

Заключение комиссии Диссертационного совета 64.1.004.01 при Федеральном бюджетном учреждении науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по кандидатской диссертации 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

Научный руководитель:

Захарова Юлия Александровна - доктор медицинских наук (14.00.30. - эпидемиология), 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 (ЕНИИВИ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора)

Диссертационная работа Федотовой О.С. соответствует специальности: 1.5.11. - микробиология.

Работа посвящена изучению циркуляции представителей неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОБ), *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa* в медицинских организациях крупного промышленного центра, выделению в госпитальных условиях бактериофага *Acinetobacter baumannii*, созданию коллекции штаммов бактерий-продуцентов *A. baumannii* и получению на его основе комплексного бактериофага ацинетобактер-синегнойный, с оценкой возможности дальнейшего использования препарата для идентификации (внутривидового типирования) полирезистентных штаммов возбудителей.

В ходе диссертационного исследования Федотовой О.С. определена частота встречаемости *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах Пермского края. В структуре представителей НГОБ преобладали *A. baumannii* (выделен у 30,8 % пациентов) и *Pseudomonas aeruginosa* (из 33,6 % объектов внешней среды) Определён высокий уровень устойчивости микроорганизмов к основным группам антибиотиков, за исключением препаратов резервного ряда (цеферазон/сульбактаму, полимиксину).

Впервые из раневого отделяемого, бронхоальвеолярного лаважа, сточных вод выделен и охарактеризован бактериофаг *Acinetobacter baumannii*. По результатам полногеномного секвенирования фаг отнесен к виду *Acinetobacter virus AS11*, роду *Friunavirus*, подсемейству *Beijerinckvirinae*, семейству *Autographiviridae*, порядку *Caudovirales*. Линейный двухцепочечный ДНК-геном бактериофага представлен 41655 парами оснований нуклеотидных последовательностей и относится к литической группе бактериофагов.

Диссертантом впервые сформирована и охарактеризована рабочая коллекция штаммов бактерий-продуцентов бактериофага *Acinetobacter baumannii* (n=190). На ее основе получен экспериментальный образец комплексного бактериофага ацинетобактер-синегнойный, установлен высокий уровень чувствительности штаммов *A. Baumannii*, циркулирующих в ОРИТ к разработанному бактериофагу, соответствующий уровню



чувствительности штаммов к антибиотикам резерва (тигециклин)  $83,0 \pm 3,7\%$  ( $\chi^2 = 0,06$ , d.f. = 1,  $p = 0,8$ ).

Впервые с использованием клеточной культуры ЛЭЧ-3 изучена специфическая активность препарата бактериофага и адгезивные свойства бактерий (патент на изобретение РФ «Способ оценки специфической активности бактериофага с использованием клеточных культур» RUS 2723188 от 09.06.2020г.). Метод позволяет в течение 1 часа после совместного культивирования бактериальных культур с соответствующим бактериофагом на клетках ЛЭЧ-3 определить индекс адгезии микроорганизмов. Так индекс адгезии достоверно ( $p < 0,05$ ) снижался в опытной группе (культивирование штаммов с добавлением бактериофага) относительно контрольной группы (без добавления бактериофага) у *A. baumannii* – с  $15,58 \pm 1,1$  до  $4,68 \pm 1,12$ , у *P. aeruginosa* – с  $27,54 \pm 1,17$  до  $4,47 \pm 1,17$ .

Диссертантом разработан оригинальный набор фенотипических дифференцирующих тестов, позволяющих выявить внутривидовые особенности полирезистентных штаммов *A. baumannii* наиболее распространенных сиквенс типов ST 208, ST 944 и ST 1167, а также оптимизирован способ внутривидовой идентификации *P. aeruginosa* путем определения чувствительности штаммов к антибиотикам (метод серийных разведений) и к комплексному бактериофагу («спот» -тест).

Теоретическая значимость работы заключается в обогащении новыми знаниями учения о механизме взаимодействия биологических видов микроорганизмов на уровне «хозяин» (бактериальная клетка) «паразит» (бактериофаг).

В международную базу GenBank NCBI № OL964948 депонирована полногеномная нуклеотидная последовательность ацинетобактерного бактериофага.

Сформирована рабочая коллекция штаммов бактерий – продуцентов бактериофага *A. baumannii* для дальнейшего промышленного получения препарата ацинетобактерного и ацинетобактер-синегнойного бактериофага, что расширит арсенал иммунобиологических средств, повысит эффективность этиотропной терапии, качество противозидемических и профилактических мероприятий, снизит потребление антибиотиков и дезинфицирующих средств.

Биологическая клеточная модель (на основе культуры клеток ЛЭЧ-3) для изучения литической активности бактериофага и адгезивных свойств бактерий может быть использована для скрининга и тестирования перспективных соединений с антимикробными свойствами, в том числе в производственных масштабах.

В ходе исследований получены и депонированы в базу данных Pub MLST 6 сиквенс-типов *A. baumannii* из рабочей коллекции штаммов, выделенных из медицинских организаций г. Перми (№ 942 (22F); № 943 (32F); № 944 (23F); № 945 (28F); № 946 (2179F); № 952 (31)).

Усовершенствованы и разработаны новые методы внутривидового типирования (идентификации) штаммов *A. baumannii* и *P. aeruginosa* для лабораторий практического здравоохранения.

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 (акт внедрения от 20.12.2021 г.). Результаты исследования и разработанный алгоритм проведения внутривидового типирования штаммов *A. baumannii* и *P. aeruginosa* внедрены в практическую деятельность клинико-диагностической лаборатории Федерального государственного бюджетного учреждения здравоохранения



«Пермский клинический центр Федерального медико-биологического агентства России» (акт внедрения от 17.12.2021 г.).

Работа выполнена с применением современных методов исследования, адекватных поставленным задачам. Представленные результаты являются достоверными, поскольку проведен значительный объем исследований. Научные положения и выводы, сформулированные Федотовой О.С., логически вытекают из результатов, полученных в ходе диссертационной работы.

По объему проведенных исследований, их новизне и научно-практической значимости работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.11.–микробиология.

Комиссия не установила в диссертации и автореферате фактов некорректного заимствования материалов без ссылок на первоисточники.

Анализ проверки с помощью системы «Антиплагиат» на сайте [www.antiplagiat.ru](http://www.antiplagiat.ru) показал, что оригинальный текст составляет 92,38%, заимствования –7,54%, цитирование – 0,08%.

Материалы исследования и основные положения диссертационной работы были доложены и обсуждены на 13 российских научных конференциях и конгрессах, в том числе с международным участием.

Диссертация не содержит недостоверных сведений об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

По материалам диссертации опубликовано 20 научных работ, в том числе 5 статей в рецензируемых изданиях, 1 – в другом издании, 5 тезисов – в рецензируемых изданиях, 9 тезисов – в материалах конференций, получен 1 патент на изобретение РФ.

Диссертация соответствует профилю Диссертационного совета 64.1.004.01.

В качестве **ведущей организации** предлагается утвердить Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Согласие ведущей организации имеется.

В качестве **официальных оппонентов** предлагаются:

- Летаров Андрей Викторович – доктор биологических наук (03.01.03 – молекулярная биология, 03.02.02 – вирусология), заведующий лабораторией вирусов микроорганизмов, Институт микробиологии имени С.Н. Виноградского Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук
- Исаева Гузель Шавхатовна – доктор медицинских наук (03.02.03 – микробиология), доцент, заместитель директора по инновационному развитию Федерального бюджетного учреждения науки «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Согласие официальных оппонентов имеется.

**Заключение:**

комиссия Диссертационного совета 64.1.004.01. рекомендует диссертацию Федотовой Ольги Семеновны «Микробиологические основы получения и использования комплексного бактериофага *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*» по специальности: 1.5.11. – микробиология к приему к защите.

Заключение подготовили члены комиссии Диссертационного совета 64.1.004.01:

**Председатель:**

Главный научный сотрудник  
лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии  
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,  
доктор медицинских наук, профессор РАН

А.В. Алешкин

**Члены комиссии:**

Главный научный сотрудник,  
лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии  
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,  
доктор медицинских наук, профессор,  
заслуженный деятель науки РФ

С.С. Афанасьев

Главный научный сотрудник,  
руководитель отдела биотехнологии  
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,  
доктор биологических наук, доцент

Е.А. Воропаева

Главный научный сотрудник  
лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии  
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,  
доктор биологических наук

В.М. Лахтин

Главный научный сотрудник  
лаборатории иммунобиологических препаратов.  
ФБУН МНИИЭМ им.Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора  
доктор биологических наук, профессор

А.Г. Лютов