

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, профессора кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации Ипполитова Евгения Валерьевича на диссертационную работу Ганиной Екатерины Борисовны на тему: «Характеристика биологических свойств *Staphylococcus aureus*, выделенных от здоровых школьников Тверской области», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. – Микробиология (биологические науки)

Актуальность темы исследования

Золотистый стафилококк и вызываемые им гнойно-воспалительные заболевания продолжают оставаться важной медико-социальной проблемой как российского, так и мирового здравоохранения. Это связано с широким распространением *Staphylococcus aureus*, с постоянно растущей частотой встречаемости инфекций, связанных со *S. aureus*, а также нанесением существенного вреда здоровью данными микроорганизмами и т.д. Штаммы *S. aureus* обладают целым арсеналом биологических свойств, позволяющих им успешно колонизировать практически все ткани и органы, где они способны персистировать годами. Золотистые стафилококки как условно-патогенные микроорганизмы являются компонентом практически всех микробиоценозов человека и животных. Однако, при определённых условиях, штаммы *S. aureus* могут провоцировать возникновение гнойно-воспалительных заболеваний, которые представляют опасность разной степени тяжести для макроорганизма, вплоть до летального исхода. Золотистые стафилококки очень часто являются причиной развития инфекционного процесса у всех возрастных и социальных групп во всех странах мира. Клиническая значимость *S. aureus* в этиологии заболеваний постоянно возрастает, особенно у детей школьного возраста, что заставляет

задуматься над данной проблемой и продолжать её изучение с разных сторон и в разных регионах Российской Федерации.

Таким образом, актуальность диссертационного исследования Ганиной Екатерины Борисовны заключается в изучении распространённости и биологических свойств штаммов *S. aureus*, выделенных от здоровых школьников 7–11 лет, проживающих в Тверской области, и не вызывает сомнений в своей необходимости.

Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В результате исследований проведённых Ганиной Е.Б. была изучена микробиологическая картина (спектр, распространённость и количество) слизистой оболочки верхних дыхательных путей (полость носа и зева) здоровых детей 7–11 лет, проживающих в г. Твери и г. Торжке Тверской области. Диссертантом выявлен высокий процент носительства *S. aureus* у здоровых школьников: нос (45 % — г. Тверь, 80 % — г. Торжок), зев (55 % — г. Тверь, 20 % — г. Торжок). Установлено, что все изолированные штаммы *S. aureus* характеризуются широким набором патогенных свойств (высокая и средняя антагонистическая активность по отношению к условно-патогенным и патогенным микроорганизмам; наличие лецитиназной, коагулазной, гемолитической и казеинолитической активностей; высокая степень адгезии; наличие в основном продукции NO и H₂S; резистентность к антибиотикам), обладание которыми определяет их потенциальную опасность для организма-хозяина вследствие способности вызывать инфекционный процесс.

Впервые автором показана возможность развития экспериментального стафилококкового стоматита у лабораторных крыс после заражения животных штаммом *S. aureus*, который был изолирован со слизистой оболочки зева клинически здорового ребёнка г. Твери. В результате проведённого эксперимента впервые дана подробная характеристика динамических изменений микробиоты полости рта белых крыс при травматическом и

бактериальном стоматите. Изучен видовой состав, частота встречаемости и количественные показатели микроорганизмов слизистой ротовой полости интактных крыс и крыс, страдающих стоматитом, а также в процессе и после лечения стоматита высокоантагонистическими штаммами *L. fermentum* и *L. rhamnosus*, обладающими высоким пробиотическим потенциалом. Целесообразность коррекции пробиотическими культурами *Lactobacillus* бактериального стоматита, вызванного штаммом *S. aureus*, который был выделен от здорового ребёнка, но обладал «агрессивными» свойствами, была доказана как микробиологическими, так и гистологическими методами.

Степень достоверности и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность полученных результатов диссертационной работы Ганиной Е.Б. основана на выборе рационального дизайна исследования (одномоментное поперечное исследование и серия экспериментов), большом объёме исследуемого материала, современных и корректных методах сбора информации и методов исследования, соответствующих цели и задачам диссертации, использовании сертифицированного и поверенного оборудования, а также на адекватной оценке достоверности полученных данных с помощью соответствующих статистических критериев.

Положения, выносимые на защиту, и выводы научно обоснованы и соответствуют результатам, проведённых исследований.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Теоретическая значимость диссертационного исследования Ганиной Е.Б. состоит в том, что данные о распространённости и биологических свойствах золотистого стафилококка, полученные в результате изучения микробиоты верхних дыхательных путей здоровых школьников 7 – 11 лет, проживающих в Тверской области, дополняют уже имеющиеся аналогичные сведения о бактерионосительстве *S. aureus* среди здоровых детей школьного возраста, проживающих в других регионах Российской Федерации. Эти

сведения позволяют в некоторой степени оценить состояние иммунологического статуса детей и должны быть учтены при разработке профилактических мероприятий заболеваний верхних дыхательных путей у детей в возрасте от 7 до 11 лет.

Практическая значимость работы заключается в том, что диссертантом были изучены биологические свойства штаммов *S. aureus*, выделенных со слизистых оболочек носа и зева клинически здоровых детей г. Твери и г. Торжка Тверской области. Далее в эксперименте на лабораторных белых крысах была доказана потенциальная опасность изолированных штаммов *S. aureus* (способны вызывать развитие воспалительного процесса в ротовой полости). Для этого автором разработан способ моделирования стафилококкового стоматита, который может быть применён также при изучении инфекционно-воспалительных поражений ротовой полости, спровоцированных другими микроорганизмами.

Результаты диссертационной работы Ганиной Е.Б. внедрены в образовательный процесс кафедры микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии и кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ФГБОУ ВО «Тверской государственной медицинской университет» Минздрава РФ, а также кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава РФ.

Апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях

Полученные результаты исследования были доложены Ганиной Е.Б. на 11 конференциях всероссийского и международного уровня и в полном объёме опубликованы в 21 печатной работе: 6 статей в рецензируемых изданиях, 4 тезисов – в рецензируемых изданиях, 11 тезисов — в материалах конференций. Зарегистрировано 3 Базы данных.

Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации

Диссертационная работа Ганиной Екатерины Борисовны оформлена согласно требованиям, предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям. Работа содержит 136 страниц компьютерного текста и состоит из «Введения», «Обзора литературы», 2 глав «Результатов собственных исследований», «Обсуждения результатов и заключения», «Выводов», «Практических рекомендаций», «Перспектив дальнейшей разработки темы», «Списка сокращений», «Списка литературы», «Приложения», «Благодарности». Диссертация иллюстрирована 16 рисунками и 13 таблицами. Список литературы включает 201 источник отечественных и зарубежных авторов.

В разделе «**Введение**» автор даёт представление об актуальности и степени разработанности темы исследования, формулирует цель и задачи, описывает научную новизну, теоретическую и практическую значимость, методологию и методы исследования, личное участие в получении результатов, излагает положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробацию результатов.

В главе «**Обзор литературы**», который включает три подраздела, представлены сведения о бактерионосительстве *S. aureus* среди клинически здоровых лиц и типах носительства, охарактеризованы предпочтительные биотопы колонизации *S. aureus* и его взаимодействие в них с другими микроорганизмами. Подробно описано распространение *S. aureus* в популяциях человека в зависимости от возраста и социальной принадлежности, а также адаптационные свойства, способствующие длительной персистенции. Обзор информативен, содержит большое число источников, которые активно используются при обсуждении результатов.

«**Результаты собственных исследований**» подробно представлены в двух главах. В главе «Характеристика биологических свойств *Staphylococcus aureus*, изолированных от школьников Тверской области» дано описание

микробного пейзажа (спектр, частота встречаемости и количество) слизистой оболочки полости носа и зева 96 здоровых детей 7–11 лет (всего выделено 523 штамма), а также охарактеризованы биологические свойства 31 штамма *S. aureus*, изолированных из этих биотопов. Ганиной Е.Б. представлены результаты: биохимической активности *S. aureus*, полученные с помощью тест-системы API®; определения антагонистической активности *S. aureus* к тест - культурам *S. aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* Typhimurium 415, *Shigella sonnei* I фазы 941, *Bacillus subtilis* 534; определения факторов патогенности (ферментативная активность) *S. aureus*; исследования чувствительности *S. aureus* к 11 наименованиям антимикробных препаратов. Диссертантом изучена адгезивная способность *S. aureus* с помощью среднего показателя адгезии (СПА) на клетках многослойного плоского неороговевающего эпителия слизистой оболочки ротовой полости человека – 6,81±0,59 (г. Тверь), 8,1±0,95 (г. Торжок), что соответствует высокой степени адгезии. Выявлены некоторые различия в способности штаммов *S. aureus*, к продукции газовых сигнальных молекул (H₂, O₂, N₂, CO, CH₄, CO₂, NO, H₂S) – больше всего их продуцировали штаммы, выделенные от школьников г. Твери, по сравнению со штаммами из г. Торжка.

Далее диссертантом из 31 изученного штамма *S. aureus* был выбран один, характеризующийся наиболее широким набором патогенных свойств, который использовали в качестве провоцирующего фактора развития экспериментального стафилококкового стоматита у белых крыс.

В главе «Модель бактериального стоматита в эксперименте на животных» Ганиной Е.Б. описан эксперимент на крысах, который был поставлен для продолжения изучения биологических свойств *S. aureus* in vivo (использован штамм золотистого стафилококка, изолированный от здорового ребёнка 8 лет (г. Тверь) путём моделирования стоматита. Микробиологическими и гистологическими методами доказано, что данный

штамм *S. aureus* способен вызвать развитие стафилококкового стоматита в эксперименте на лабораторных животных. На моделях травматического и бактериального стоматита изучены динамические изменения видового состава, распространённости и количества микробиоты полости рта, выявлены морфологические особенности слизистой оболочки десны крыс. Показана возможность эффективной коррекции лечения бактериального стоматита высокоантагонистическими культурами *L. fermentum* и *L. rhamnosus* с высоким пробиотическим потенциалом, которые воздействуют на *S. aureus* как причину возникновения заболевания.

В главе «**Обсуждение результатов и заключение**» автор проводит анализ и сопоставляет полученные результаты с данными других исследователей. Диссертантом впервые создана экспериментальная модель стафилококкового стоматита на крысах, позволившая доказать потенциальную опасность штамма *S. aureus*, выделенного от клинически здорового носителя.

«**Выводы**» по диссертационной работе научно обоснованы, полностью соответствуют поставленным цели и задачам, обобщают основные результаты исследования. На основании полученных данных автором сформулированы **практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы.**

Соответствие специальности

Тема диссертационной работы, объём проведённых исследований, основные положения и выводы, сформулированным автором, полностью соответствует специальности 1.5.11. – Микробиология (биологические науки).

Принципиальных замечаний по диссертации нет. В рукописи имеются отдельные опечатки, которые не снижают научной и практической ценности работы.

В процессе ознакомления с диссертационной работой у меня возникли

следующие вопросы:

1) Изучение микробиоты полости носа и зева проводилось у здоровых школьников 7 – 11 лет. По каким критериям была выбрана возрастная группа, и как Вы объясняете высокий процент носительства *S. aureus* у детей именно этого возраста?

2) В Вашем эксперименте у лабораторных крыс моделировался бактериальный стоматит, который развился вследствие воздействия на слизистую оболочку ротовой полости крыс штамма золотистого стафилококка, изолированного от ребёнка. Однако по Вашим данным у многих животных в составе нормобиоты полости рта присутствуют «свои» *S. aureus*. Почему именно привнесённый штамм вызывал заболевание?

Заключение

Диссертационная работа Ганиной Екатерины Борисовны на тему: «Характеристика биологических свойств *Staphylococcus aureus*, выделенных от здоровых школьников Тверской области», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. – Микробиология (биологические науки), выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора Червинец Юлии Вячеславовны и доктора медицинских наук, доцента Шестаковой Валерии Геннадьевны является завершённой научно-квалификационной работой и содержит новое решение актуальной научной задачи – охарактеризовать биологические свойства *S. aureus*, изолированных от клинически здоровых школьников 7–11 лет, проживающих в Тверской области, определить потенциальную способность золотистого стафилококка вызвать бактериальный стоматит в эксперименте на белых крысах и оценить целесообразность коррекции данного заболевания культурами *Lactobacillus*.

По актуальности, новизне и практической значимости диссертационная работа Ганиной Екатерины Борисовны отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней»,

утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (в редакции Постановлений Правительства РФ № 335 от 21.04.2016г., № 748 от 02.08.2016 г., № 650 от 29.05.2017 г., № 1024 от 28.08.2017 г., № 1168 от 01.10.2018 г., № 426 от 20.03.2021, с изменениями, внесёнными Постановлением Правительства РФ № 751 от 26.05.2020 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а её автор, Ганина Екатерина Борисовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. – Микробиология (биологические науки).

Официальный оппонент:

Профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (127473, Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр.1, +7 (495) 609 – 67 – 00, msmsu@msmsu.ru).

доктор медицинских наук,
профессор

Ипполитов Евгений Валерьевич

Подпись Е.В. Ипполитова заверяю:

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (127473, Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр.1, +7 (495) 609 – 67 – 00, msmsu@msmsu.ru).

доктор медицинских наук, профессор

Васюк Юрий Александрович

22 ноября 2021г.