

ФБУН ГНЦ ВБ «ВЕКТОР» РОСПОТРЕБНАДЗОРА

Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций
Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный
центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
(ЕНИИВИ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора)

Адрес: 620030, Свердловская область, г. Екатеринбург, ул. Летняя, 23
Тел./факс: (343) 261-99-47 E-mail: virus@eniivi.ru Сайт: http://eniivi.ru

«УТВЕРЖДАЮ»

Руководитель
«Екатеринбургского научно-
исследовательского
института вирусных
инфекций» ФБУН ГНЦ ВБ
«Вектор» Роспотребнадзора

Семенов А.В.



«27» мая 2021 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Екатеринбургского научно-исследовательского института вирусных инфекций
Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный
центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Диссертация **ФЕДОТОВОЙ** Ольги Семеновны на тему
«Микробиологические основы получения и использования комплексного
бактериофага *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*» на соискание
ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.11 –
«микробиология» выполнена на базе Екатеринбургского научно-
исследовательского института вирусных инфекций Федерального бюджетного
учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и
биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав

потребителей и благополучия человека (ЕНИИВИ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора).

В период подготовки диссертации соискатель Федотова Ольга Семеновна работала научным сотрудником в лаборатории клеточных культур в Екатеринбургском научно-исследовательском институте вирусных инфекций Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ЕНИИВИ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора).

Федотова Ольга Семеновна в 2009 г. окончила Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пермский государственный университет», биологический факультет, с присвоением квалификации биолог, по специальности «Биология».

Федотова О.С. была прикреплена в качестве соискателя к Федеральному бюджетному учреждению науки «Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (приказ № 64 от 21 мая 2018 г.).

Справка об обучении № 34 выдана 11.09. 2020 г. Федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России).

Научный руководитель:

– Захарова Юлия Александровна, доктор медицинских наук, доцент, заместитель руководителя по научной работе, главный научный сотрудник – руководитель отдела эпидемиологии вирусных инфекций Екатеринбургского научно-исследовательского института вирусных инфекций Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

По итогам обсуждения диссертации Федотовой Ольги Семеновны «Микробиологические основы получения и использования комплексного бактериофага *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*» **принято следующее заключение:**

Диссертация Федотовой Ольги Семеновны является законченной научно-квалификационной работой, в которой представлены результаты исследования, содержащие данные, дополняющие теоретические сведения о биологических свойствах *A. baumannii* и *P. aeruginosa*, циркулирующих в Пермском крае, где отмечается снижение чувствительности бактерий к противомикробным препаратам. В условиях проблемы антибиотикорезистентности микроорганизмов бактериофаги могут стать эффективными средствами для лечения и профилактики многих бактериальных инфекций.

В связи с этим получение комплексного бактериофага ацинетобактер-синегнойный и поиск новых подходов к его использованию в частности для проведения внутривидовой идентификации возбудителей, является крайне актуальным.

Личное участие автора в получении результатов

Личный вклад соискателя заключается в непосредственном участии на всех этапах выполнения работы. Автор самостоятельно изучил отечественные и зарубежные литературные источники по теме работы. Лично выделил и охарактеризовал бактериофаг *A. baumannii*, получил комплексный бактериофаг ацинетобактер-синегнойный, изучил его характеристики, выполнил исследования по внутривидовой идентификации полирезистентных штаммов и разработал новый метод оценки специфической активности бактериофагов с использованием клеточных культур.

Посев, выделение чистой культуры из собранного материала, изучение биологических свойств микроорганизмов осуществлялся совместно с врачом-бактериологом на базе клинико-диагностической лаборатории ФГБУЗ «ГКЦ» ФМБА России Климашиной А.В. и на базе арбитражной лаборатории Уральского окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД ЕНИИВИ ФБУН ГНЦ ВБ

«Вектор» Роспотребнадзора совместно с врачом клинической лабораторной диагностики Бажановой У.А.

Секвенирование генома штаммов *A.baumannii* и депонирование нуклеотидных последовательностей в базу данных Pub MLST проводили совместно с д.м.н., руководителем лаборатории микробиологии Лазаревой А.В. и д.м.н., заведующим лабораторным отделом Маянским Н.А. (ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России). Аннотирование и депонирование генома бактериофага *A. baumannii* на сайт NCBI совместно с н.с, руководителем Уральского окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД Питерским М.В. (ЕНИИВИ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора).

Степень достоверности результатов исследования

Достоверность полученных результатов обеспечивается благодаря значительному объему проведенных исследований (5158 лабораторных исследований), использованных для решения поставленных задач и методов исследования (микробиологических, молекулярно-генетических, методов исследования бактериофагов), применением адекватной статистической обработки первичного материала.

Работа выполнена в рамках реализации отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора «Проблемно-ориентированные научные исследования в области надзора за инфекционными и паразитарными болезнями на 2016 – 2020 годы» по теме НИР: «Разработка и изучение фармакологических свойств медицинских иммунобиологических препаратов на основе биологически активных веществ, продуцируемых диплоидными клетками животного происхождения. Изучение возможностей использования клеточных культур для биотехнологии» п. 3.1.11. Регистрационный номер в ЕГИСУ НИОКТР АААА-А16-116061710034-6.

Основные положения диссертации и её результаты были доложены и обсуждены на заседаниях, научно-практических конференциях и конгрессах различного уровня: «Многоуровневая система инфекционного контроля и надзора за инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи» (Екатеринбург,

2012); заседании Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов, паразитологов (Пермь, 2012, 2015); научно-практической конференции «Актуальные вопросы неотложных состояний в работе многопрофильной больницы» (Димитровград, 2013); Международном Конгрессе «Современные средства и технологии дезинфекции и стерилизации в профилактике инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи» (Москва, 2014); Российском конгрессе лабораторной медицины (Москва, 2015); Всероссийской научно-практической конференции «Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи» (Москва, 2015); III Конгрессе лабораторной медицины (Москва, 2017); Конгрессе с международным участием «Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи» (Москва, 2017, 2019, 2020); Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням с международным участием «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы» (Москва, 2018).

Научная новизна исследования

Выявлен высокий уровень циркуляции и резистентности к антимикробным препаратам штаммов *A. baumannii* и *P. aeruginosa* в медицинских организациях Пермского края. Установлено, что в структуре микрофлоры из биологических материалов от пациентов преобладали *A. baumannii*, из проб внешней среды – *P. aeruginosa*. В международную базу данных Pub MLST депонированы 6 сиквенс-типов (ST) *A. baumannii* из рабочей коллекции штаммов, выделенных из медицинских организаций г. Перми (№ 942 (22F); № 943 (32F); № 944 (23F); № 945 (28F); № 946 (2179F); № 952 (31)).

Впервые из нижних отделов дыхательных путей, раневого секрета пациентов и сточных вод отделения многопрофильного стационара выделен и в последующем охарактеризован бактериофаг *A. baumannii* семейства *Autographiviridae* (ранее сем. *Podoviridae*). Проведено полногеномное секвенирование бактериофага, который является представителем вида *Acinetobacter virus AS11*, рода *Friunavirus*, подсемейства *Beijerinckvirinae*, семейства *Autographiviridae*, порядка *Caudovirales*.

Впервые создан комплексный бактериофаг ацинетобактер-синегнойный. Результаты исследований в ходе получения комплексного бактериофага способствуют расширению теоретических основ микробиологии для дальнейшего создания эффективных лекарственных и профилактических средств.

С использованием клеточной культуры ЛЭЧ-3 разработан метод оценки специфической активности комплексного бактериофага ацинетобактер-синегнойный с изучением адгезивных свойств бактерий. Получен патент «Способ оценки специфической активности бактериофага с использованием клеточных культур» RUS 2723188 от 09.06.2020 г.

Установлен высокий уровень чувствительности клинических штаммов *A. baumannii*, выделенных из отделений реанимации и интенсивной терапии, к комплексному бактериофагу ацинетобактер-синегнойный, сопоставимый с уровнем чувствительности антибиотиков резерва (тигециклин).

С использованием бактериофага ацинетобактер-синегнойный и оценки минимальной подавляющей концентрации (МПК) к антибиотикам усовершенствован метод внутривидового типирования *P. aeruginosa*, получена микробиологическая панель для проведения идентификации распространенных сиквенс-типов (ST 208; ST 944; ST 1167) полирезистентных штаммов *A. baumannii*, основанная на фенотипических свойствах и чувствительности к бактериофагу.

Практическая значимость исследования

Полученные результаты вносят существенный вклад в изучение циркуляции полирезистентных штаммов неферментирующих грамотрицательных бактерий в медицинских организациях, разработанный бактериофаг ацинетобактер-синегнойный позволит активно использовать препарат при очаговой и профилактической дезинфекции в рамках микробиологического мониторинга, повысит качество лабораторной и эпидемиологической диагностики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

Метод оценки специфической активности бактериофагов с использованием клеточных культур человеческого происхождения позволит адекватно

проецировать применяемую методику на организм человека. Благодаря этому, модель (клеточная культура) может быть использована, как для обширного скрининга антибактериальных препаратов, так и для детального тестирования перспективных соединений на доклиническом уровне проведения исследований.

Сформирована рабочая коллекция штаммов бактерий – продуцентов бактериофага *A. baumannii*, которая может быть использована для промышленного получения лечебно-профилактического препарата ацинетобактерного и ацинетобактер-синегнойного бактериофага.

Полученные экспериментальным путем микробиологических тестов для проведения внутривидовой дифференциации полирезистентных штаммов *A. baumannii* распространенных сиквенс-типов (ST 208; ST 944; ST 1167) могут быть актуальны и востребованы для лабораторий и научных подразделений, не имеющих возможности использовать методы секвенирования.

Результаты исследования и разработанный алгоритм проведения внутривидового типирования штаммов *A. baumannii* и *P. aeruginosa* внедрены в практическую деятельность клинко-диагностической лаборатории Федерального государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Пермский клинический центр Федерального медико-биологического агентства России».

Материалы диссертации вошли в курс лекций на кафедре эпидемиологии и гигиены факультета дополнительного профессионального образования Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Минздрава России.

Соответствие специальности

Диссертационная работа Федотовой Ольги Семеновны «Микробиологические основы получения и использования комплексного бактериофага *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*» по тематике, методам исследования, научным положениям и выводам соответствует паспорту специальности: 1.5.11 – Микробиология.

Соискатель имеет 18 опубликованных работ, в которых отражено основное содержание диссертации, из них 5 – статьи в журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для опубликования основных положений диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук. Получен патент на изобретение РФ.

Наиболее значимые работы:

1. Фельдблом, И.В. Эпидемиологическая диагностика внутрибольничных гнойно-септических инфекций синегнойной этиологии на основе внутривидового типирования возбудителя / И.В. Фельдблом, Ю.А. Захарова, А.М. Николаева, **О.С. Федотова** // Журнал эпидемиологии, микробиологии и иммунобиологии. – 2013. – №1. – С. 14-20.

2. Захарова, Ю.А. Изучение чувствительности *Acinetobacter baumannii* циркулирующих в медицинских организациях г. Перми к антибиотикам и экспериментальной серии бактериофага / Ю.А. Захарова, **О.С. Федотова**, А.М. Николаева, А.В. Климашина // Дезинфекционное дело. – 2016. – №1(95). – С.23-25.

3. Николаева, А.М. Изучение специфической активности и безопасности лечебно-профилактического препарата бактериофага против *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa* / А.М. Николаева, Ю.А. Захарова, М.Г. Ефимова, Е.В. Функнер, А.Н. Красильникова, Н.Р. Попова, **О.С. Федотова** // Медицинский алфавит. – 2016. – Т.1, №6. – С.42-46.

4. **Федотова, О.С.** Микробиологические аспекты получения препарата бактериофага против *Acinetobacter baumannii* / **О.С. Федотова**, Ю.А. Захарова // Медицинский альманах. – 2018. – №1 (52). – С. 126-129.

5. Захарова, Ю.А. Новый способ оценки специфической активности бактериофага с использованием клеточной культуры ЛЭЧ-3 / Ю.А. Захарова, **О.С. Федотова**, Н.А. Шмелева // Медицинский алфавит. – 2019. – Т. 2, № 32. – С. 24-26.

Патент 2723188 Российская Федерация, МПК С12Q 1/70 (2006.01) С12Q 1/02 (2006.01) С12Q 1/18 (2006.01) Способ оценки специфической активности

бактериофага с использованием клеточных культур/ Алимов А.В., Захарова Ю.А., Федотова О.С., Шмелева Н.А. заявитель и патентообладатель Федеральное бюджетное учреждение науки "Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций" Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН "ЕНИИВИ" Роспотребнадзора) (RU).– № 2019113055; заявл.27.04.2019; опубл.09.06.2020, Бюл. №16– 7с.:

По итогам заседания принято следующее решение:

Кандидатская диссертация Федотовой Ольги Семеновны «Микробиологические основы получения и использования комплексного бактериофага *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*» рекомендуется к официальной защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.11 – микробиология (биологические науки).

Заключение принято на расширенном заседании отделов эпидемиологии вирусных инфекций и индикации и диагностики вирусных инфекций Екатеринбургского научно-исследовательского института вирусных инфекций Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Присутствовало 13 человек. Результаты голосования: «за» – 13 чел. (единогласно), «против» – 0 чел., «воздержалось» – 0 чел, протокол № 2021/05/17 от 27 мая 2021г.

Председатель заседания:

Руководитель ЕНИИВИ ФБУН ГНЦ
ВБ «Вектор» Роспотребнадзора
д.б.н.

Семенов Александр Владимирович

Ученый секретарь:

ЕНИИВИ ФБУН ГНЦ
ВБ «Вектор» Роспотребнадзора

Михайленко Юлия Александровна

