

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Вагайской Анастасии Сергеевны
«Бактериальные тени *Yersinia pestis*», представленной на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальностям

1.5.11 – микробиология

1.5.6. – биотехнология

Чума природно-очаговое острое инфекционное заболевание, вызываемое *Yersinia pestis*. На территории России имеются 11 природных очагов чумы. Природные очаги чумы имеются так же на территории сопредельных стран, что позволяет предположить завоз инфекции.

Смертность от бубонной чумы до сих пор достигает 10 % и превышает 40 % при легочной форме заболевания.

Убитые и живые чумные вакцины первого поколения спасли десятки миллионов людей, но имеют ряд недостатков. Иммуный ответ на введение вакцины на основе штамма *Yersinia pestis* EV НИИЭГ сохраняется всего один год. Также ряд недостатков имеют и другие вакцины. Таким образом совершенствование методов профилактики и лечения чумы является весьма актуальным.

Задачи исследования сформулированы логично и адекватны поставленной цели.

Научная новизна работы. Сконструирован набор литических плазмид, несущих различные комбинации гена белка E бактериофага фХ174 с кассетами литических генов систем «холин - эндолизин» бактериофага λ или чумного диагностического бактериофага Л-413С.

При сравнительной оценке эффективности фаговых литических ферментов сконструированных плазмид на модели кишечной палочки и чумного микроба получены бактериальные тени (БТ) с различной степенью редукции пептидогликана клеточной стенки. Установлена наименьшая литическая способность белка E бактериофага фХ174 и максимальная степень деструкции пептидогликана после воздействия холина и эндолизина чумного диагностического бактериофага Л-413С или комбинации белка E, холина и эндолизина бактериофага Л-413С.

Установлено, что гидролиз пептидогликана в составе бактериальных теней чумного микроба сопровождается достоверным повышением протективной активности препарата в отношении морских свинок, коррелирующее с значительным повышением уровней IFN- γ в спленоцитах животных, иммунизированных препаратом УК-БТ и особенно ЕУК-БТ.

Показано, что моделирование бубонной чумы у беспородных мышей в условиях УББ (уровня биологической безопасности) 2 лаборатории путем подкожного введения штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ и декстрана железа можно использовать для изучения протективности кандидатных вакцинных препаратов на ранних стадиях разработки.

Достоверность результатов, полученных автором в работе, подтверждена значительным объемом объектов исследования, постановкой экспериментов в нескольких повторах. Работа выполнена на сертифицированном и прошедшем метрологическую поверку оборудовании. В работе использовали молекулярно-биологические, микробиологические, генетические, иммунобиологические и биотехнологические методы, а также методы статистической обработки данных.

Теоретическая значимость исследования состоит в получении новых данных о хозяйской специфичности противочумного иммунитета, индуцированного введением препаратов бактериальных теней из штамма чумного микроба, не содержащего основные иммунодоминантные антигены: капсульный антиген F1 (CaF1) и/или V антиген (LcrV), а также влияние степени редуцированности пептидогликана клеточной стенки чумного микроба в составе БТ на напряженность формируемого иммунного ответа у морских свинок. Предложен новый морфотип БТ – «бактериальные мешочки», характеризующийся отсутствием пептидогликанового каркаса, и выдвинута гипотеза механизмов его формирования.

Обоснован компонентный состав прототипа чумной полигостальной вакцины, включающей препарат БТ из бесплазмидного аттенуированного штамма *Y. pestis* KM 260(12) Δ *lpxM*/pEYR-E-Y-K и иммунодоминантные антигены чумного микроба – капсульный антиген F1 и антиген вирулентности V. Разработаны основные приемы наработки препарата бактериальных теней из аттенуированных штаммов чумного микроба с использованием фаговых литических ферментов. Оптимизированы методические приемы моделирования бубонной чумы с использованием декстрана

железа у лабораторных животных, зараженных аттенуированными Δpgm штаммами *Y. pestis*.

Практическая значимость работы заключается в депонировании в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» (п. Оболенск Московской обл.) семи штаммов:

Y. pestis subsp. *pestis* KM260(12) $\Delta lpxM/pEYR'$ -E-Y-K, несущего плазмиду pEYR'-E-Y-K с геном белка E бактериофага $\phi X174$ и кассетой литических генов систем «холин - эндолизин» чумного диагностического бактериофага Л-413С, а также *Escherichia coli* DH5 α /pEYR', *E. coli* DH5 α /pEYR'-E, *E. coli* DH5 α /pEYR'-Y-K, *E. coli* DH5 α /pEYR'-E-Y- K, *E. coli* DH5 α /pEYR'-Sam7-R-Rz и *E. coli* DH5 α /pEYR'-E-Sam7-R-Rz – штаммы, несущие литические плазмиды pEYR', pEYR'-E, pEYR'-Y-K, pEYR'-E-Y-K, pEYR'- Sam7-R-Rz и pEYR'-E-Sam7-R-Rz, соответственно (федеральный уровень внедрения). Тек же подготовлены методические рекомендации «Получение бактериальных теней из аттенуированных штаммов *Yersinia pestis*» (утверждены директором ФБУН ГНЦ ПМБ 31.05.2023 г., протокол № 3) (учрежденческий уровень внедрения).

Материалы диссертационной работы используются при подготовке кадров высшей квалификации и для слушателей курсов профессиональной переподготовки и повышения квалификации ФБУН Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора при чтении лекций и проведении практических занятий в рамках основной профессиональной образовательной программы подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по направлению 15.1. – Биологические науки, профиль 15.1.11. – микробиология и программы дополнительного профессионального образования «Микробиология. Основы биологической безопасности и практика работ с микроорганизмами I-IV групп патогенности».

На защиту вынесены только те положения и результаты экспериментов, в получении которых роль автора была определяющей.

Материалы диссертации широко представлены на конференциях всероссийского и международного уровней. По материалам диссертационной работы опубликовано 13 научных работ, в том числе 5 статей в научных журналах и 8 тезисов в материалах международных и Всероссийских научных конференций.

В целом автореферат написан доступным научным языком, материал изложен логично и аргументировано, а результаты иллюстрированы информативными рисунками и таблицами. Выводы обоснованы и полностью соответствуют поставленным задачам. Принципиальных замечаний к содержанию автореферата нет.

Таким образом, диссертационная работа Вагайской Анастасии Сергеевны является завершенной научной квалификационной работой. По актуальности темы, методическому и научному уровню исследований, новизне и практической значимости полученных результатов диссертационная работа «Бактериальные тени *Yersinia pestis*» соответствует критериям п. 9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в ред. Постановлений Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016, № 748 от 02.08.2016, № 650 от 29.05.2017, № 1024 от 28.08.2017, № 1168 от 01.10.2018, №426 от 20.03.2020 г., №1539 от 11.09.2021 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Вагайская Анастасия Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.11 - «Микробиология» и 1.5.6 - «Биотехнология».

Директор

ФГКУЗ «ПЧС Республики Крым» Роспотребнадзора,

кандидат медицинских наук

(14.00.35 - аллергология и иммунология), доцент

Сергей Николаевич Тихонов

Федеральное государственное казенное учреждение здравоохранения "Противочумная станция Республики Крым" Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Адрес: 295023, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Промышленная, 42

Телефон - 8-365-2620417, 8-978-936-81-05 Факс: - 8-365-251-64-03

E-mail: Krimpchs@mail.ru

Подпись директора ФГКУЗ «ПЧС Республики Крым» Роспотребнадзора,

Тихонова Сергея Николаевича заверяю:

Юрисконсульт ФГКУЗ «ПЧС Республики Крым»

Роспотребнадзора

Наталья Георгиевна Бабенко

«11» декабря 2023 г.

