



«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ФБУН ТНИИКИП
Роспотребнадзора
доктор медицинских наук, профессор
Т.Ф. Степанова
«11» октября 2021 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального бюджетного учреждения науки «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (625026, Российская Федерация, Тюменская область, г. Тюмень, ул. Республики, 147)

Диссертация Вакариной Арины Александровны «Литические свойства бактериофагов основных возбудителей бактериальных инфекций» выполнена на базе лаборатории клиники и иммунологии биогельминтозов (группы клинической бактериологии) Федерального бюджетного учреждения науки «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

В период подготовки диссертации соискатель Арина Александровна Вакарina работала в Федеральном бюджетном учреждении науки «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в должности младшего научного сотрудника лаборатории клиники и иммунологии биогельминтозов (группы клинической бактериологии).

Арина Александровна Вакарina в 2002 году окончила Уральскую государственную медицинскую академию с присвоением квалификации врача по специальности медико-профилактическое дело. Справка об обучении № 17 от 14.06.2019 г. выдана Федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Вакарina А.А. была прикреплена в качестве соискателя к Федеральному бюджетному учреждению науки «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека для подготовки диссертационного исследования. Протокол № 2 от 12.02.2018 г.

Научные руководители:

- доктор медицинских наук, профессор Степанова Татьяна Федоровна, директор Федерального бюджетного учреждения науки «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека;

- кандидат биологических наук Рубальский Евгений Олегович, ведущий научный сотрудник лаборатории кокковых инфекций Федерального бюджетного учреждения 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 итогам обсуждения диссертации Вакариной Арины Александровны «Литические свойства бактериофагов основных возбудителей бактериальных инфекций» принято следующее заключение:

Диссертация м.н.с. Вакариной является законченной работой, в которой представлены актуальные исследования, касающиеся возбудителей бактериальных инфекций, в том числе связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП). Определена структура потенциальных резидентных штаммов, обладающих селективными преимуществами выживания в акушерских стационарах за счет резистентности к антибактериальным препаратам. Предложены выделенные вирулентные протейные бактериофаги, активные в отношении штаммов *P. mirabilis*, изолированных в организации родовспоможения. Изучены основные литические свойства фагосодержащих лекарственных средств. Для разработки «адресных» мер в отношении бактериальных возбудителей разработан способ, позволяющий количественно определять и оценивать показатель литической активности бактериофагов в рутинной практике медицинских организаций.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации заключается в том, что диссертант разработала дизайн научного исследования, подготовила обзор литературы, провела систематизацию и создание электронных баз полученных данных, осуществила обобщение и анализ результатов исследования. Сформулировала выводы, практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы. Автор лично при участии сотрудников ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Роспотребнадзора: подготовила анкеты-опросники родильниц акушерских стационаров (совместно с г.н.с. отдела эпидемиологического анализа и моделирования, д.м.н. А. С. Корначевым); выделила и идентифицировала бактериальные штаммы, участвовала в постановке реакций агглютинации, определяла чувствительность бактерий к антимикробным препаратам (совместно с м.н.с. лаборатории клиники и иммунологии биогельминтозов (группы клинической лаборатории) О. В. Посоюзных и О. Н.

Колотовой); разработала способ количественной оценки литической активности бактериофагов (совместно с в.н.с. лаборатории клиники и иммунологии биогельминтозов (группы клинической лаборатории), д.м.н. Л. В. Катаевой). Совместно со старшими научными сотрудниками лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора: к.б.н. Е. Р. Зулькарнеевым и к.б.н. И. А. Киселевой осуществляла исследования литических свойств бактериофагов *P. mirabilis* и *S. aureus*, и определяла их титры. Биоматериал от пациентов получен при участии сотрудников организаций родовспоможения под руководством М. К. Грибоедовой, главного врача Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Тюменской области «Родильный дом № 2» и Е. В. Косоруковой заместителя главного врача по лечебной работе Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Тюменской области «Родильный дом № 3».

Диссертация Вакариной А.А. выполнена в соответствии с планом научных работ ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора (тема № 063 «Исследование микробиома человека при паразитарных и инфекционных заболеваниях на 2016 - 2020 гг.», рег. № АААА-А-16-116022610094-2 от 26.02.2016 г.).

Достоверность результатов диссертационной работы обеспечена репрезентативностью и объемом исследованного материала, использованием современных бактериологических, серологических, молекулярно-генетических методов исследований, а также известных методов изучения бактериофагов. Статистический анализ данных проводился в лицензионной программе SPSS, предназначенной для научных исследований. Результаты экспериментов анализировались и сопоставлялись с известными исследованиями других авторов. Сформулированные в диссертации научные положения и выводы согласуются с известными фактами по данной тематике. Подлинность результатов исследования подтверждена актом проверки первичной документации, проведенной на основании приказа директора Федерального бюджетного учреждения науки «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Основные положения диссертационной работы доложены на: международной научно-практической конференции «Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности», г. Ульяновск (апрель, 2013 г.); второй научно-практической конференции с международным участием «Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности», г. Санкт-Петербург (сентябрь, 2014 г.); всероссийской научно-практической конференции, посвященной 95-летию со дня рождения академика РАМН И.Н.

Блохиной «Современные технологии в эпидемиологическом надзоре за актуальными инфекциями», г. Нижний Новгород (май, 2016 г.); четвертой научно-практической конференции с международным участием «Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности», г. Нижний Новгород, (24-26 сентября 2018 г.).

Научная новизна исследования. Впервые показан начальный этап формирования возбудителей ИСМП у пациентов акушерского стационара. Определено, что становление бактериальных штаммов с высоким патогенным потенциалом (антибиотикорезистентностью) происходит в кишечнике новорожденных за счет грамотрицательных бактерий. Выделены и изучены молекулярно-генетическими методами литические протейные бактериофаги, активные в отношении бактериальных культур, изолированных в организации родовспоможения.

В ходе микробиологического мониторинга установлена низкая чувствительность бактерий родов *Klebsiella*, *Proteus* и *Escherichia coli* O26 к фагосодержащим лекарственным препаратам. Бактериальные изоляты, циркулирующие на территории города Тюмени и юга Тюменской области, являются этиологически значимыми возбудителями острых кишечных заболеваний.

Доказано отсутствие изменения антибиотикочувствительности бактерий *S. aureus* и *P. mirabilis* под действием специфических вирулентных бактериофагов.

Установлены отличия интерпретации результатов определения чувствительности бактерий к бактериофагам при сравнительных исследованиях на плотном агаре (метод «spot-test», Л.М. Майская) и при использовании питательного бульона (метод О.М. Биргера). Отмечены разночтения по пиобактериофагу поливалентному в отношении штаммов *S. aureus*; по бактериофагу клебсиелл пневмонии, бактериофагу клебсиелл поливалентному и пиобактериофагу поливалентному касательно изолятов *Klebsiella pneumoniae*.

Впервые предложен способ количественной оценки литической активности бактериофагов, основанный на измерении оптической плотности среды взаимодействия бактериальной культуры со специфическим бактериофагом и регистрацией результата в числовых значениях. Точность исследования обеспечивается пятикратным повтором определения показателей с расчетом его средней величины. Получен патент на изобретение РФ № 2587636 от 20.06.2016 г.

Практическая и теоретическая значимость. Определение структуры потенциальных возбудителей ИСМП, обладающих селективными преимуществами выживания в больничной среде акушерских стационаров за счет высокой резистентности к антибиотикам, позволит своевременно предпринять противоэпидемические мероприятия, в том числе с использованием строго литических бактериофаговых препаратов. Изучение резистентности

микробиоты кишечника к индикаторным антибиотикам в качестве основного критерия оценки предвестников активации эпидемического процесса ИСМП в акушерском стационаре обеспечит недопущение вспышек инфекционных заболеваний бактериальной этиологии.

Выделенные и изученные методами молекулярной генетики протейные бактериофаги перспективны для использования в организации родовспоможения в лечебно-профилактических целях. Полученные нуклеотидные последовательности геномов депонированы в международную базу данных NCBI GenBank под номерами MN840486.1 и MN840487.1.

Отсутствие антагонистического влияния вирулентных бактериофагов и антимикробных препаратов на штаммы *S. aureus* и *P. mirabilis*, а также зарегистрированный терапевтический эффект от использования двух антимикробных препаратов определяют возможность разработки схем лечения с комбинацией лекарственных средств с различными механизмами действия на бактериальные культуры.

Проведенный региональный мониторинг литической активности коммерческих фаговых препаратов показал низкую чувствительность бактерий родов *Klebsiella* и *Proteus*, *E. coli* O26 (этиологически значимых возбудителей острых кишечных заболеваний) к ряду специфических бактериофагов и необходимость соответствующей актуализации спектров маточных бактериофагов, применяемых в лечебных целях.

Предложенный метод определения фагочувствительности бактериальных культур, основанный на изучении литической активности бактериофагов стандартизованным оборудованием и оценкой результатов по оптической плотности среды сокультивирования бактерий и бактериофагов, повысит эффективность использования бактериофагов с лечебно-профилактической целью в практическом здравоохранении. Способ количественной оценки литической активности бактериофагов используется при определении чувствительности бактерий к специфическим фагам в бактериологической лаборатории ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора, на кафедре микробиологии ГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Тюменской области».

По тематике, научным положениям, результатам и выводам диссертационная работа Вакариной Арины Александровны «Литические свойства бактериофагов основных возбудителей бактериальных инфекций», представленная на соискание учёной степени кандидата медицинских наук, соответствует специальности 1.5.11 – Микробиология.

Материалы диссертации опубликованы в 17 научных работах, в том числе 6 статьях в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для публикации основных положений диссертации на соискание ученой степени кандидата наук. Получен патент на изобретение РФ.

Публикации:

1. Катаева, Л.В. Оценка литической активности некоторых бактериофагов / Л.В. Катаева, **А.А. Вакарина**, Н.Ф. Нижегородцева // Материалы международной научно-практической конференции. «Бактериофаги: Теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности», 23-25 апреля 2013 г., г. Ульяновск. - Ульяновск, 2013. - Том II. - С.17-22.
2. Корначев, А.С. Оценка угроз колонизации пациентов акушерских стационаров штаммами с высокой устойчивостью к антибиотикам в акушерских стационарах, различающихся характером вскармливания новорожденных / А.С. Корначев, **А.А. Вакарина**, Л.В. Катаева, М.К. Грибоедова, Е.В. Косорукова // Биозащита и биобезопасность. - 2014. - Т. VI, №1(18). - С.30-39.
3. **Вакарина, А.А.** Оценка угроз колонизации пациентов акушерских стационаров резидентными штаммами с высокой устойчивостью к антибиотикам / А.А. Вакарина, А.С. Корначев, Л.В. Катаева // Инфекция и иммунитет. - 2014. - Т.4, №1. - С.56-57.
4. Ребещенко, А.П. Подходы к оценке результативности системы биологической безопасности акушерских стационаров / А.П. Ребещенко, А.С. Корначев, **А.А. Вакарина**, Л.В. Катаева // Инфекция и иммунитет. - 2014. - Т.4, №1. - С.88.
5. Катаева, Л.В. Возможность применения бактериофагов для лечения острых кишечных инфекций бактериальной этиологии / Л.В. Катаева, **А.А. Вакарина**, Т.Ф. Степанова, Л.А. Бычкова // Инфекция и иммунитет. - 2014. - Специальный выпуск, сентябрь. - С.84-85.
6. **Вакарина, А.А.** Структура и характеристика микроорганизмов, колонизирующих новорожденных, включая их резистентность к антибиотикам / А.А. Вакарина, Л.В. Катаева, О.В. Посоюзных // Дезинфекция. Антисептика. - 2014. - Т.5, №4 (20). - С.52-57.
7. **Вакарина, А.А.** Рациональные аспекты использования бактериофагов / А.А. Вакарина, Л.В. Катаева, Н.Ф. Карпухина // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2015. - №5. - С.76-79.
8. Катаева, Л.В. Литическая активность бактериофагов в отношении возбудителей острых кишечных инфекций / Л.В. Катаева, **А.А. Вакарина**, Т.Ф. Степанова, К.Б. Степанова, Л.А. Бычкова // Здоровье населения и среда обитания. - 2015. - №3 (264). - С.39-42.
9. **Вакарина, А.А.** Актуальность и перспективы применения бактериофагов / А.А. Вакарина, Л.В. Катаева // В сборнике: итоги и перспективы изучения проблем инфекционных и паразитарных болезней, 24-25 сентября 2015 г., г. Тюмень. - Тюмень, 2015 - Т.1. - С.45-47.

10. **Вакарина, А.А.** Структура бактерий, колонизирующих новорожденных и формирование их резистентности / А.А. Вакарина, Л.В. Катаева, А.С. Корначев // В сборнике: Итоги и перспективы изучения проблем инфекционных и паразитарных болезней, 24-25 сентября 2015 г., г. Тюмень. – Тюмень, 2015 - Т.1. - С.48-53.
11. **Вакарина, А.А.** Методы определения чувствительности бактерий к бактериофагам / А.А. Вакарина, Л.В. Катаева // Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Современные проблемы эпидемиологии и гигиены», 8-10 декабря 2015 г., г. Санкт-Петербург – Санкт-Петербург, 2015. - С.99-101.
12. **Вакарина, А.А.** Количественная оценка литической активности бактериофагов / А.А. Вакарина, Л.В. Катаева, Т.Ф. Степанова // Материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 95-летию со дня рождения академика РАМН И.Н. Блохиной «Современные технологии в эпидемиологическом надзоре за актуальными инфекциями», 25 мая 2016 г., г. Нижний Новгород. – Нижний Новгород, 2016. - С.130-135.
13. **Вакарина, А.А.** Бактериофаги. Современные аспекты их применения / А.А. Вакарина, Л.В. Катаева // В сборнике: Важнейшие вопросы инфекционных и паразитарных болезней, 2016 г., г. Тюмень. – Тюмень, 2016. - С.28-36.
14. **Вакарина, А.А.** Антибиотикограмма бактерий рода *Klebsiella* и *Staphylococcus aureus* под влиянием специфических бактериофагов / А.А. Вакарина, Л.В. Катаева, Т.Ф. Степанова // Материалы IV научно-практической конференции с международным участием: «Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности», 24 - 26 сентября 2018 г., г. Нижний Новгород. – Нижний Новгород, 2018. - С.40.
15. **Вакарина, А.А.** Влияние бактериофагов на чувствительность условно-патогенных бактерий к антибактериальным препаратам / А.А. Вакарина, Л.В. Катаева, Т.Ф. Степанова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2019. - №2. - С.3-7.
16. **Вакарина, А.А.** Влияние вирулентных бактериофагов на антибиотикочувствительность бактерий *Staphylococcus aureus* / А.А. Вакарина, А.В. Алешкин, Е.О. Рубальский, Т.Ф. Степанова, И.А. Киселева, Л.В. Катаева // Астраханский медицинский журнал. – 2020. – Т.15, № 4. – С.29-39.
17. **Вакарина, А.А.** Влияние вирулентных бактериофагов на антибиотикочувствительность бактерий вида *Proteus mirabilis* / А.А. Вакарина, А.В. Алешкин, Е.О. Рубальский, Т.Ф. Степанова, И.А. Киселева, Л.В. Катаева, Э.Р. Зулкарнеев, Р.С. Календр // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова - 2021. – Т.17, №2. – С.18 -25.

Патент 2587636 Российская Федерация, МПК C12Q 1/70 (2006.01), C12Q 1/02 (2006.01).
Способ количественной оценки литической активности бактериофагов / Катаева Л.В.,
Вакарина А.А., Степанова Т.Ф. заявитель и патентообладатель: ФБУН ТНИИКИП
Роспотребнадзора (RU). - № 2015107203/10; заявл. 02.03.2015 г.; опубл. 20.06.2016., Бюл. №
17, - 9с.

Кандидатская диссертация Вакариной Арины Александровны «Литические свойства бактериофагов основных возбудителей бактериальных инфекций» рекомендуется к защите на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности – 1.5.11 микробиология (медицинские науки).

Заключение принято на заседании Ученого совета Федерального бюджетного учреждения науки «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Присутствовало на заседании 10 человек. Результаты голосования: «за» - 10 чел., «против» - 0 чел., «воздержалось» - 0 чел., протокол № 6 от 06.09.2021г.

Председатель заседания

Директор ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Роспотребнадзора
доктор медицинских наук, профессор


Т.Ф. Степанова

Секретарь Ученого Совета ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Роспотребнадзора
кандидат биологических наук


И.В. Бакштановская