

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 Каминского Валерия Васильевича на тему «Микробиологические и биотехнологические аспекты создания ESKAPE-элиминирующей бионаноструктурированной композиции» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 1.5.6 – биотехнология, 1.5.11 – микробиология.

Научные руководители:

Алешкин Андрей Владимирович – доктор биологических наук (03.01.06 – Биотехнология, 03.02.03 - Микробиология), профессор РАН, член-корреспондент РАН, заместитель директора по медицинской биотехнологии, главный научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов Федерального бюджетного учреждения науки «Московский НИИ 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).

Емельяненко Александр Михайлович – доктор физико-математических наук (02.00.04 – Физическая химия), заведующий лабораторией поверхностных сил Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физической химии и электрохимии имени А.Н. Фрумкина» Российской академии наук (ИФХЭ РАН).

Диссертационная работа Каминского В.В. соответствует специальностям: 1.5.6 – биотехнология (биологические науки), 1.5.11 – микробиология (биологические науки).

Работа посвящена разработке ESKAPE-элиминирующей бионаноструктурированной композиции, снижающей риск распространения ESKAPE-патогенов, технологии нанесения культур бактерий и бактериофагов на металлические пластины, исследованию биологических, физико-химических особенностей взаимодействия клеток бактерий, бактериофагов и текстурированных поверхностей, оценке антибактериальных свойств супергидрофильных и супергидрофобных нанотекстурированных поверхностей металлов, анализу антибактериальной активности органо-неорганических гибридных покрытий металлов с сорбированными бактериофагами, оценке влияния коррозионной стойкости поверхностей металлов с экстремальной смачиваемостью на их антибактериальную активность.

В ходе диссертационного исследования впервые в РФ разработаны микробиологические и биотехнологические принципы создания ESKAPE-элиминирующей бионаноструктурированной композиции, представляющей собой комплекс бактериофагов с супергидрофильными и супергидрофобными поверхностями из алюминия, меди, магния и нержавеющей стали. Разработаны модели контаминации бактериальными штаммами *A. baumannii* B-05, *K. pneumoniae* B-811, *P. aeruginosa* B-3086 и *S. aureus* 2004 нанотекстурированных поверхностей с экстремальной смачиваемостью из алюминиевого сплава AMG, медного сплава M1M, магниевое сплава M8 и нержавеющей стали марки 12X18H10T, имитирующие различные условия распространения ESKAPE-патогенов: в условиях «сухого» контакта в экспериментах с высыханием бактериальной суспензии на поверхности образцов, «мокрого» контакта с созданными условиями 100% влажности и «влажного» контакта в экспериментах с погружением исследуемых образцов в бактериальную суспензию.

В результате проведенных исследований впервые на основе физико-химических методов исследовано взаимодействие клеток бактерий, бактериофагов и текстурированных поверхностей, раскрывающее механизм влияния поверхностей с экстремальной смачиваемостью на патогенные микроорганизмы. Взаимодействие бактериальных штаммов с супергидрофильными поверхностями из алюминиевого сплава AMG и медного сплава M1M реализуется по механизму контактного уничтожения бактерий за счет пенетрации, деформации и повреждения клеточной мембраны текстурами на всей поверхности образцов, а в случае с супергидрофобными поверхностями – контактного уничтожения на вершинах гребней текстур, препятствия первичной адгезии и предупреждения колонизации бактерий, что связано с отрицательными

значениями дзета-потенциалов бактериальных штаммов (*K. pneumoniae* B-811 - -27 мВ, *A. baumannii* 1053 - -43,1 мВ, *S. aureus* 2004 - -42,7 мВ, *P. aeruginosa* 3086 - -17 мВ), положительным зарядом у супергидрофильных металлических поверхностей в водных растворах и отрицательным - у супергидрофобных образцов. Отрицательные значения дзета-потенциалов бактериофагов (*Klebsiella phage KpV811* - -32,8 мВ, *Acinetobacter phage AM24* - -24 мВ, *Pseudomonas phage PA10* - -32,5 мВ, *Staphylococcus phage SCH111* - -24,4 мВ) и штаммов бактерий позволяют исключить электростатический сценарий «стыковки» фага с бактериальной клеткой. Положительный заряд супергидрофильных образцов способствует адгезии отрицательно заряженных бактериофагов на их поверхности. При взаимодействии бактериофагов с супергидрофобными образцами свойства последних – водоотталкивание и отрицательный заряд на границе с водными растворами, нивелируются за счёт применения в модельных экспериментах гексана, позволяющего осуществить сорбцию фаговых частиц на данном типе поверхностей.

Проведена оценка эффективности антибактериальной активности разработанной бионаноструктурированной композиции в отношении ведущих возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи - *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*. Разработанные ESKAPE-элиминирующие бионаноструктурированные композиции, представляющие собой устойчивые соединения супергидрофильных и супергидрофобных нанотекстурированных поверхностей из алюминиевого сплава AMG и медного сплава M1M с бактериофагами *Acinetobacter phage AM24*, *Klebsiella phage KpV811*, *Pseudomonas phage PA10*, *Staphylococcus phage SCH111* в титре не менее  $10^6$  БОЕ/мл, снижают риск контаминации образцов бактериальными штаммами *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, причем антибактериальная активность супергидрофобных нанотекстурированных подложек из алюминиевого сплава за счет бактериофагов, сорбированных на их поверхностях, становится выше в 200 раз. Было также показано, что выраженным антибактериальным эффектом обладают супергидрофильные нанотекстурированные поверхности из алюминиевого сплава AMG, так в экспериментах по контаминации образцов *A. baumannii* B-05, *K. pneumoniae* B-811, *P. aeruginosa* B-3086, *S. aureus* 2004 он превышал антибактериальную активность супергидрофобных образцов в 2600 раз.

Теоретическая значимость работы заключается в том, что на основе исследования механизмов взаимодействия бактериофагов, бактерий и нанотекстурированных поверхностей разработаны теоретические основы моделирования бактериального загрязнения и предотвращение микробной контаминации неорганических поверхностей. Получены новые знания о природе взаимодействия бактерий и бактериофагов с супергидрофильными и супергидрофобными поверхностями металлов на основе физико-химических свойств, в том числе значений дзета-потенциалов перечисленных выше объектов исследования.

Практическая значимость работы заключается в том, что разработана пилотная технология нанесения бактериофагов на супергидрофобные и супергидрофильные покрытия металлов, ориентированная на получение бактерицидных поверхностей, применение которых в лечебно-профилактических организациях будет способствовать снижению риска распространения ESKAPE-патогенов.

Разработаны биотехнологические подходы к созданию композиций бактериофагов, сорбированных на супергидрофильных и супергидрофобных нанотекстурированных поверхностях из алюминия, меди, магния и нержавеющей стали, которые могут применяться также и для поверхностей из других материалов.

Созданные модели контаминации бактериальными штаммами нанотекстурированных поверхностей с экстремальной смачиваемостью, имитирующие различные условия распространения ESKAPE-патогенов, вместе с разработанной методикой оценки антибактериальной активности могут быть использованы для определения бактерицидного эффекта поверхностей, обладающих антибактериальными свойствами.

Результаты диссертационной работы внедрены в педагогический процесс кафедры клинической микробиологии и фаготерапии факультета дополнительного профессионального образования Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения

высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации при изучении дисциплин «Фаготерапия, фагопрофилактика, клиническая и лабораторная диагностика инфекционных заболеваний с применением бактериофагов», «Вопросы бактериологии» читаемых слушателям кафедры по специальности «Бактериология» (акт внедрения от 14.04.22 г.). Аналитическая методика контроля показателя «Антибактериальная активность» бактерицидных поверхностей внедрена в практическую деятельность лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора (акт внедрения от 18.05.22 г.).

Диссертационная работа выполнена с использованием совокупности современных и апробированных методов исследований. Достоверность полученных результатов основана на достаточном объеме выборки исследуемых образцов, применении современных и традиционных микробиологических и физико-химических методов. Проведенное системное микробиологическое и физико-химическое исследование взаимодействия штаммов микроорганизмов и исследуемых поверхностей металлов с экстремальной смачиваемостью позволило получить данные, сопоставимые с данными других исследователей в сфере микробиологии и биотехнологии. Научные положения и выводы, сформулированные Каминским В.В., логически вытекают из результатов, полученных в ходе диссертационной работы.

По объему проведенных исследований, их новизне и практической значимости работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 1.5.6 – биотехнология, 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 94,34%, самоцитирование – 0%, цитирование 0,3%, совпадения – 5,36%.

Диссертация содержит достоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации. По материалам диссертации опубликовано 8 печатных работ, в том числе 7 статей в рецензируемых изданиях и 1 в материалах конференций (тезисы).

Диссертация соответствует профилю Диссертационного совета 64.1.004.01.

В качестве **ведущей организации** предлагается утвердить Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» (ФИЦ ПНЦБИ РАН). Согласие ведущей организации имеется.

В качестве **официальных оппонентов** предлагаются:

- Лукьянова Анна Александровна – кандидат биологических наук (1.5.11 - микробиология, 1.5.6 - биотехнология), научный сотрудник лаборатории инструментов для диагностики и терапии инфекционных заболеваний. Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук» (ИБХ РАН).
- Соловьева Ирина Владленовна – доктор биологических наук (03.02.08 – экология, 03.02.03 - микробиология), доцент, ведущий научный сотрудник-заведующий лабораторией микробиома человека и средств его коррекции Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И. Н. Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора).

Согласия оппонентов имеются.

**Заключение:** комиссия Диссертационного совета 64.1.004.01. рекомендует диссертацию Каминского Валерия Васильевича на тему «Микробиологические и биотехнологические аспекты создания ESKAPE-элиминирующей бионаноструктурированной композиции» по специальностям: 1.5.6 – биотехнология, 1.5.11 – микробиология к приему к защите.

Заключение подготовили члены комиссии Диссертационного совета 64.1.004.01:

**Председатель:**

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

А.М. Затевалов

**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 лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии, руководитель отдела медицинской биотехнологии ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,  
доктор биологических наук, доцент

Е.А. Воропаева

Заведующий отделом клинической фармакологии с центром клинических исследований  
ГКБ № 67 им. Л.А. Ворохобова ДМЗ,  
доктор медицинских наук, профессор

С.Д. Митрохин