

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Никифорова Константина Алексеевича на тему «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 относится к особо опасным инфекциям, которая не теряет свою актуальность по способности вызывать чрезвычайные ситуации и в современном мире. Диагноз чумы подтверждают на основе полученных эпидемиологических данных, результатов лабораторного исследования и характерной клинической картины у пациентов. К основным направлениям совершенствования лабораторной диагностики чумной инфекции относится разработка методов на основе современных достижений в геномном, протеомном и биоинформационном анализе, способствующих повышению их специфичности, чувствительности и стандартности, а также своевременности проведения исследований в природных очагах чумы.

В связи с этим цель работы - проведение научно-методического обоснования данных филогенетического анализа и разработка комплексной системы молекулярно-генетической дифференциации штаммов *Yersinia pestis* для повышения эффективности микробиологического мониторинга в очагах чумы, является актуальной.

В автореферате изложена актуальность исследования, определены задачи, научная новизна, практическая и теоретическая значимости, а также положения, выносимые на защиту; приведены сведения об апробации и публикациях. Обоснованность научных положений, выносимых на защиту, выводов и рекомендаций подтверждаются отчетливо проанализированными объективными экспериментальными данными.

Проведение филогенетического анализа штаммов *Y. pestis*, выделенных из природных очагов чумы России, сопредельных государств (Кавказа и Закавказья, Азербайджана, Армении, Грузии, Монголии, Китая), а также Вьетнама, Индии и других эндемичных стран, позволили Константину Алексеевичу обосновать методологию и разработать способ определения принадлежности штаммов чумного микроба к филогенетическим ветвям улегейского подвида, к отдельным подветвям и кластерам алтайского биовара центральноазиатского подвида методом фрагментного секвенирования; обосновать теорию циркуляции штаммов *Y. pestis* разных генетических ветвей по данным полногеномного секвенирования, а также провести районирование территории Вьетнама по распространению SNP-генотипов.

Для молекулярно-генетической внутривидовой дифференциации штаммов *Y. pestis* автор использовал различные варианты молекулярно-генетических методов, в том числе ПЦР-РВ, АС-ПЦР-РВ и мультиплексные ПЦР с гибридационно-флуоресцентным учётом результатов на твёрдой подложке.

Научная новизна заключается в том, что получены новые данные о глобальном генетическом разнообразии *Y. pestis* с учётом филогеографических популяций из природных очагов чумы России и сопредельных государств. Получены новые данные о филогеографическом разнообразии штаммов

кавказского подвида природных очагов Кавказа и Закавказья в России, Азербайджане, Армении и Грузии. Установлено наличие нескольких обособленных филогенетических ветвей *Y. pestis* ssp. *caucasica*, соотносящихся с распространением штаммов на территории природных очагов этих стран. Получены приоритетные данные по популяционной структуре штаммов *Y. pestis* ssp. *ulegeica* из южных, центральных и западных районов Монголии. Научно обоснована методология и разработан способ определения принадлежности штаммов *Y. pestis* к отдельным подветвям и кластерам алтайского биовара центральноазиатского подвида методом фрагментного секвенирования.

Научно обоснована возможность индикации и идентификации штаммов возбудителя чумы по их принадлежности к виду *Y. pestis*, к подвидам, биоварам, филогенетическим ветвям и по наличию генов основных факторов патогенности методом ДНК-чипа.

Разработана комплексная система молекулярно-генетической внутривидовой дифференциации штаммов *Y. pestis*, основанная на широком использовании методов ПЦР-РВ, АС-ПЦР-РВ и мультиплексных ПЦР с гибридизационно-флуоресцентным учётом результатов на твёрдой подложке для быстрого и надёжного анализа в рамках проведения микробиологического мониторинга.

Диссертационная работа имеет большое теоретическое и практическое значение. В результате проведенной работы усовершенствована классификация штаммов *Y. pestis*, согласно которой выделяется семь подвигов различных по эпидемической значимости: основной, тибетский, кавказский, ангольский, центрально-азиатский, цинхайский и улегейский. Получены новые данные о генетических особенностях штаммов центральноазиатского подвида и обнаружены мутации в ряде генов, кодирующих факторы патогенности.

Автором в результате проведенных многочисленных экспериментов подобраны комплекты праймеров для дифференциации основных ветвей эволюции *Y. pestis* методом аллель-специфической ПЦР-РВ и показана возможность их использования для молекулярно-генетической идентификации штаммов из природных очагов чумы с определением принадлежности к основным филогенетическим ветвям и оценки вирулентности. Применение предложенных Никифоровым К. А. методических приемов, будет способствовать повышению эффективности расследования случаев чумы при проведении микробиологического мониторинга в природных очагах России, других стран СНГ и сопредельных государств.

Научно обоснована разработанная автором комплексная система молекулярно-генетической дифференциации штаммов возбудителя чумы, основанная на совокупности методов (ПЦР-РВ, аллель-специфической ПЦР-РВ и системе мультиплексных ПЦР с гибридизационно-флуоресцентным учётом результатов на твёрдой подложке), обеспечивающих дифференциацию подвигов и биоваров *Y. pestis* с разной эпидемической значимостью.

Важно отметить, что диссертационная работа является хорошо организованным и проведенным экспериментальным исследованием, направленным на улучшение определения внутривидовой дифференциации при проведении эпидемиологического расследования вспышек и заносов на территорию России и паспортизации штаммов *Y. pestis* в рамках коллекционной деятельности. Полученные при проведении диссертационного исследования результаты представляют значительный интерес для последующих

фундаментальных исследований при изучении возбудителя чумы, а также будут вносить свой вклад в совершенствование методов и подходов для всестороннего понимания эпидемиологической ситуации инфекционных болезней.

Выводы аргументированы и подтверждают положения, выносимые на защиту. Основное содержание отражено в 29 научных публикациях, в том числе 13 статей в рецензируемых изданиях, 1 публикация в зарубежном журнале, 12 публикаций в сборниках и материалах конференций, 2 патента на изобретения РФ № RU 2734636 C1, RU 2799415 C1 и одна программа для ЭВМ 2021612722 RU. Материалы диссертации включены в коллективные монографии «Актуальные направления и перспективы Российско-Вьетнамского сотрудничества в сфере обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия, 2019», «Специфическая профилактика чумы: состояние и перспективы, 2021», «Атлас природных очагов чумы России и зарубежных государств, 2022».

В диссертационной работе К.А. Никифорова в результате выполнения ряда значимых научных и практических задач была решена важная научная проблема совершенствования микробиологического мониторинга возбудителя чумы за счёт применения комплекса молекулярно-генетических методов. Таким образом, проанализировав автореферат диссертации, следует сделать следующее заключение: выполненное диссертационное исследование является законченной научно-квалификационной работой, в которой получены важные научные и практические результаты для развития микробиологии в области особо опасных инфекций, и отвечающей требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (с изменениями, изложенными в Постановлениях Правительства Российской Федерации от 30 июня 2014 №723, 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024, от 1 октября 2018 № 1168, от 20 марта 2021 № 426, от 11 сентября 2021 № 1539, от 26 сентября 2022 № 1690, от 26 января 2023 № 101, от 18 марта 2023 № 415), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а её автор Никифоров Константин Алексеевич заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.11 – Микробиология.

Главный эксперт
Федерального государственного
бюджетного учреждения «Научный центр
экспертизы средств медицинского
применения» Минздрава России,
доктор медицинских наук

Саяпина Лидия Васильевна

Адрес организации:
127051, г. Москва,
Петровский бульвар, д.8, строение 2
Тел: 499-241-91-47,
E-mail: Sayapina@expmed.ru

Подпись Саяпиной Лидии Васильевны удостоверяю:
Главный специалист по кадрам
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России



Курышева М.А.
«16» 11 2023 г.