

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Никифорова Константина Алексеевича  
«Научное обоснование и разработка комплексной системы молекулярно-генетической  
дифференциации штаммов *Yersinia pestis*», представленной  
на соискание ученой степени доктора медицинских наук  
по специальности 1.5.11 – микробиология

Чума, несмотря на периодическое появление в мире новых биологических угроз, не утрачивает значимости особо опасной инфекции, способной создать чрезвычайную ситуацию в общественном здравоохранении. Циркуляция в природных очагах на территориях России и сопредельных государств различных популяций чумного микроба затрудняет дифференциацию и типирование штаммов *Yersinia pestis*.

Исследование автора диссертации по разработке комплексной системы молекулярно-генетической дифференциации штаммов чумного микроба по их принадлежности к определенным подвидам, биоварам и филогенетическим ветвям актуально, поскольку такая система обеспечит повышение оперативности проведения внутривидовой дифференциации штаммов *Y. pestis* при микробиологическом мониторинге, эпидемиологическом расследовании вспышек и заносов чумы, а также при проведении молекулярно-генетической паспортизации очаговых территорий.

Значительный научный интерес представляет также изучение общего филогенетического разнообразия штаммов чумного микроба, исследование его отдельных филогеографических популяций, установление путей их эволюции и поиск молекулярно-генетических причин избирательной вирулентности возбудителя.

Цель и задачи диссертационной работы сформулированы в соответствии с обозначенными актуальными направлениями исследования.

Материал автореферата позволяет составить при прочтении целостное представление о содержании диссертации, полученных результатах, разработанных методах и их реализации.

Диссертационная работа содержит ряд новых и приоритетных научных данных. Получены данные о глобальном генетическом разнообразии *Y. pestis* филогеографических популяций из природных очагов России и сопредельных государств. Проведено уточнение внутривидовой классификации чумного микроба, согласно которой вид *Y. pestis* включает семь отдельных подвидов, отличающихся по эпидемической значимости; впервые обнаружена уникальная для штаммов центральноазиатского подвида мутация в гене *ubtS*, которая может быть связана и их избирательной вирулентностью.

Получены новые данные о филогеографическом разнообразии штаммов кавказского подвида; разработан способ определения принадлежности штаммов *Y. pestis* к филогенетическим ветвям методом фрагментарного секвенирования; обнаружены специфические мутации в ряде генов, которые могут быть причиной избирательной вирулентности штаммов кавказского подвида.

Получены приоритетные данные о популяционной структуре штаммов *Y. pestis* улегейского подвида; разработан способ определения принадлежности штаммов *Y. pestis* к филогенетическим ветвям улегейского подвида методом фрагментарного секвенирования.

Научно обоснована методология и разработан способ определения принадлежности штаммов *Y. pestis* к отдельным подветвям и кластерам алтайского биовара центральноазиатского подвида методом фрагментарного секвенирования.

Впервые проведен молекулярно-генетический анализ популяционной структуры восточного биовара основного подвида *Y. pestis* из очагов чумы Социалистической Республики Вьетнам по данным полногеномного секвенирования; впервые представлена научно обоснованная теория циркуляция штаммов *Y. pestis* разных генетических ветвей и проведено районирование территорий Вьетнама по распространению SNP-генотипов.

На основании анализа полногеномных последовательностей штаммов *Y. pestis* найдены ДНК-мишени – единичные нуклеотидные полиморфизмы (SNPs), маркерные для различных филогенетических ветвей *Y. pestis* и разработан комплекс аллель-специфических ПЦР-РВ, позволяющих проводить внутривидовую дифференциацию всех основных филогенетических групп *Y. pestis*.

Впервые научно обоснован и разработан способ индикации и идентификации штаммов по их принадлежности к виду *Y. pestis*, подвидам, биоварам, филогенетическим линиям, а также по наличию основных генов патогенности на основе системы мультиплексных ПЦР с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов на твердой подложке; научно обоснована возможность индикации и идентификации штаммов возбудителя чумы по их принадлежности к виду *Y. pestis*, подвидам, биоварам, филогенетическим ветвям и наличию генов основных факторов патогенности методом ДНК-чипа.

Научно обоснована и разработана комплексная система молекулярно-генетической дифференциации штаммов *Y. pestis*, основанная на использовании методов ПЦР-РВ, АС-ПЦР-РВ и мультиплексных ПЦР для быстрого и надежного анализа при проведении микробиологического мониторинга.

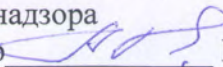
Выполненная диссертация содержит ряд теоретически важных результатов, сформулированных гипотез, научных предположений и перспектив дальнейших исследований.

Практически значимыми являются научно-методические разработки, расширяющие возможности и повышающие эффективность внутривидовой дифференциации штаммов возбудителя чумы, методы, наборы реагентов для качественного выявления ДНК возбудителя чумы в пробах клинического материала, биологического материала, культур микроорганизма с одновременным определением принадлежности к основному и неосновным подвидам, биоварам, а также дифференциации вирулентных изолятов от авирулентных. Необходимо отметить, что комплексная система молекулярно-генетической дифференциации штаммов *Y. pestis* разработана с применением новейших молекулярно-генетических методов, таких как ПЦР-РВ, АС-ПЦР-РВ и мультиплексных ПЦР с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов на твердой подложке. Методы обладают высокой чувствительностью, информативностью и объективностью получаемых результатов и будут способствовать усовершенствованию применяемой в настоящее время системы методов и подходов, используемых для эпидемиологического анализа.

Материалы диссертации широко апробированы на многочисленных конференциях всероссийского и международного уровней. Основное содержание диссертации полностью отражено в 32 опубликованных работах, из них - 13 в периодических изданиях из «Перечня ведущих рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ», одна – в зарубежной печати.

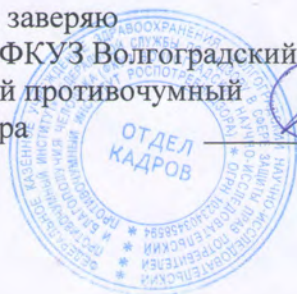
Выводы диссертации соответствуют поставленным цели и задачам и в полной мере отражают основные достижения работы.

Таким образом, диссертационная работа «Научное обоснование и разработка комплексной системы молекулярно-генетической дифференциации штаммов *Yersinia pestis*» является завершённым научно-квалификационным исследованием. По актуальности темы, методическому и научному уровню исследований, научной новизне полученных результатов и практической значимости диссертационная работа соответствует критериям п. 9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. Постановлений Правительства РФ от 30.07.2014 г. № 723, от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 20.03.2020 г. № 426, от 11.09.2021 г. № 1539, от 26.09.2022 г. № 1690, от 26.01.2023 г. № 101, от 18.03.2023 г. № 415, от 26.10.2023 г. № 1786), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор Никифоров Константин Алексеевич заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.11 – микробиология.

Главный научный сотрудник отдела научного  
и информационно-аналитического обеспечения  
ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский  
противочумный институт Роспотребнадзора  
доктор медицинских наук, профессор  Меринова Людмила Константиновна

Федеральное казённое учреждение здравоохранения «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека  
Юридический адрес: 400066, г. Волгоград, ул. Голубинская, д. 7,  
тел. (8442) 37-37-74, e-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Подпись Мериновой Л.К. заверяю  
начальник отдела кадров ФКУЗ Волгоградский  
научно-исследовательский противочумный  
институт Роспотребнадзора  Бяхова Наталья Викторовна



13.11.2023 г.