

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

Кандидата биологических наук, научного сотрудника 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» Лукьяновой Анны Александровны на диссертационную работу Каминского Валерия Васильевича «Микробиологические и биотехнологические аспекты создания ESKAPE-элиминирующей бионаноструктурированной композиции», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 1.5.6 – биотехнология, 1.5.11 – микробиология.

### **Актуальность темы диссертации**

Работа Каминского Валерий Васильевича посвящена одной из наиболее актуальных тем современной медицины – способу борьбы с распространением бактериальных инфекций в условиях лечебно-профилактических организаций.

Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), справедливо признаются одной из самых грозных проблем современной медицины за счет увеличения продолжительности лечения, инвалидизации и экономическому ущербу систем здравоохранения во всем мире. Причиной этого является тот факт, что основными возбудителями этих инфекций являются так называемые ESKAPE-патогены, бактерии с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), наиболее распространенные в больничной среде. Эти возбудители по данным ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации входят в десятку наиболее распространенных возбудителей нозокомиальных инфекций за последние 25 лет среди всех стационаров Российской Федерации, а Всемирная организация здравоохранения внесла их в список бактерий, в борьбе с которыми срочно

необходима разработка новых препаратов. Однако на разработку и внедрение новых антибиотиков уходят многие годы в то время, как МЛУ, за счет бесконтрольного применения антимикробных препаратов в медицине и сельском хозяйстве, развивается непомерно высокими темпами. Такая же проблема возникает и с дезинфицирующими средствами, устойчивость к которым также растет стремительно быстро, и осложняется перекрестной устойчивостью к антибиотикам, особенно в условиях медицинских организаций, где применяются обе эти группы. Еще одним способом эффективного лечения и профилактики бактериальных инфекций, а также биодезинфекции, являются препараты на основе бактериофагов, однако их применение сталкивается с рядом ограничений. Таким образом, широким кругом ученых разрабатываются альтернативные способы борьбы с распространением патогенов, примером которых служат покрытия, обладающие антибактериальным действием за счет своей структуры, материалов из которых они изготовлены, физических особенностей, позволяющих противодействовать колонизации. Однако эти подходы не всегда сочетаются вместе, а бактерицидный эффект таких покрытий зачастую недостаточен.

Автором диссертационной работы предложен концептуально новый способ сочетанного антибактериального воздействия органо-неорганических покрытий и биологических агентов, направленный на борьбу с распространением бактериальных агентов в больничной среде. В работе Каминского В.В. проведено практическое исследование особенностей взаимодействия биологических объектов с нанотекстурированными поверхностями металлов, а также показана эффективность этих композиций в отношении актуальных микроорганизмов, вызывающих ИСМП.

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

В диссертационной работе представлены результаты исследования биологических и физико-химических особенностей взаимодействия бактерий, фагов и наноструктурированных поверхностей, оценена их антибактериальная активность. Репрезентативная выборка и грамотная статистическая обработка результатов позволили автору сделать ценные выводы с точки зрения практической медицины. Обоснованность научных результатов, выводов и рекомендаций, представленных в диссертации, подтверждена правильно спланированным дизайном исследования, большим количеством исследованных образцов и адекватно проведенным анализом полученных результатов. Автором проведен анализ 2033 супергидрофильных, супергидрофобных и контрольных образцов из четырех различных сплавов металлов. Разработанный дизайн исследования логично направлен на решение поставленных задач и достижения цели. Отражена последовательность проведенного исследования: разработка технологии нанесения культур бактерий и фагов на пластины, исследование биологических и физико-химических особенностей взаимодействия бактерий, фагов и поверхностей, оценка бактерицидных свойств супергидрофильных и супергидрофобных нанотекстурированных поверхностей, анализ антибактериальной активности покрытий с сорбированными на их поверхности бактериофагами, определение влияния коррозионной стойкости на антибактериальную активность образцов. Выводы и положения, выносимые на защиту сформулированные в диссертации, также соответствуют поставленным задачам, непосредственно следуют из результатов выполненного автором исследования, сформулированы корректно и лаконично.

#### **Научная новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Диссертационное исследование, несомненно, обладает научной новизной. Впервые в Российской Федерации 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.

Автором выполнено оригинальное исследование, в котором проведено на основе физико-химических методов исследование взаимодействия клеток бактерий, бактериофагов и текстурированных поверхностей, раскрывающее механизм влияния поверхностей с экстремальной смачиваемостью на патогенные микроорганизмы.

Проведена достоверная оценка эффективности антибактериальной активности разработанной бионаноструктурированной композиции в отношении ведущих возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи - *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*.

### **Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы**

В ходе выполнения диссертационной работы Каминским В.В. на основе исследования механизмов взаимодействия бактериофагов, бактерий и нанотекстурированных поверхностей разработаны теоретические основы моделирования бактериального загрязнения и предотвращение микробной контаминации неорганических поверхностей

Были 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.

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.

Аналитическая методика контроля показателя «Антибактериальная активность» бактерицидных поверхностей внедрена в практическую деятельность лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора.

#### **Апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях**

По теме диссертации Каминского В.В. опубликовано 11 печатных работ, в числе которых 8 статей в рецензируемых изданиях и 3 – тезисы в материалах конференций.

Основные положения и результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на 5 всероссийских и 4 международных научно-практических конференциях.

Апробация результатов диссертационного исследования проходила на заседании секции «Медицинская биотехнология» Ученого Совета ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора (протокол №4 от 05.12.2022 г.).

### **Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации**

Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и списка использованной литературы. Текст диссертации изложен на 159 страницах машинописного текста, иллюстрирован 23 рисунками и 6 таблицами. Библиографический указатель включает 296 источников: из них 25 русскоязычных, 271 зарубежных.

**Во введении** автор освещает актуальность проблемы, опираясь на данные отечественной и зарубежной литературы, описывает теоретическую концепцию исследования и практическую значимость. Цель работы сформулирована четко. Задачи исследования выстроены связно, отражена последовательность проведенного исследования и разработан оптимальный дизайн.

**В первой главе** представлен обзор литературы, в котором отражены современные статистические данные распространенности и ущерба от ИСМП в Российской Федерации и крупнейших странах мира, приведены подробные характеристики представителей группы ESKAPE-патогенов, современные области применения бактериофагов и бактерицидных поверхностей и свойств металлов, из которых изготовлены образцы, исследуемые в работе.

В целом раздел написан подробно, отражает современные представления о проблеме ИСМП, распространения ESKAPE-патогенов и растущей устойчивости к антибактериальным препаратам, обосновывает необходимость проведенного исследования.

Данные научной литературы, использованные автором, в количественном и качественном отношении достаточны для кандидатской диссертации и соответствует цели и задачам исследования.

**Во второй главе** подробно описан дизайн исследования согласно поставленным задачам. Представлено решение задачи по нанесению штаммов бактерий и фагов на супергидрофильные и супергидрофобные нанотекстурированные поверхности.

**В третьей главе** приведены результаты биологических и физико-химических особенностей взаимодействия бактерий, фагов и текстурированных поверхностей с экстремальной смачиваемостью. Глава иллюстрирована достаточным количеством таблиц и рисунков. Проведена электронная микроскопия исследуемых образцов, визуализирован механизм контактного уничтожения бактерий на текстурах поверхностей. Изучено взаимодействие бактерий с продуктами биологической коррозии металлических поверхностей, катионами меди и магния. Автором определена критическая концентрация ионов меди для бактерий *E. coli* и влияние уровня водородного показателя на *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*. Определена роль поверхностных сил в формировании первичной адгезии бактерий на текстурированных поверхностях и механизма контактного уничтожения бактериальными штаммами.

**В четвертой главе** описан способ расчета антибактериальной активности, сравнение бактерицидных свойств супергидрофильных и супергидрофобных поверхностей из алюминия, меди, магния и нержавеющей стали. Большой объем выборки образцов, дизайна исследования и методов статистической обработки, позволили автору получить достоверные результаты. В результатах диссертационного исследования был доказан выраженный антибактериальный эффект супергидрофильных нанотекстурированных поверхностей, превышающий антибактериальную активность супергидрофобных образцов.

**В пятой главе** была оценена антибактериальная активность супергидрофильных и супергидрофобных образцов из алюминия с сорбированными бактериофагами, проведено сравнение интенсивности обсеменённости микроорганизмами супергидрофобных пластин с сорбированными на их поверхности бактериофагами и без них, где антибактериальная активность супергидрофобных подложек за счет бактериофагов, сорбированных на их поверхностях, становится выше в 200 раз.

**В заключении** Каминским В.В. выделены ключевые результаты работы и отражена их практическая и теоретическая значимость, проведен анализ полученных результатов и их сопоставление целям и задачам исследования. Сделанные автором выводы обоснованы и соответствуют задачам диссертационной работы.

Принципиальных замечаний к выполненной работе, оформлению текста диссертации нет.

Автореферат и опубликованные по данной теме научные работы отражают основные положения диссертации.

### **Заключение**

Диссертационная работа Каминского Валерия Васильевича на тему: «Микробиологические и биотехнологические аспекты создания ESKAPE-элиминирующей бионаноструктурированной композиции», является логичным, законченным, самостоятельным исследованием, имеющим как научную новизну, так и практическую значимость. По объему проведенного исследования, актуальности решаемых задач, новизне, теоретическому и практическому значению, методическому обеспечению и достоверной статистической обработке полученных результатов диссертация Каминского Валерия Васильевича соответствует всем требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (с изменениями в соответствии с Постановлениями Правительства Российской



Федерации от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 26.05.2020 № 751, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539, от 26.09.2022 № 1690, от 26.01.2023 № 101, от 18.03.2023 № 415, от 26.10.2023 №1786, № 62 от 25.01.2024 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Каминский В.В. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 1.5.6 – биотехнология, 1.5.11 – микробиология.

**Официальный оппонент:**

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» (117997, Российская Федерация, Москва, ГСП-7, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10; телефон: +7 (495) 335-01-00; e-mail: a.al.lukianova@gmail.com)

кандидат биологических наук

06.05.2024

Лукьянова Анна Александровна

Подпись Лукьяновой А. А. заверяю:

Ученый секретарь Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук» (117997, Российская Федерация, Москва, ГСП-7, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10; телефон: +7 (495) 335-01-00; e-mail: office@ibch.ru)

доктор физико-математических наук

Олейников Владимир Александрович