

УТВЕРЖДАЮ

**Директор
ФКУЗ Ростовский-на-Дону
противочумный институт
Роспотребнадзора**

_____ **С.В. Титова**

« _____ » _____ **2015г.**

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

**Федерального казённого 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**

Диссертация «Антилактоферриновая активность холерных вибрионов» выполнена в Федеральном казённом 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 в отделе профессиональной переподготовки и повышения квалификации специалистов.

Коршенко Виктория Александровна в 2008 г окончила Южный Федеральный Университет, биолого-почвенный факультет по специальности «Биология».

Научный руководитель –доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник Черепихина Ирина Яковлевна, место работы: ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, ведущий научный сотрудник отдела профессиональной переподготовки и повышения квалификации специалистов.

По итогам обсуждения принято следующее заключение.

Диссертация Коршенко Виктории Александровны представляет собой самостоятельную научно-квалификационную работу, выполненную на актуальную тему и содержащую решение актуальной задачи, заключающейся в изучении антилактоферриновой активности, как одного из свойств, обуславливающих персистенцию холерных вибрионов преимущественно в организме человека, а также участия АЛФА в патогенезе холеры. Работа соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Тема работы является актуальной, так как исследования в области изучения антилактоферриновой активности немногочисленны, роль антилактоферриновой активности в реализации персистентного потенциала у возбудителей особо опасных инфекций, в том числе холерных вибрионов, никем ранее не изучена. Вопросы, касающиеся роли АЛФА в патогенезе холеры (помимо борьбы за железо), участия этого маркера персистенции в адгезии и колонизации в желудочно-кишечном тракте, выяснении диапазона активности данного признака в различных биотопах, установлении наличия или отсутствия корреляции АЛФА с другими признаками патогенности и персистенции, выяснении механизма действия антилактоферриновой активности остаются до настоящего времени малоизученными.

Личное участие соискателя ученой степени в получении результатов, изложенных в диссертации, состоит в выполнении экспериментов по определению антилактоферриновой активности у штаммов холерных вибрионов различных биоваров и серогрупп, а также штаммов III-IV групп патогенности, определение природы антилактоферриновой активности, участие в этом процессе лектинов и гемагглютинин/протеазы холерных вибрионов, определение корреляционной связи АЛФА и адгезии холерных

вибрионов; статистической обработки, анализа и интерпретации результатов, в подготовке научных публикаций.

Степень достоверности результатов исследований, проведенных соискателем ученой степени подтверждается использованием достаточно большого объема экспериментов и исследований, выполненных с применением современных методов: микробиологических, биологических, методов статистического анализа, что обеспечило достоверность и аргументированность результатов. Выводы диссертации полностью соответствуют характеру проделанной работы и отражают спектр проведенных исследований.

Теория диссертационной работы построена на проверяемых данных, согласуется с опубликованными экспериментальными данными других авторов. Статистическую обработку результатов проводили с использованием компьютерной программы Biostatics версия 4.03 по критериям линейной регрессии и корреляции.

Новизна и практическая значимость результатов исследований состоит в том, что, впервые показано наличие антилактоферриновой активности у холерных вибрионов различных биоваров и серогрупп. Выявлены достоверные различия в уровнях АЛФА у *Vibrio cholerae* El Tor, *Vibrio cholerae* 0139 и *Vibrio cholerae* classical. Наиболее высокие показатели отмечены в группе Эль Тор вибрионов, несколько ниже – у вибрионов 0139 серогруппы, холерные вибрионы классического биовара в большинстве своем или не обладают АЛФА, или демонстрируют очень слабую активность. Это свидетельствует о значении этого признака именно для возбудителей холеры Эль Тор, характеризующихся высоким персистентным потенциалом.

При комплексной оценке антилактоферриновой активности у эпидемически значимых штаммов (ctx^+tcpA^+) вибрионов Эль Тор, выделенных от людей (больных, вибрионосителей), зарегистрированы высокие показатели АЛФА, что косвенно указывает на роль

антилактоферриновой активности в патогенезе холеры, возможно, в роли «малых факторов» патогенности.

Впервые показано, что потенциально эпидемически опасные вибрионы ЭльТор с генотипом $ctx\text{-}tcpA^+$ обладают максимально выраженной способностью к продукции антилактоферринового фактора, что свидетельствует о значительной роли этого признака в персистенции, поскольку характерной особенностью таких штаммов является высокий удельный вес вибрионосителей.

Впервые установлено наличие прямой корреляционной связи АЛФА с признаками персистенции, характерными для холерных вибрионов ЭльТор, выделенных от людей. С признаками персистенции, характерными для вибрионов, изолированных из объектов окружающей среды, корреляция отсутствовала.

Получены новые сведения о механизме действия антилактоферриновой активности. Впервые доказано участие в механизме АЛФА углеводных лектиновых рецепторов, как связующего звена между лактоферрином и клетками холерного вибриона. Показано участие в процессе АЛФА гемагглютинин/протеазы.

Отработан метод оценки уровня адгезии холерных вибрионов на модели культур клеток аденакарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu80. Подобраны критерии оценки уровня адгезии. Впервые на модели клеточной линии аденакарциномы двенадцатиперстной кишки человека HuTu 80 дана количественная оценка адгезивной активности холерных вибрионов и доказана ее прямая корреляционная связь с АЛФА.

У исследуемых штаммов была определена частота встречаемости генов персистенции *prtV*, *mshA*, *VC1650*, *VC1649*, *hapA*, *hapR*, *tagA*. Проведенное исследование показало, что основная роль в расщеплении лактоферрина принадлежит гену, кодирующему гемагглютинин/ протеазу НА/Р.

Полученные результаты являются вкладом в изучение биологии возбудителя холеры, а именно - в расшифровку особенностей и механизма персистенции *V.cholerae* в различных экологических нишах, что, несомненно, будет способствовать совершенствованию эпиднадзора за этой актуальной для здравоохранения инфекцией. Результаты исследования, патент, депонированный штамм, методические рекомендации, могут быть использованы специалистами-микробиологами, изучающими вопросы особенностей персистирования возбудителей инфекционных заболеваний в организме млекопитающих и в объектах окружающей среды.

По результатам диссертационного исследования зарегистрирована заявка на патент «Способ оценки адгезивных свойств холерных вибрионов *Vibriocholerae*ElTor и *Vibriocholerae*O139 на клеточной культуре NuTu 80» (№2014149782 от 9.12.2014 г.). Материалы диссертации используются в учебном процессе (лекции и практические занятия) используются на кафедре микробиологии Ростовского Государственного Медицинского Университета. Диссертационная работа Коршенко В.А. соответствует паспорт специальности 03.02.03 — «Микробиология».

Основные положения и результаты диссертационного исследования с достаточной степенью полноты отражены в 17 печатных работах, в том числе 4 изданиях, рекомендованных ВАК РФ. Материалы диссертации были представлены и обсуждены на 13 научных конференциях.

Диссертация Коршенко Виктории Александровны на тему: «Антилактоферриновая активность холерных вибрионов» соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», и рекомендуется к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.03 - микробиология.

Заключение принято на научной конференции ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора.

Присутствовало на заседании 80 чел. Результаты голосования: «за» - 80чел., «против» - нет, «воздержалось» - нет, протокол № 19 от «12» ноября 2015 г.

Алексеева Людмила Павловна, доктор
биологических наук, профессор,
зав. лабораторией гибридом
ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный
институт Роспотребнадзора

Личную подпись Л.П. Алексеевой
«Заверяю»

Начальник отдела кадров
Е.Н. Бурик
