

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 350.002.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ
МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО
НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ
ЧЕЛОВЕКА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 08.04.2016 г. № 5

о присуждении Коршенко Виктории Александровне, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Антилактоферриновая активность холерных вибрионов» по специальности 03.02.03 – микробиология принята к защите 22.12.2015 г., протокол № 3 диссертационным советом Д 350.002.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, Оболенск, приказ о создании №714/нк от 02.11.2012 г.

Соискатель Коршенко Виктория Александровна 1985 года рождения, в 2008 г. окончила Южный федеральный университет по специальности «Биология», работает в Федеральном казенном учреждении здравоохранения «Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, отдел профессиональной переподготовки и повышения квалификации специалистов, научный сотрудник.

Диссертация выполнена в отделе профессиональной переподготовки и повышения квалификации специалистов Федерального казенного учреждения здравоохранения «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный

институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Научный руководитель – доктор медицинских наук Черепяхина Ирина Яковлевна, Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, отдел профессиональной переподготовки и повышения квалификации специалистов, ведущий научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

Афанасьев Станислав Степанович, Заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, заместитель директора по биотехнологии;

Яговкин Эдуард Александрович, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник, Федеральное бюджетное учреждение науки «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, зам. директора по научно-производственной деятельности дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации в своем положительном заключении, подписанном Викторовым Дмитрием Викторовичем, доктором биологических наук, доцентом, заместителем директора по научно-экспериментальной работе, и Захаровой Ириной Борисовной, кандидатом биологических наук, доцентом, заведующей лабораторией геномики и протеомики, указала, что диссертация является завершённой

научно-квалифицированной работой, в которой изучена роль антилактоферриновой активности в персистенции холерных вибрионов, относящихся к разным биоварам и серогруппам с разной степенью эпидемической значимости. По глубине содержания, новизне и научно-практической значимости работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней и присвоения ученых званий» (Постановление Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Соискатель имеет **24** опубликованные работы, в том числе по теме диссертации **17** работ, в том числе опубликованных в рецензируемых научных изданиях - **4** статьи и **13** работ, опубликованных в материалах научных конференций и симпозиумов. Авторский вклад Коршенко В.А в написание научных работ составляет 85 %.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Балахнова, В.В. Роль антикомплементарной активности в реализации персистентных свойств холерных вибрионов / В.В. Балахнова, И.Я. Черепихина, О.С. Бурлакова, Р.В. Писанов, В.А. **Подройкина***, Е.В. Сизова // **Здоровье населения и среда обитания.** – 2010 – №7. - С.11-14.

2. Балахнова, В.В. К вопросу о природе антикомплементарной активности холерных вибрионов / В.В. Балахнова, Р.В. Писанов, И.Я. Черепихина, О.С. Бурлакова, **В.А. Подройкина***, Е.В. Сизова, Л.П. Алексеева, В.В. Евдокимова // **Здоровье населения и среда обитания.** - 2010. - №6. — С.14-16.

3. **Подройкина***, **В.А.** Роль антилактоферриновой активности в персистенции холерных вибрионов / **В.А. Подройкина**, В.В. Балахнова, Н.Р. Телесманич, И.Я. Черепихина // **Здоровье населения и среда обитания.**- 2011. - №6. - С. 46-48.

* Фамилия Подройкина В.А. изменена на Коршенко В.А.

4. **Коршенко, В.А.** Роль антилактоферриновой активности в адгезии холерных вибрионов / **В.А. Коршенко**, И.Я. Черепихина, О.А. Якушева, Л.П. Алексеева // **Фундаментальные исследования.** - 2015. - №1 (часть 5). – С. 967-971.

На диссертацию и автореферат поступили положительные отзывы без замечаний от: (1) канд. мед. наук **Киреева Юрия Георгиевича**, директора Северо-Кавказской противочумной станции Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону; (2) канд. мед. наук **Мироновой Лилии Валерьевны**, зав. лабораторией холеры Иркутского ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, г. Иркутск; (3) канд. мед. наук **Васильевой Оксаны Васильевны**, научн. сотрудника лаборатории диагностики холеры и других кишечных инфекций Ставропольского противочумного института Роспотребнадзора, г. Ставрополь; (4) д-ра мед. наук, старшего научн. сотрудника **Савельева Вилория Николаевича**, зав. лабораторией диагностики холеры и других кишечных инфекций Ставропольского противочумного института Роспотребнадзора; **Савельевой Ирины Вилориевны**, старшего научного сотрудника научно-производственной лаборатории препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций того же учреждения, г. Ставрополь; (5) канд. биол. наук **Поляковой Анны Владимировны**, доцента кафедры биохимии и микробиологии Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Иванковского Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что:

Заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор **Афанасьев С.С.** является компетентным специалистом в сфере микробиологии возбудителей кишечных инфекций, в частности, анализа их фенотипических и генотипических свойств и характеристики особенностей микробиоценоза кишечника. Имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Коршенко В.А. (**Астрах. мед. журн.** – 2011. – Т.6. №2. – С.124-128; **Астрах. мед. журн.** - 2014. – Т.9. №1. – С.49-55; **Иммунопатол. алергол. инфектол.** – 2012. - №1. – С.27-36; **Бюлл. Вост.-Сиб. науч. центр. Сиб. отд. Росс. акад. мед. наук.** – 2012. - №5-1 (87). – С.250-253).

Доктор медицинских наук, старший научный сотрудник **Яговкин Э.А.** является признанным специалистом в области микробиологии, эпидемиологии, им-

мунологии и биотехнологии патогенных микроорганизмов, в том числе – возбудителей холеры, кишечных инфекций, внутрибольничных инфекций, и имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Коршенко В.А. (**Журн. микробиол. эпидемиол. иммунол.** – 2012. - №6. – С.81-85; ISBN 978-5-86216-362-0. – 2014. – 82 с; **Итог. перспект. изуч. пробл. инф. паразитар. бол.** – 2015. – С.102-106; **Эл. реценз. науч.-практ. журн. МедиАль.** – 2014. - №3. – С.82).

Назначение ведущей организации обосновано широкой известностью ее достижений в области микробиологии возбудителей особо опасных инфекций, в частности, молекулярно-генетической характеристики *Vibrio cholerae*, анализа особенностей модификации фенотипа и генотипа возбудителя холеры, а также наличием публикаций (**Инф. иммун.** – 2012. – Т.2. - № 1-2. – С. 313; **Эпидемиол. инф. бол.** – 2014. – Т.18. - №3. – С.34-39; **Дальневост. журн. инф. патол.** – 2014. - №25(25). – С. 137-139; **Эпидемиол. инф. бол.** – 2015. – Т.20. - №3. – С.47-50; **Mol. Genet. Microbiol. Virol.** – 2015. – V.30. – Iss. 3. – P. 114-123; **Мол. ген. микробиол. вирусол.** – 2015. – Т.33. - № 3. – С. 9-16).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработан метод оценки уровня адгезии холерных вибрионов на модели культур клеток аденакарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu 80, подобраны критерии оценки уровня адгезии холерных вибрионов;

предложено использование модели клеточной линии аденакарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu 80 для количественной оценки адгезивной активности холерных вибрионов;

доказано наличие антилактоферриновой активности у холерных вибрионов различных биоваров и серогрупп; наличие различий в уровнях антилактоферриновой активности у *Vibrio cholerae* El Tor, *Vibrio cholerae* O139 и *Vibrio cholerae classical*;

введены новые понятия о механизме действия антилактоферриновой активности: доказано участие в механизме антилактоферриновой активности углеводных лектиновых рецепторов как связующего звена между лактоферрином и клетками холерного вибриона, показано участие гемагглютинин/протеазы в проявлении антилактоферриновой активности.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны положения, вносящие вклад в учение об инфекции (описание механизма персистенции возбудителя холеры в различных экологических нишах, сопровождаемой разными уровнями антилактоферриновой и адгезивной активности; выявление у эпидемически значимых вибрионов Эль Тор с генотипом *ctxAB tcpA*⁺ наиболее выраженного персистентного потенциала по сравнению с эпидемически неопасными штаммами) и способствующие совершенствованию эпиднадзора за этой актуальной для здравоохранения инфекцией;

применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов) использованы микробиологические методы (культивирование микроорганизмов, идентификация бактерий), биологические методы (определение на модели холерной инфекции на кроликах-сосунках уровня лактоферрина и антилактоферриновой активности до и после заражения *V. cholerae*), культуральные методы (определение на культуре клеток Нер-2 и NuTu 80 адгезии холерных вибрионов);

изложены доказательства наличия высоких показателей антилактоферриновой активности у эпидемически значимых штаммов вибрионов Эль Тор, выделенных от людей (больных, вибрионосителей), что косвенно указывает на возможную роль антилактоферриновой активности в патогенезе холеры в числе «малых факторов» патогенности;

изучены свойства потенциально эпидемически опасных вибрионов ЭльТор с генотипом *ctxAB tcpA*⁺, обладающих максимально выраженной способностью к продукции антилактоферринового фактора, и высказана гипотеза о значительной роли данного признака для персистенции этой группы вибрионов;

проведена модернизация методики изучения антилактоферриновой активности у условно-патогенных микроорганизмов для исследования штаммов холерных вибрионов.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

в Государственной коллекции патогенных бактерий Российского-научно-исследовательского противочумного института «Микроб» Роспотребнадзора (ГКПБ) депонирован авторский штамм *V. cholerae* P-18775 серогруппы O1 биовара Эль Тор, обладающий высокой антикомплементарной и антилактоферриновой активностью (номер в коллекции КМ275). Справка о депонировании № 2014149782 от 9.12.2014 г - федеральный уровень внедрения;

разработаны методики, позволяющие изучать персистентные свойства холерных вибрионов с использованием методических приемов, адекватных с точки зрения требований биологической безопасности при работе с микроорганизмами II группы патогенности, изложенные в Методических рекомендациях «Методика создания условий стресса для холерных вибрионов при изучении персистентного потенциала возбудителя холеры» (утверждены Ученым Советом и директором Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора 04.12.2014 г., протокол №12 от 04.12.2014г.) – учрежденческий уровень внедрения;

и в Методических рекомендациях «Изучение свойств, обуславливающих персистенцию холерных вибрионов» (утверждены Ученым Советом и директором Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора 20.11.2009 г., протокол №10 от 20.11.2009г.) – учрежденческий уровень внедрения;

результаты диссертационной работы используются в Ростовском Государственном медицинском университете Минздрава РФ на кафедре микробиологии при чтении лекций и проведении практических занятий (Акт о внедрении от 7.10.2015 г.) – межведомственный уровень внедрения;

результаты диссертационной работы используются в Ростовском-на-Дону противочумном институте Роспотребнадзора для определения уровня адгезии хо-

лерных вибрионов в культуре клеток Нер-2 и NuTu-80 (Акт внедрения от 03.04.2015 г.) – учрежденческий уровень внедрения.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

результаты исследования получены в экспериментах с использованием сертифицированного оборудования и программного обеспечения, при этом применены современные методы микробиологии - культуральные, молекулярно-биологические и иммунологические, а также методы статистической обработки данных;

идея диссертационного исследования базируется на анализе имеющихся в литературе данных об актуальности исследований, касающихся роли персистенции в адаптации микроорганизмов к различным экологическим нишам, в том числе - холерных вибрионов, приобретших в процессе эволюции ряд свойств, способствующих длительному переживанию как в организме человека, так и в объектах окружающей среды;

использовано сравнение авторских данных с опубликованными ранее в научной литературе - относительно наличия или отсутствия антилактоферриновой активности у штаммов III-IV групп патогенности;

установлено совпадение полученных автором результатов (высокий уровень антилактоферриновой активности у микроорганизмов III-IV групп патогенности способствует формированию бактерионосительства, что также наблюдается у штаммов холерных вибрионов: более высокий уровень антилактоферриновой активности определяется у штаммов, выделенных от вибрионосителей; гемагглютинин/протеаза холерных вибрионов расщепляет лактоферрин на два крупных фрагмента) с опубликованными ранее в научной литературе данными других авторов;

использованы современные методы получения и обработки информации.

Личный вклад соискателя состоит в:

планировании и выполнении экспериментов по определению уровня антилактоферриновой активности *in vivo* и *in vitro*, определении влияния различных

видов стресса на уровень антилактоферриновой активности, проведении опытов по определению роли лектинов холерных вибрионов в процессе связывания лактоферрина, статистической обработке, анализе и интерпретации результатов, а также в подготовке научных публикаций по результатам исследований. Автор принимала участие в планировании и проведении экспериментов по определению генов персистенции с помощью ПЦР, совместно с сотрудниками группы молекулярной биологии и лаборатории биохимии микробов Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института Роспотребнадзора д.б.н., с.н.с. Монаховой Е.В. и к.м.н., с.н.с. Водопьяновым А.С. Электрофоретические исследования проводили совместно с сотрудником лаборатории биохимии микробов к.б.н., с.н.с. Дувановой О.В. Эксперименты по определению уровня адгезии на культуре клеток Нер-2 и NuTu-80, проводили совместно с сотрудниками лаборатории гибридом зав. лабораторией, д.б.н., профессором Алексеевой Л.П., н.с. Якушевой О.А.

На заседании 08.04.2016 г. диссертационный совет принял решение присудить Коршенко В.А. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17- человек, из них 9 докторов наук по специальности 03.02.03 – микробиология, участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 17 против нет, недействительных бюллетеней нет.

Председатель

диссертационного совета



(Шемьякин Игорь Георгиевич)

Ученый секретарь

диссертационного совета

(Фурсова Надежда Константиновна)

Дата оформления Заключения – 08.04.2016 г.

Печать организации, на базе которой создан диссертационный совет.