

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук, доцента Соловьёвой Ирины Владленовны на диссертационную работу Каминского Валерия Васильевича на тему: «Микробиологические и биотехнологические аспекты создания ESKAPE-элиминирующей бионаноструктурированной композиции», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 1.5.6. – Биотехнология, 1.5.11. – Микробиология (биологические науки)

Актуальность темы диссертационного исследования

Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), становятся глобальной проблемой системы здравоохранения и службы Роспотребнадзора за счет увеличения смертности, инвалидизации и затрат на медицинское обслуживание. Проблема возникновения инфекций, вызванных бактериями с множественной лекарственной устойчивостью и, в первую очередь, представителями группы ESKAPE, становится все более серьезной угрозой здоровью и жизни пациентов. Это обусловлено, во-первых, свойствами самих возбудителей: ESKAPE-патогены очень быстро адаптируются и находят новые способы сопротивления действию лекарственных средств, а также на генетическом уровне передают эту способность другим бактериям. Во-вторых, формированию госпитальных штаммов способствует нерациональное использование антимикробных препаратов и низкие темпы разработки и внедрения новых антибиотиков.

Одним из эффективных и наиболее часто применяемых средств в борьбе с распространением популяций микроорганизмов в медицинских организациях является рациональное использование дезинфицирующих средств, регламентируемое СП 2.1.3678-20 (Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 24.12.2020 № 44) и СанПин 3.3686-21 (Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 № 4), предусматривающее проведение мониторинга чувствительности циркулирующих в медицинском учреждении штаммов микроорганизмов и осуществление обязательной ротации дезинфицирующих средств с разным химическим составом и механизмами противомикробного действия в зависимости от результатов мониторинга. Но несоблюдение времени экспозиции и ошибки в ротации дезсредств приводят к формированию и распространению популяций госпитальных штаммов.

Также как одно из эффективных средств борьбы с ИСМП зарекомендовали себя препараты на основе бактериофагов. Однако в их применении существует ряд ограничений, связанных с их высокой специфичностью и изменением литической активности.

В последние десятилетия также используются альтернативные физические методы контактного уничтожения бактерий и препятствия первичной адгезии с помощью антибактериальных поверхностей. Перспективным способом борьбы с распространением бактериальных агентов в больничной среде могут стать комбинированные антибактериальные композиции, сочетающие в себе преимущества описанных выше средств.

В связи с этим не вызывает сомнения актуальность диссертационной работы Каминского В.В., направленной на разработку ESKAPE-элиминирующей бионаноструктурированной композиции, снижающей риск распространения ESKAPE-патогенов.

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

В результате проведенного исследования Каминским В.В. 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.

Впервые на основе физико-химических методов было исследовано взаимодействие клеток бактерий, бактериофагов и текстурированных поверхностей, раскрывающее механизм влияния поверхностей с экстремальной смачиваемостью на патогенные микроорганизмы.

Впервые была проведена оценка эффективности антибактериальной активности разработанной бионаноструктурированной композиции в отношении ведущих возбудителей бактериальных инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи – *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

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

Достоверность результатов диссертационной работы Каминского В.В. обоснована достаточным количеством исследованных образцов (2033 супергидрофильных, супергидрофобных и контрольных пластин), использованием современных методов исследований (микробиологических, биотехнологических, физико-химических) и оптимально подобранными методами статистической обработки полученных данных.

Дизайн диссертационной работы сформирован диссертантом с учетом анализа актуальных отечественных и зарубежных литературных источников. Сформулированные соискателем положения, выводы и практические рекомендации научно обоснованы и логически вытекают из полученных результатов.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Автором 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.

При выполнении диссертационной работы на основе исследования механизмов взаимодействия бактериофагов, бактерий и нанотекстурированных поверхностей были разработаны теоретические основы моделирования бактериального загрязнения и предотвращения микробной контаминации.

Разработана пилотная технология нанесения бактериофагов на металлические поверхности с экстремальной смачиваемостью, ориентированная на получение бактерицидных покрытий, применение которых в лечебно-профилактических организациях будет способствовать снижению риска распространения ESKAPE-патогенов.

Разработаны биотехнологические подходы к созданию композиций бактериофагов, сорбированных на нанотекстурированные поверхности с экстремальной смачиваемостью из алюминия, меди, магния и нержавеющей стали, могут применяться для поверхностей из других материалов.

Созданные в ходе диссертационной работы 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.

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

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.

Апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на 8-ми всероссийских и зарубежных научно-практических конференциях.

По теме диссертации Каминского В.В. опубликовано 11 печатных работ, из них 8 – статьи в рецензируемых изданиях, 3 – в материалах конференций (тезисы).

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).

Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации

Диссертационная работа Каминского Валерия Васильевича является законченной научно-квалификационной работой. Изложена на 159 страницах машинописного текста, иллюстрирована 6 таблицами и 23 рисунками. Состоит из введения, основной части, пяти глав собственных исследований, заключения о выполненных исследованиях, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы (296 источника, из которых 25 – работы отечественных и 271 – иностранных авторов). Цель и задачи, сформулированные автором в диссертационном исследовании достигнуты полностью. Каминский В.В. логично и научно-обоснованно сформулировал 6 выводов, вытекающих из результатов, полученных в диссертационном исследовании. Структура и основное содержание диссертационной работы в необходимом объеме представлены в автореферате, соответствуют требованиям ВАК.

В разделе «**Введение**» представлена актуальность проблемы, выбранной для проведения исследований, степень разработанности темы, изложены научная новизна, теоретическая и практическая значимость, определены цель и задачи работы. В ходе подготовки диссертации использованы современные, рациональные, апробированные и эффективные методы исследований. Сформулированы основные положения, выносимые на защиту, обоснована достоверность, проведена апробация полученных результатов. Диссертант принимал активное участие во всех этапах работы, в том числе отработке нанесения микроорганизмов на исследуемые образцы, изучении биологических и физико-

химических особенностей взаимодействия бактерий, бактериофагов и исследуемых образцов, оценке антибактериальных свойств покрытий и оценке влияния коррозионной стойкости на них, систематизации, статистическом анализе и оценке результатов исследования.

В первой главе «Обзор литературы» отражены актуальные данные по заболеваемости, смертности и экономическому ущербу систем здравоохранения Российской Федерации, Европы, США и КНР от инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, характеристики основных возбудителей ИСМП, проблема устойчивости бактерий к антибиотикам и дезинфектантам, антибактериальные свойства металлов и их применение, представления о современных областях применения бактериофагов.

Вторая глава посвящена разработке комплекса бактериофагов с супергидрофильными и супергидрофобными поверхностями металлов, а именно лабораторному моделированию различных путей распространения бактериальных инфекций в условиях стационара, решению проблемы сорбции бактериофагов на исследуемые образцы, объективизации антибактериальной активности. Автором были разработаны три протокола исследования супергидрофильных и супергидрофобных бактерицидных поверхностей: «сухого» контакта в экспериментах с высушиванием бактериальной суспензии на поверхности образцов, «влажного» контакта, где бактериальная суспензия находилась в условиях без существенного испарения и «мокрого» контакта в экспериментах с погружением исследуемых пластин в бактериальную суспензию.

В третьей главе проведено исследование биологических и физико-химических особенностей взаимодействия бактерий, бактериофагов и исследуемых образцов согласно протоколам, разработанным во второй главе. Описана морфология супергидрофильных и супергидрофобных образцов и распределение бактерий на их поверхностях с помощью электронной микроскопии. Показан механизм первичной адгезии микроорганизмов на поверхности пластин. Проведен анализ динамики смачиваемости образцов путем измерения краевых углов после контакта с бактериальными суспензиями. На основании физико-химических методов показан механизм взаимодействия ионов меди и магния на бактериальные клетки.

В четвертой главе представлены статистически достоверные результаты по оценке антибактериальной активности супергидрофильных и супергидрофобных нанотекстурированных поверхностей из алюминиевого сплава AMG, медного сплава M1M, магниевых сплавов M8 и нержавеющей стали марки 12X18H10T в отношении *A. baumannii*,

K. pneumoniae, *P. aeruginosa*, *S. aureus* в экспериментах согласно 2 протоколу в условиях 100 % влажности, где антибактериальная активность супергидрофильных поверхностей была выше супергидрофобных в 2 600 раз.

В **пятой главе** представлены результаты анализа антибактериальной активности органо-неорганических гибридных покрытий из алюминия и меди с сорбированными бактериофагами и без них в отношении *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* в экспериментах согласно 2 протоколу в условиях 100 % влажности и 3 протоколу с погружением пластин в бактериальную суспензию, где антибактериальная активность супергидрофобных нанотекстурированных подложек из алюминиевого сплава за счет бактериофагов, сорбированных на их поверхностях, становится выше в 200 раз.

В **заключении** диссертант подчеркивает актуальность и важность выбранной темы исследования, анализирует полученные данные, сопоставляя с данными литературы.

Выводы работы научно обоснованы, убедительны и являются логическим завершением диссертационного исследования, соответствуют цели и задачам исследования.

Соответствие специальности

Диссертационная работа, выполненная Каминским В.В., по тематике, методам исследования, научным положениям и выводам соответствует паспорту научной специальности 1.5.6. «Биотехнология» и направлению исследования: пункт 8 – «Разработка научно-методических основ для применения стандартных биосистем на молекулярном, клеточном, тканевом и организменных уровнях в научных исследованиях, контроле качества и оценки безопасности использования пищевых, медицинских, ветеринарных и парфюмерно-косметических биопрепаратов»; научной специальности 1.5.11. «Микробиология» и направлениям исследований: пункт 16 – «Межмикробные взаимодействия, включая синтрофные ассоциации и чувство кворума», пункт 20 – «Санитарная микробиология».

Замечания по диссертационной работе

В процессе ознакомления с диссертацией возникли следующие вопросы и замечания:

1. В разделе материалы и методы на с. 20 автор упоминает самодельную экспериментальную установку для записи оптических изображений лежащих капель и программное обеспечение для цифровой обработки видеоизображений и последующего

определения параметров капли – поскольку это самодельная установка, необходимо было ее описать более подробно.

2. Также в материалах и методах для используемых в исследовании коллекционных штаммов бактерий, депонированных ГКПМ–Оболensk (ФБУН «ГНЦ ПМБ» Роспотребнадзора), необходимо было привести характеристику фенотипических свойств из паспорта штамма.

3. Для усиления бактерицидного эффекта текстурированных поверхностей использовались бактериофаги *Acinetobacter phage AM24*, *Klebsiella phage KpV811*, *Pseudomonas phage PA10* и *Staphylococcus phage SCH111*. Почему выбор пал именно на эти расы?

4. Представленные в диссертации фотографии имеют разный масштаб, выполнены с разным увеличением, что затрудняет визуальную оценку полученных результатов. Хотелось бы, чтобы в работе были представлены контрольные фото штаммов микроорганизмов, выполненные с тем же увеличением и в том же масштабе, но на другой подложке – для сравнения.

5. При описании оксидов меди пропущены их цифровые обозначения: Cu_2O – это оксид меди (I), CuO – оксид меди (II).

6. Также в тексте диссертации имеется некоторое количество опечаток.

Все вышеперечисленные замечания не являются принципиальными и не умаляют достоинств и ценности выполненной работы.

Заключение

Диссертационная работа Каминского Валерия Васильевича на тему: «Микробиологические и биотехнологические аспекты создания ESKAPE-элиминирующей бионаноструктурированной композиции», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.6. – Биотехнология и 1.5.11. – Микробиология (биологические науки), выполненная под руководством доктора биологических наук, профессора РАН, член-корреспондента РАН Алешкина Андрея Владимировича и доктора физико-математических наук Емельяненко Александра Михайловича, является законченным научным исследованием, содержащим новые знания о природе взаимодействия бактерий и бактериофагов с наноструктурированными супергидрофильными и супергидрофобными поверхностями металлов, а также теоретические и практические решения проблемы разработки нового вида бактерицидных поверхностей для снижения риска распространения актуальных возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

Диссертационная работа по актуальности, научной новизне, объему проведенных исследований, практической значимости соответствует требованиям пунктов 9–14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (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, от 25.01.2024 № 62 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Каминский Валерий Васильевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.6. – Биотехнология и 1.5.11. – Микробиология (биологические науки).

Официальный оппонент:

Ведущий научный сотрудник – заведующий лабораторией микробиома человека и средств его коррекции Федерального 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 (603950, г. Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, д. 71; Телефон +7 (831) 432-81-86; e-mail: lab-lb@yandex.ru)

доктор биологических наук,

доцент

25.04.2024

Соловьева Ирина Владленовна

Подпись Соловьевой Ирины Владленовны заверяю:

Ученый секретарь Федерального 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 (603950, г. Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, д. 71; Телефон +7 (831) 469-79-01; e-mail: micro@nniem.ru)

кандидат биологических наук



Снегирева Мария Сергеевна