



Министерство здравоохранения Российской Федерации  
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования

"Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова"

Министерства здравоохранения Российской Федерации  
(ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России)

Адрес: Санкт-Петербург, 191015, ул. Кирочная, д.41

ОКПО 30625447, ОКATO 40298564000, ОГРН 1117847434990, ИНН 7842461679,

КПП 784201001, ОКВЭД 85.22; 86; 72.19; 84.21

Единая телефонная справочная: (812) 303-50-00, факс: (812) 303-50-35,

e-mail: [rectorat@szgmu.ru](mailto:rectorat@szgmu.ru)

[www.szgmu.ru](http://www.szgmu.ru)

#### «УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по науке и инновационной деятельности  
федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего  
образования «Северо-Западный государственный  
медицинский университет имени И.И. Мечникова»  
Министерства здравоохранения Российской  
Федерации,  
доктор медицинских наук, доцент



Н.В. Бакулина

« 14 » апреля 2022 г.

#### ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической ценности диссертационной работы Федотовой Ольги Семеновны на тему: «Микробиологические основы получения и использования комплексного бактериофага *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология (биологические науки)

#### Актуальность темы исследования

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa* относят к «критическим» патогенам в силу высоких адаптационных механизмов существования в природе, в организме человека и животных, в условиях закрытых экологических систем (включая медицинские организации). Важной особенностью их представителей является высокий уровень устойчивости к



антимикробным средствам, включая антибиотики, антисептики и дезинфектанты. Ежегодно в мире регистрируют 1 миллион (от 600 000 до 1 400 000) случаев инфекций, вызванных *Acinetobacter spp.*, а *P. aeruginosa* стала одной из основных проблем мирового здравоохранения с 2016 года. Результаты многоцентровых европейских исследований свидетельствуют о том, что до 30% случаев нозокомиальных инфекций в ОРИТ вызваны *P. aeruginosa*, часть заболеваний протекает в тяжелой клинической форме и в этиологии сочетает оба возбудителя.

В сложившихся условиях роста циркуляции антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов, получение и использование высокоактивных лечебно-профилактических бактериофагов, включая комплексные препараты на их основе, служат одним из эффективных способов борьбы с бактериальными инфекциями. Несомненно, это можно достичь путем глубокого изучения распространенности данных возбудителей в местах их широкого обитания, выделения перспективных бактериофагов из клинического материала и из внешней среды, формирования коллекции из продуктивных штаммов бактерий для получения высокоактивных бактериофагов, изучения эффективности их использования в отношении полирезистентных штаммов на примере крупных многофункциональных медицинских учреждений.

Значительный интерес для микробиологической науки и практики также представляет перспективное, не заслуженно «забытое» направление по использованию бактериофагов в качестве средств видовой и внутривидовой дифференциальной диагностики микроорганизмов. Это обусловлено высокой фенотипической и генотипической гетерогенностью их современных популяций.

В этой связи тема диссертационного исследования Федотовой О.С., посвященная микробиологическим аспектам разработки нового комплексного препарата бактериофагов *A. baumannii* и *P. aeruginosa*, изучение возможности использования нового препарата для внутривидовой идентификации штаммов микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью, согласуется с положениями Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в РФ на период до 2030 г., программой по импортозамещению в Российской Федерации, имеет высокую актуальность и несомненную значимость.

Цель и задачи, сформулированные в диссертации, носят комплексный и взаимосвязанный характер, полностью соответствуют области научной специальности 1.5.11. Микробиология (биологические науки). По содержанию и логике построения представленной труда, сведениям о степени разработанности темы можно представить глубину и этапы проведенного исследования.



## Научная новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Новизна, теоретическая значимость исследования и содержащихся в диссертации основных результатов заключаются в получении новых развернутых данных об уровне циркуляции штаммов *A. baumannii* и *P. aeruginosa* в медицинских организациях одного из крупных промышленных центров, уровне резистентности к антибиотикам, в выявлении наиболее характерных экологических мест обитания микроорганизмов для формирования рабочей коллекции штаммов-продуцентов и самих бактериофагов, последующая фенотипическая и генотипическая характеристика, включая внесение нуклеотидных последовательностей 6 сиквенс-типов *A. baumannii* в международную базу данных Pub MLST и ацинетобактерного бактериофага *Acinetobacter\_phage\_vB\_AbaP\_PE* № OL964948 в базу данных GenBank.

На основе бактериофага *Acinetobacter baumannii* семейства *Autographiviridae* получен комплексный бактериофаг ацинетобактер-синегнойный.

Автором в эксперименте на клеточной культуре ЛЭЧ-3 разработан защищенный патентом РФ (RUS 2723188 от 09.06.2020 г.) способ оценки специфической активности комплексного бактериофага ацинетобактер-синегнойный, определены адгезивные свойства бактерий. Установлен высокий уровень чувствительности клинических изолятов *A. baumannii*, выделенных из отделений реанимации и интенсивной терапии, к комплексному бактериофагу, сопоставимый с уровнем чувствительности к антибиотику резерва (тигекцилину), что подтверждает высокую перспективу использования нового разработанного бактериофага в отделениях реанимации и интенсивной терапии.

Комплексный бактериофаг ацинетобактер-синегнойный использован для внутривидовой дифференциальной диагностики полирезистентных штаммов *P. aeruginosa*, разработана оригинальная и доступная микробиологическая панель для идентификации распространенных сиквенс-типов *A. baumannii* (ST 208; ST 944; ST 1167).

Материалы диссертации, адекватные методы, а также необходимый и достаточный объем исследований, обеспечили выполнение поставленных автором задач. Основные положения работы, выводы и практические рекомендации научно обоснованы и в полной мере соответствуют поставленной цели и результатам проведенных исследований.

## Связь исследования с планами соответствующих отраслей науки

Диссертационная работа Федотовой Ольги Семеновны выполнена в рамках реализации отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора на 2016-2020 гг. «Проблемно-ориентированные научные исследования в области



эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными болезнями, Направление 3. Разработка и внедрение современных средств и методов специфической профилактики и лечения инфекционных и паразитарных заболеваний, п. 3.1.11 «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», регистрационный номер АААА-А16-116061710034-6, дата регистрации 17.06.2016 г.

#### **Значимость для науки и практики данных, полученных автором диссертации**

Полученные автором результаты, бесспорно, имеют высокую теоретическую и практическую ценность. Выявленные закономерности циркуляции *A. baumannii* и *P. aeruginosa* и их значимых генетических вариантов в отдельно взятых закрытых экологических системах (медицинских организациях), будут способствовать получению новых глубоких теоретических знаний об основах жизнедеятельности микроорганизмов, становление и развитие эволюции. Последовательности генома полученного автором фага *A. baumannii* будут способствовать научным исследованиям, посвященным воссозданию природных бактериофагов или получению бактериофагов с заданными «положительными» свойствами генно-инженерным путем.

Значимым фрагментом диссертации является использование клеточной модели животного происхождения для определения патогенного потенциала бактериальной клетки (определение адгезивных свойств бактерии) и для оценки эффективности взаимодействия бактериофага с «клеткой-хозяином» (определение литических свойств бактериофага). Автором установлено, что биологическая модель, клеточная культура, может быть использована для скрининговых экспресс-исследований по определению степени активности антибактериальных препаратов и для тестирования новых перспективных биологических соединений на доклиническом уровне.

Результаты исследований, полученные в ходе разработки комплексного бактериофага ацинетобактер-синегнойный, способствуют созданию эффективных лекарственных и профилактических средств, выпускаемых в России. Это поддержит фармацевтические компании и производителей отечественных лекарственных препаратов и несомненно имеет большое народно-хозяйственное значение.



Высокая практическая значимость работы также заключается в разработке новых микробиологических тестов с целью внутривидовой дифференциации полирезистентных штаммов актуальных и распространенных в мире штаммов *P. aeruginosa* и отдельных генетических вариантов *A. baumannii* (сиквенс-типы ST 208; ST 944; ST 1167). Тесты позволят бактериологическим лабораториям практического здравоохранения и отдельным научным организациям получить возможность использования удобных, доступных и качественных методик по определению фенотипической и генотипической принадлежности возбудителей внутрибольничных гнойно-септических инфекций человека, что уже нашло отражение в акте внедрения результатов исследования в практическую деятельность клиничко-диагностической лаборатории Федерального государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Пермский клинический центр Федерального медико-биологического агентства России».

#### **Достоверность и апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях**

Обоснованность и достоверность сформулированных в диссертации научных положений, выводов и рекомендаций обеспечены системным подходом, обширностью и разнообразием материала, базирующемся на логически выстроенном представлении результатов, полученных в ходе многолетнего исследования (2013-2020 гг.) в ряде стационаров и медицинских учреждений России. Исследования одобрены локальным этическим комитетом ФБУН ЕНИИВИ Роспотребнадзора.

География исследований представлена двумя крупными регионами Уральского и Приволжского Федеральных округов РФ (Свердловской области и Пермского края), в медицинских организациях которых автором были получены бактериальные изоляты *A. baumannii* и *P. aeruginosa* и ацинетобактерный бактериофаг. Проведён анализ статистических данных, (утвержденные формы о проведении 18693 микробиологических исследований, 2282 образцов биологических материалов, 1797 штаммов микроорганизмов. В результате создана уникальная коллекция из 190 штаммов бактерий-продуцентов бактериофагов, получен бактериофаг *A. baumannii* и бактериофаг ацинетобактер-синегнойный.

Автором собран обширный фактический материал с использованием современных бактериологических методов (2419 исследований), методов исследования бактериофагов (2316 исследований), а также молекулярно-генетических методов (423 исследования), подбор адекватного дизайна и выбор статистических методов оценки результатов, обеспечивают достоверность сформулированных научных положений, выводов и



рекомендаций. Работа Федотовой О.С. проведена на сертифицированном оборудовании (включая высокотехнологичное), оснащённом необходимым программным обеспечением, что не вызывает сомнения в достоверности полученных результатов, которые в полном объеме доложены и обсуждены на 13-ти научно-практических конференциях.

По теме диссертации опубликовано 20 научных работ, включая 5 статей в журналах рецензируемых ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ, получен 1 патент РФ на изобретение.

#### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Результаты и выводы диссертационной работы могут быть использованы в научно-производственных и практических целях при разработке препаратов на основе бактериофагов, для оценки основных свойств бактерий (факторов вирулентности) и специфической активности бактериофагов. Новый комплексный препарат ацинетобактер-синегнойного бактериофага необходим для применения в медицинских организациях: в отделениях реанимации и интенсивной терапии (в качестве средства очаговой и профилактической дезинфекции), в микробиологических лабораториях (для идентификации и внутривидового типирования полирезистентных штаммов *A. baumannii* и *P. aeruginosa*, включая их отдельные распространенные генетические варианты).

Материалы диссертации актуальны при чтении лекций и проведении практических занятий на циклах преподавания курса микробиологии в учреждениях высшего образования (биологического, медицинского, фармацевтического профиля).

#### **Оценка содержания и оформления диссертационной работы**

Диссертация Федотовой О.С. оформлена в соответствии с рекомендациями ГОСТ 7.0.11-2011. Работа изложена на 143 страницах машинописного компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений, условных обозначений и списка литературы, включающего 223 источника (83 отечественных и 140 зарубежных). Рукопись иллюстрирована 29 таблицами и 18 рисунками. Диссертация состоит из введения, трех глав основного текста, заключения.

Введение включает в себя актуальность темы диссертации, цели и задачи исследований, научную новизну диссертации, её теоретическую и практическую значимость, методологию и методы исследований, основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробацию результатов исследований.



В первой главе проведен обзор литературы по теме диссертации, где описаны характеристики *A. baumannii* и *P. Aeruginosaa* также бактериофагов. Изложена история изучения бактериофагов, а также применение их в диагностике, лечении и профилактике инфекционных болезней.

Во второй главе подробно описано получение комплексного бактериофага ацинетобактер-синегнойный, создание музейной-коллекции штаммов бактерий – продуцентов бактериофага *A. Baumannii*, проведена оценка чувствительности штаммов к антибиотикам и к комплексному бактериофагу.

В третьей главе изложено совершенствование методов внутривидового типирования полирезистентных штаммов *A. baumannii* и *P. Aeruginosaa* с использованием комплексного бактериофага ацинетобактер-синегнойный.

Следует подчеркнуть, что полученные в диссертации результаты представлены последовательно и изложены логично. Диссертация в целом, несмотря на некоторые стилистические ошибки, написана грамотным научным языком, ее содержание свидетельствует о решении поставленных задач, а выводы обоснованы полученными результатами.

Автореферат оформлен в соответствии с требованиями, отражает основное содержание диссертации и научных публикаций, раскрывает основные положения, выносимые диссертантом на защиту.

#### **Замечания и вопросы по диссертационной работе**

Замечаний по диссертационной работе нет, вместе с тем соискателю предлагается ответить на следующие вопросы:

1. Геном описанного в работе бактериофага *Acinetobacter phage vB\_AbaP\_PE21* обнаруживает высокую (99.94%) степень сходства с геномом ранее охарактеризованного бактериофага *Acinetobacter phage vB\_AbaP\_AS11* (GenBank Acc. № NC\_041915.1). Имеются ли данные, свидетельствующие о сходстве или различиях биологических свойств, в частности спектра литической активности данных бактериофагов?

2. Какие направления повышения эффективности применения комплексных бактериофаговых препаратов представляются диссертанту наиболее перспективными?

#### **Заключение**

Диссертационная работа Федотовой Ольги Семеновны на тему «Микробиологические основы получения и использования комплексного бактериофага *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*», представляемая к защите на



соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология (биологические науки), является завершённой научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная задача – получение комплексного бактериофага ацинетобактер-синегнойный и обоснование возможности его использования для идентификации и внутривидового типирования полирезистентных штаммов *A. baumannii* и *P. aeruginosa*.

По актуальности, научной новизне и практической значимости результатов диссертационная работа Федотовой Ольги Семеновны полностью соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Федотова Ольга Семеновна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, протокол №5 от 13 апреля 2022 г.

Отзыв подготовил:

профессор кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии  
ФГБОУ ВО СЗГМУ им И.И. Мечникова Минздрава России,  
доктор медицинских наук (специальности 14.02.02 – эпидемиология,  
03.02.03 – микробиология), доцент

А.Е. Гончаров

Заведующий кафедрой эпидемиологии,  
паразитологии и дезинфектологии  
ФГБОУ ВО СЗГМУ им И.И. Мечникова Минздрава России,  
доктор медицинских наук, доцент

Б.И. Асланов

Подписи Гончарова А.Е. и Асланова Б.И. заверяю:

Ученый секретарь ФГБОУ ВО СЗГМУ им И.И. Мечникова Минздрава России  
191015, г. Санкт-Петербург, Пискаревский проспект, д. 47, тел. (812) 303-50-00, факс (812)  
303-50-35, e-mail: rectorat@szgmu.ru

Доктор медицинских наук, доцент

Е.А. Трофимов

