.01.2024), а автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 «Микробиология».

Соискатель имеет 20 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 14 работ общим объемом 59 страниц (3,7 п.л.), включая 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, 3 из которых представлены в издании K1, 9 тезисов, 1 патент на изобретение. Во всех публикациях Макашова М.А. является первым автором. Публикации отражают все разделы диссертации. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах.

#### **Наиболее значимые работы:**

**1. Макашова, М.А.** Анализ систематической принадлежности простейших из почв Горно-Алтайского высокогорного очага чумы / **М.А. Макашова, Е.Г.**

Оглодин, К.А. Никифоров, Н.А. Шарапова, Г.А. Ерошенко // **Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология.** – 2018. – Т. 18. – № 3. – С. 325–330.

2. **Макашова, М.А.** Длительное сохранение *Yersinia pestis* в ассоциации с *Acanthamoeba castellanii* в эксперименте / **М.А. Макашова**, Е.Г. Оглодин, Л.М. Куклева, Н.А. Шарапова, Е.А. Нарышкина, В.Г. Германчук, Г.А. Ерошенко, В.В. Кутырев // **Проблемы особо опасных инфекций.** – 2022. – № 4. – С. 82–89.

3. **Макашова, М.А.** Влияние *Yersinia pestis* на почвенных нематод *Panagrolaimus sp.* из Горно-Алтайского высокогорного очага чумы / **М.А. Макашова**, Е.Г. Оглодин, Н.А. Шарапова, А.Е. Самойлов, Г.А. Ерошенко, В.В. Кутырев // **Проблемы особо опасных инфекций.** – 2023. – № 2. – С. 127–133.

4. **Макашова, М.А.** Ауксотрофность штаммов *Yersinia pestis* античного биовара и ее генетические основы / **М.А. Макашова**, Л.М. Куклева, Н.С. Червякова, Е.А. Нарышкина, А.В. Коврижников, Г.А. Ерошенко, И.Г. Швиденко, В.В. Кутырев // **Проблемы особо опасных инфекций.** – 2023. – № 4. – С. 96–105.

На диссертацию и автореферат дали положительные отзывы без замечаний:

1. **Твердохлебова Татьяна Ивановна**, доктор медицинских наук, доцент, директор Федерального бюджетного учреждения науки «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека;

2. **Алешин Владимир Вениаминович**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела эволюционной биохимии Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Федерального государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»;

3. **Трухачев Алексей Леонидович**, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии 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;

4. **Корсакова Ирина Игоревна**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник отдела научного и информационно-аналитического обеспечения Федерального казенного учреждения здравоохранения Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что **Дентовская Светлана Владимировна** является признанным специалистом в области микробиологии чумы и других иерсиний; **Шелудько Андрей Вячеславович** – ведущий специалист в сфере молекулярно-биологических исследований микроорганизмов, занимающийся анализом взаимодействий бактерий и растений, изучением адаптации бактерий к обитанию в различных гетерогенных экологических нишах; в ведущей организации работают высококвалифицированные специалисты, изучающие фундаментальные аспекты взаимодействия макро- и микроорганизмов.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

**разработан** новый методический подход по моделированию взаимодействия высоковирулентных эпидемически значимых штаммов *Y. pestis* филогенетической линии 4.ANT с представителями почвенной микрофауны, выделенными на одной и той же эпизоотически активной территории Горного Алтая; и набор рекомбинантных флуоресцентных штаммов бактерий вида *Y. pestis* античного биовара основного подвида и алтайского биовара центральноазиатского подвида для индикации возбудителя чумы в экспериментальных образцах (патент RU 2769790 С1);

**предложено** использовать сконструированные флуоресцентные штаммы *Y. pestis* филогенетической линии 4.ANT с плазмидами pTurboGFP-B и pKatushka-2S для моделирования процесса взаимодействия *Y. pestis* с членами почвенного биоценоза Горно-Алтайского высокогорного очага чумы;

**доказано** участие представителей почвенной микрофауны (акантамеб и свободноживущих нематод) в длительном сохранении и распространении *Y. pestis* в

природных очагах, что является значимым вкладом в решение проблемы выявления природных резервуаров чумы в почвенных биоценозах;

**установлена** систематическая принадлежность энтомопаразитических нематод, определен видовой состав их микробиоты (*Cutibacterium*, *Pseudomonas*, *Brevundimonas*, *Wolbachia*); выявлена полигостальность нематод - паразитов блох, что указывает на их важную роль в регуляции численности блох – переносчиков чумы.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

**установлены** фенотипические и генетические особенности штаммов *Y. pestis* филогенетической линии 4.ANT из Горного Алтая и Тувы в сравнении с изолятами других филогенетических линий античного биовара, которые могут быть использованы в качестве генетических меток для внутривидовой дифференциации штаммов возбудителя чумы; применительно к проблематике диссертации эффективно использован комплекс современных микробиологических, биохимических, молекулярно-генетических методов;

**доказано** широкое распространение в почвах нор грызунов Горно-Алтайского высокогорного очага чумы цистообразующих амёб *A. castellani* и представителей миксомицет *D. sphaerocephalum* и долговременное сохранение в простейших *Y. pestis* без изменения основных свойств и вирулентности патогена;

**раскрыты** особенности биопленкообразования и влияния *Y. pestis* филогенетической линии 4.ANT на свободноживущих нематод из почв нор грызунов. Показана способность штаммов чумного микроба формировать биопленку на поверхности почвенных нематод, что может указывать на их потенциальную роль в процессе распространения возбудителя в пределах почвенного биотопа;

**установлена** локализация возбудителя чумы внутри цист амёб, показывающая возможность использования простейших в качестве защитных ниш от стрессового воздействия окружающей среды;

**проведен** анализ микробиоты паразитарной системы “нематода - блоха” Горно-Алтайского и Тувинского очагов чумы, в составе которой выявлены представители  $\alpha$ -протеобактерий,  $\gamma$ -протеобактерий и актиномицетов.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что: разработана и внедрена методика получения биолюминесцентных штаммов *Yersinia pestis* и *Escherichia coli* с использованием рекомбинантных плазмид pTurboGFP-B и Katushka-2S (методические рекомендации учрежденческого уровня «Получение рекомбинантных биолюминесцентных штаммов *Yersinia pestis* и *Escherichia coli*») и их применения для моделирования процесса взаимодействия *Y. pestis* с членами почвенного биоценоза;**

**созданы флуоресцентные штаммы *Y. pestis* филогенетической линии 4.ANT с плазмидами pTurboGFP-B и Katushka-2S для изучения взаимодействия возбудителя чумы с микро- и макроорганизмами. Сконструированные штаммы депонированы в Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУН Российского противочумного института «Микроб»;**

**определены и депонированы в международной базе данных NCBI GenBank 29 нуклеотидных последовательностей, включающих участки генов, кодирующих рибосомальные РНК почвенных амёб и нематод из Горно-Алтайского высокогорного очага, энтомопаразитических нематод *Rubzovinema sp.* и бактерии *Wolbachia sp.***

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

**результаты получены на сертифицированном оборудовании с привлечением большого объема фактического материала в повторяющихся экспериментах, с использованием комплекса современных микробиологических, биохимических, молекулярно-генетических, биоинформационных и статистических методов;**

**идея базируется на анализе имеющихся сведений о сохранении *Y. pestis* в ассоциации с почвенными простейшими и гипотезе «вертикальной трансмиссии» *Y. pestis*, согласно которой возбудитель чумы может попадать из почвенного биотопа в наземный, используя альтернативную паразитарную систему трансмиссии «энтомопаразитические нематоды – блохи»;**

**использованы современные технологии микробиологии и молекулярной генетики в экспериментах по моделированию взаимодействия штаммов *Y. pestis* филогенетической линии 4.ANT античного биовара основного подвида с членами почвенного биоценоза Горного Алтая и Тувы;**

установлено совпадение авторских результатов по использованию микрофауны организмов, эволюционно приспособленных к обитанию в одном биоценозе и анализу взаимодействия *Y. pestis* с членами почвенной микрофауны Горно-Алтайского очага чумы с результатами, представленными ранее в независимых источниках по данной тематике.

Личный вклад соискателя состоит в: проведении основного объема исследований, анализе литературных источников, планировании экспериментов, получении, анализе и оформлении результатов исследования, написании диссертационной работы, подготовке основных публикаций по теме исследования.

В ходе защиты диссертации были высказаны замечания редакционного характера, задан ряд вопросов.

Соискатель Макашова М.А. согласилась с замечаниями, ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы.

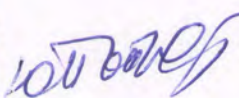
На заседании 19 июня 2024 года диссертационный совет принял заключение: за решение актуальной научной задачи комплексной характеристики свойств и моделированию взаимодействия штаммов *Yersinia pestis* филогенетической линии 4.ANT с почвенной микрофауной Горно-Алтайского высокогорного очага чумы, имеющей значение для развития микробиологии и эпидемиологии возбудителя чумы, присудить Макашовой М.А. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного электронного голосования диссертационный совет в количестве 23 человек, из них 7 докторов наук по специальности 1.5.11 – микробиология (биологические науки), участвовавших в заседании, из 29 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 23 (19 - очно, 4 - дистанционно), против – нет.

19 июня 2024 г.

Заместитель председателя  
Диссертационного совета



 Попов Юрий Алексеевич

Ученый секретарь  
диссертационного совета



Бугоркова Светлана Александровна