

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д.208.046.01 НА БАЗЕ 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 ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 04 июня 2015г. №5

О присуждении Вечерковской Марии Фёдоровне, гражданке Российской Федерации учёной степени кандидата медицинских наук.

Диссертация "Оценка микробиоты ротовой полости у детей с онкогематологическими заболеваниями" по специальности 03.02.03 – микробиология принята к защите 01.04.2015 г. протокол № 5 диссертационным советом Д.208.046.01 на базе 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 (125212, Москва, ул Адмирала Макарова, 10). Диссертационный совет утверждён Приказом Министерства образования и науки РФ № 714/нк «О советах по защите докторских и кандидатских диссертаций» от 2 ноября 2012 г., приказ №219/нк от 05.03.2015 г. част.изм.

Соискатель Вечерковская Мария Фёдоровна, 1984 года рождения. В 2008 году окончила Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова" Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию по специальности лечебное дело. В 2011 году окончила ординатуру по специальности "Педиатрия" при Федеральном государственном бюджетном учреждении "Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева" Министерства здравоохранения Российской Федерации. Работает в должности ассистента кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии имени академика Д.К. Заболотного в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация выполнена на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии имени академика Д.К. Заболотного Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.



Научный руководитель – академик РАЕН, доктор медицинских наук (03.02.03 - микробиология), профессор Тец Виктор Вениаминович, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра микробиологии вирусологии и иммунологии имени академика Д.К. Заболотного, заведующий.

Официальные оппоненты: Афиногенов Геннадий Евгеньевич - доктор медицинских наук (03.02.03 - микробиология), профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Санкт-Петербургский государственный университет", кафедра челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии факультета стоматологии и медицинских технологий профессор кафедры; Быков Анатолий Сергеевич – доктор медицинских наук (03.02.03 - микробиология), профессор, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии, профессор кафедры – дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное бюджетное учреждение науки “Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера”, г. Санкт-Петербург, в своём положительном заключении, подписанном Кафтыревой Лидией Алексеевной, доктором медицинских наук, лаборатория кишечных инфекций, заведующая, указала, что диссертация является работой, в которой содержится решение актуальной научно-практической задачи оценки микробиоты слюны детей с онкогематологическими заболеваниями в стадии ремиссии, разработке алгоритма выделения чистых культур "пока некультивируемых" бактерий.

Соискатель имеет 8 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации – 6 работ из них 4 работы опубликованы в рецензируемых научных изданиях, 2 – в других изданиях общим объёмом 19 страниц и авторским вкладом – 17 страниц. Наиболее значимые научные работы по теме диссертации: 1). Тец, В.В. Микробы, неизвестные как представители нормальной микрофлоры ротовой полости человека / В.В. Тец, М.Ф. Вечерковская, А.А. Доморад, Д.С. Викина, Д.В. Михайлова, Е.И. Онищенко, Г.В. Тец Ю.А. Трофимова, В.В. Харламова // Ученые записки СПбГМУ им. И.П.Павлова. – 2012. – Т. 19, № 3. - С. 113-116. 2). Тец, Г.В. Новые подходы к изучению условно-патогенных бактерий микрофлоры ротовой полости человека / Г.В. Тец, Н.К. Артеменко, Н.В. Заславская, Д.С. Викина, В.В. Тец, М.Ф. Вечерковская, А.А. Доморад, Харламова В.В. // Стоматология. – 2013. – Т. 92, №1. – С. 14-16. 3). Тец, В.В. Неизвестные возбудители заболеваний в микрофлоре ротовой полости человека, актуальные для оториноларингологии / В.В. Тец, Г.В. Тец, Д.С. Викина, М.Ф. Вечерковская, В.В.



Харламова // Вестник оториноларингологии. - 2014. - №1. - С. 33-36. Получено свидетельство о государственной регистрации базы данных «Microbes» №2013620895 от 08 августа 2013г. Федеральной службы по интеллектуальной собственности.

На диссертацию и автореферат поступило 4 положительных отзыва без замечаний от 1) Член-корр. РАН, д.б.н., профессора Ившиной И.Б., заведующей лабораторией алканотрофных микроорганизмов и к.м.н., доцента Коробова В.П., заведующего лабораторией биохимии развития микроорганизмов Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН; 2) д.м.н., профессора Калуцкого П.В., проректора по образовательной деятельности и общим вопросам, заведующего кафедрой микробиологии вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО "Курский государственный медицинский университет"; 3) д.м.н. Штиля А.А., заведующего лабораторией механизмов гибели опухолевых клеток ФГБУ "РОНЦ имени Н.Н. Блохина"; 4) д.м.н., профессора Сбойчакова В.Б., заведующего кафедрой микробиологии ФГБВОУ ВПО "Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова" Министерства обороны РФ. В отзывах отмечено, что впервые выявлены особенности микробиоты слюны детей с онкогематологическими заболеваниями, обусловленные как микробным разнообразием, так и резистентностью к различным противомикробным препаратам; разработан алгоритм выделения "пока некультивируемых" бактерий; получен в виде чистой культуры штамм нового, ранее неизвестного вида бактерий рода *Streptococcus*; создана уникальная база результатов проводимых исследований, позволяющая оперативно суммировать и анализировать большие объёмы информации в различных форматах на основе нового биоинформационного алгоритма.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тематикой научных исследований, компетентностью в вопросах, рассмотренных в диссертации большим опытом работы в области микробиологии и проведения молекулярно-генетических исследований, в том числе, посвящённой исследованиям микробиоты ротовой полости.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований разработана концепция о влиянии полихимиотерапии на состав микробиоты детей с онкогематологическими заболеваниями, а также выявлены различия в составе микробных сообществ микробиоты слюны здоровых и больных детей. Предложены методики разработки алгоритмов получения чистых культур "пока некультивируемых" бактерий. Доказана перспективность использования данных о составе микробиоты слюны и антибиотикоустойчивости отдельных представителей микрофлоры при выявлении возбудителей инфекционных осложнений у пациентов с иммуносупрессией. Впервые введены данные о геноме нового, выявленного вида стрептококков, который содержит различные гены патогенности и антибиотикоустойчивости и сиквенс гена, кодирующего 16S рРНК.



Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказано, что смешанные бактериальные сообщества, полученные из слюны детей, обладают определённой стабильностью, воспроизводятся при пересевах и содержат культивируемые и пока не культивируемые бактерии, многие из которых не удаётся получить в виде чистых культур на использованных известных питательных средах. Применительно к проблематике диссертации, результативно использован комплекс методов исследования, позволивший изолировать, культивировать и всесторонне изучить новый вид бактерий рода *Streptococcus*. В данном исследовании изложены основы для дальнейшего изучения микробиоты детского возраста, которые позволят охарактеризовать её состав и определить влияние микрофлоры на эффективность и исход противоопухолевого лечения. Раскрыты данные о впервые выделенном, ранее не описанном и не поддававшемся культивированию микроорганизме рода *Streptococcus*, его геноме, генах патогенности и антибиотикоустойчивости. Изучены состав и свойства микроорганизмов из смешанных микробных биоплёнок, выделенных из микрофлоры слюны здоровых детей и детей с онкогематологическими заболеваниями в стадии ремиссии в возрасте от 2 до 10 лет. Проведена модернизация методов выделения "некультивируемых" бактерий.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработаны алгоритмы изучения микробиоты ротовой полости которые внедрены в работу НИЦ, кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии и микробиологической лаборатории ГБОУ ВПО "ПСПбГМУ им. ак. И.П. Павлова" для использования в научных исследованиях и в ходе выделения сложно идентифицируемых бактерий при инфекционных осложнениях у пациентов с иммуносупрессией (акт внедрения №282 от 19 ноября 2014 года). Определены особенности микробиоты здоровых детей и больных онкогематологическими заболеваниями детей. Создана оригинальная база данных результатов исследований "Microbes", основанная на новом биоинформационном алгоритме, на которую получено свидетельство о государственной регистрации №2013620895 от 08 августа 2013г. Данные о штамме нового вида бактерий рода *Streptococcus*, его геном, гены патогенности представлены в международной базе данных генотипов NCBI (№ CP007628) и доступны для использования при изучении микробиоты человека.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что исследование основано на большом объёме материала и проведено на высоком научно-методическом уровне с применением классических и современных молекулярно-генетических методов с использованием современных стандартов и сертифицированного оборудования. Бактериологическими и биохимическими методами было исследовано более 3500 тысяч штаммов бактерий. Теория о влиянии полихимиотерапии на состав микробиоты слюны детей основывается на данных, представленных в исследованиях, посвящённых изучению взаимосвязи неопластических процессов и микрофлоры человека. Идея базируется на



мировых научно-исследовательских данных микробиологических и молекулярно-генетических исследований микробиоты ротовой полости человека. Использовано сравнение авторских данных и данных, полученных ранее по проблеме изучения микробиоцинозов. Установлено, что большинство результатов исследования согласуется с результатами других авторов, представленных в независимых источниках по проблеме изменения микробиоты под влиянием противомикробной и химиотерапии. Использованы сертифицированные методы исследования и описательной статистики, компьютерные программы и международные информационные базы данных. Статистическая обработка данных производилась с помощью программы Octave.

Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации заключалось в проведении микробиологической части (сбор материала, проведение культивирования на плотных питательных средах и изучение культурально-морфологических свойств, определение чувствительности выделенных штаммов к антибиотикам), молекулярно-генетической части (выделение ДНК штаммов, проведение ПЦР) и биотехнологической части (разработка и оптимизация биоинформационного алгоритма для хранения и систематизации результатов исследований, интерпретация результатов секвенирования штаммов и их подготовка для филогенетического анализа оценка показателей родства между штаммами). Выбор пациентов проводился совместно с директором "ИДГиТ им. Р.М. Горбачевой", заслуженным врачом РФ, д.м.н., профессором Афанасьевым Б.В.; секвенирование 16S рРНК и генома бактерий совместно с с.н.с. лаборатории иммунологии НИЦ ГБОУ ВПО "ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова" МЗ РФ к.м.н. Тецем Г.В.; микробиологические исследования совместно с с.н.с. лаборатории иммунологии НИЦ ГБОУ ВПО "ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова" МЗ РФ, к.б.н. Доморад А.А.

На заседании 04 июня 2015 г. диссертационный совет принял решение присудить Вечерковской М.Ф. учёную степень кандидата медицинских наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек из них 11 докторов наук по специальности 03.02.03 – микробиология, участвовавших на заседании, из 26 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 18, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета, Заслуженный деятель науки РФ,  
доктор медицинских наук, профессор *Афанасьев* Афанасьев Станислав Степанович  
Учёный секретарь диссертационного совета,  
доктор медицинских наук *Борисова* Борисова Ольга Юрьевна

04 июня 2015 г.

