

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 Вакариной Арины Александровны на тему: «Литические свойства бактериофагов основных возбудителей бактериальных инфекций» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности: 1.5.11. – Микробиология

Научные руководители:

Степанова Татьяна Федоровна - доктор медицинских наук (03.00.19 - паразитология), профессор, директор Федерального бюджетного учреждения науки «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора, Тюмень)

Рубальский Евгений Олегович - кандидат биологических наук (03.02.03-микробиология), 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 (ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва)

Диссертационная работа Вакариной А.А. соответствует специальности: 1.5.11. – Микробиология (медицинские науки).

Работа посвящена изучению литических свойств генетически подтвержденных вирулентных бактериофагов и их влиянию на антибиотикорезистентность бактерий - возбудителей инфекционных заболеваний. В ходе проведенного исследования Вакариной А.А. впервые представлен алгоритм формирования возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Он основан на определении детерминированной зависимости расчетного показателя антибиотикорезистентности микрофлоры, изолированной в акушерском стационаре и уровня инфекционной заболеваемости пациентов. Выявлено, что становление бактериальных штаммов, обладающих потенциалом резистентности, происходило в кишечнике детей и на коже пупочного остатка, обусловлено бактериями семейства *Enterobacteriaceae* и неферментирующими грамотрицательными штаммами. Для профилактических и лечебных мероприятий в медицинской организации выделены два строго литических штамма *Proteus phage*. Бактериофаги охарактеризованы по морфологическим свойствам и молекулярно-генетической структуре. В соответствии с кладограммой и множественным полногеномным выравниванием установлено, что исследуемые штаммы протейных бактериофагов принадлежали к порядку хвостатых фагов – *Caudovirales*, семейству *Siphoviridae*. На основании базы данных Genbank бактериофаг *Proteus phage* 2207-№35 относился к роду *Gorganvirus*, а бактериофаг *Proteus phage* P16-2532 показал отсутствие принадлежности к какому-либо таксону нижестоящего ранга. Представлено подтверждение отсутствия влияния вирулентных стафилококковых и протейных бактериофагов на чувствительность бактерий к антимикробным препаратам.

Изучение литических свойств бактериофагов при исследовании на плотном питательном агаре (метод «spot-test», Л. М. Майской) и в питательном бульоне (метод М. О. Биргера) показало несоответствие количества лизируемых культур фагосодержащими препаратами. Расчет отношения шансов определил большее число устойчивых штаммов бактерий на плотном агаре. Данные разнотечения результатов литической активности фаговых коктейлей выявлены в отношении взаимодействия штаммов *Staphylococcus aureus* и пиобактериофага поливалентного, а также изолятов *Klebsiella pneumoniae* при изучении бактериофагов: клебсиелл пневмонии, клебсиелл поливалентного и пиобактериофага поливалентного.

Разработан «Способ количественной оценки литической активности бактериофагов», позволяющий с помощью измерения оптической плотности жидкой среды взаимодействия



бактерий и бактериофагов устанавливать элиминирование бактериальных культур в количественных показателях. Получен патент на изобретение РФ № 2587636 от 20.06.2016 г.

Теоретическая значимость работы заключается в том, что на основании результатов исследования определен период генерирования инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в кишечнике и на коже пупочного остатка новорожденных, предупреждающий о необходимости развертывания дополнительных противоэпидемических мероприятий в лечебной организации. Подтверждена возможность применения комбинации антимикробных препаратов и бактериофагов (протейных и стафилококковых) в схемах лечения пациентов. Использование выделенных новых специфичных протейных бактериофагов и их комбинации с антибиотиками будет способствовать предотвращению развития вспышек инфекционных заболеваний бактериологической этиологии. Исследование литических свойств коммерческих фаговых коктейлей определило востребованность коррекции маточных составов лекарственных препаратов. Выявлена необходимость дальнейших разработок, направленных на выделение бактериофагов, активных в отношении штаммов *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.* и *E. coli* серотипа O26. Доказана целесообразность внедрения комплексной системы мониторинга за чувствительностью бактерий – возбудителей бактериальных заболеваний к фагосодержащим лекарственным препаратам.

Практическая значимость диссертационной работы заключается в том, что выделены новые штаммы вирулентных бактериофагов: P16-2532 и 2207-№35, лизирующие бактериальные культуры *Proteus mirabilis*, изолированные в организации родовспоможения. Аннотированные полногеномные последовательности депонированы в базе данных NCBI GenBank под номерами MN840486.1 и MN840487.1. Предложенный «Способ оценки литической активности бактериофагов» обеспечивает определение изменений жидкой питательной среды взаимодействия бактерий и бактериофагов в числовых значениях. Способ позволяет исключить субъективизм при оценке литических свойств бактериофагов, а также может использоваться в мониторинге за чувствительностью возбудителей бактериальных инфекций к коммерческим фаговым коктейлям. Очевидно, что разработанная методика повысит достоверность результатов и обеспечит эффективность применения бактериофагов в лечебно-профилактической деятельности.

Способ количественной оценки литической активности бактериофагов внедрен в работу бактериологической лаборатории ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Роспотребнадзора (акт внедрения от 13.01.21 г.), на кафедре микробиологии ГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России (акт внедрения № 1 от 04.02.2021 г.) и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Тюменской области» (акт внедрения от 02.02.2021 г.).

Диссертационная работа выполнена с использованием совокупности современных методов исследований. Достоверность результатов обеспечена достаточным массивом фактических данных, продуманным дизайном, адекватно сформулированными целями и задачами, корректно проведенным статистическим анализом результатов, обоснованными выводами, положениями, рекомендациями.

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

Комиссия не установила в диссертации и автореферате фактов некорректного заимствования материалов без ссылок на первоисточники. Отчет о проверке на заимствования с помощью системы «Антиплагиат» на сайте [www.antiplagiat.ru](http://www.antiplagiat.ru) показал, что оригинальность текста составляет 86,69%, заимствования – 10,98%, самоцитирование - 0%, цитирование 2,33%.

Материалы исследования и основные положения диссертационной работы обсуждались на 4 конференциях различного уровня, в том числе с международным участием.

Диссертация содержит достоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.



По материалам диссертации опубликовано 17 печатных работ, из них 6 статей в рецензируемых изданиях, 1 статья - в другом издании, 2 тезиса в рецензируемых изданиях, 8 публикаций в сборниках научных трудов и материалах конференций. Получен 1 патент РФ на изобретение.

Диссертация соответствует профилю Диссертационного совета 64.1.004.01.

В качестве **ведущей организации** предлагается утвердить Федеральное бюджетное учреждение науки «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Согласие ведущей организации имеется.

В качестве официальных оппонентов предлагаются:

**Туйгунов Марсель Маратович** - доктор медицинских наук (03.00.07 - микробиология), профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России)

**Гаевская Наталья Евгеньевна** - кандидат медицинских наук (03.02.03 - микробиология), ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории бактериофагов, и.о. начальника отдела диагностических препаратов «Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Согласия оппонентов имеются.

**Заключение: комиссия Диссертационного совета 64.1.004.01. рекомендует диссертацию Вакаринной Арины Александровны «Литические свойства бактериофагов основных возбудителей бактериальных инфекций» по специальности: 1.5.11- микробиология к приему к защите.**

Заключение подготовили члены комиссии Диссертационного совета 64.1.004.01:

**Председатель:**

Руководитель отдела медицинской биотехнологии  
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,  
доктор биологических наук, доцент

 Е.А. Воропаева

**Заместитель председателя 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

**Члены комиссии:**

Главный научный сотрудник лаборатории  
диагностики и профилактики инфекционных заболеваний  
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,  
доктор биологических наук

 А.М. Затевалов

Заведующий лабораторией медико-биологических  
исследований НИИ ДП РАСХН,  
доктор биологических наук

 Б.М. Мануйлов

Управляющий директор УК Фармаклон,  
доктор медицинских наук, профессор

 А.В. Степанов