

Заключение Комиссии диссертационного совета 64.1.004.01 при Федеральном бюджетном учреждении науки «Московский научно-исследовательский институт им. Г. Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по кандидатской диссертации Лихачева Ивана Владимировича «Разработка тест-системы для определения минимальной подавляющей концентрации антибиотиков методом градиентной диффузии» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11 — Микробиология

Научный руководитель:

Кафтырева Лидия Алексеевна – доктор медицинских наук (03.02.03 - микробиология), старший научный сотрудник, заведующая отделом микробиологии, ведущий научный сотрудник группы эпидемиологии брюшного тифа Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Работа Лихачева И.В. соответствует специальности 1.5.11. Микробиология (медицинские науки).

Работа посвящена созданию диагностической тест-системы для определения чувствительности к антимикробным препаратам методом Е-теста с последующей проверкой на эталонных и клинических штаммах.

В ходе проведенного Лихачевым И.В. исследования выявлено, что для штаммов *E. coli*, *Salmonella* spp. и *Klebsiella* spp. наиболее часто требуется количественное определение чувствительности к амоксициллину/клавулановой кислоте, цефалоспорином (цефотаксим, цефтазидим, цефепим), ципрофлоксацину и триметоприму/сульфаметоксазолу, аминогликозидам (гентамицин, тобрамицин, амикацин) и нитрофурантоину.

В работе показано, что для изготовления тест-полосок в качестве подложки могут применяться листовые гидрофильные пористые и непористые материалы, отражены основные преимущества и недостатки каждого вида материалов. Доказана возможность изготовления тест-полосок для определения МПК методом градиентной диффузии с использованием пористой подложки отечественного производства – фильтровальной бумаги быстрой фильтрации плотностью 160 г/м² (ЛФБ-160), перспективной непористой подложкой является плёнка из полиэтилентерефталата толщиной 200 мкм.

Выведено соотношение, связывающее концентрацию антимикробного препарата, наносимого на пористую подложку, геометрические параметры подложки и концентрацию антимикробного препарата в плотной питательной среде:

$$C_{\text{мг/мл}} = \frac{C_0 \times e \times xyz}{V_{\text{нанесения, мл}}}$$

где $C_{\text{мг/мл}}$ – концентрация раствора антимикробного препарата, C_0 – концентрация антимикробного препарата, которую необходимо достичь в непосредственной близости от тест-полоски (значение, нанесённое на шкале тест-полоски), e – математическая константа, xyz – длина, ширина и высота участка нанесения одной концентрации на подложке, $V_{\text{нанесения, мл}}$ – объём жидкости, наносимый на участок полоски с одной концентрацией.

Доказано, что функциональные характеристики тест-полосок, изготовленных по

разработанной методике, изученные на эталонных штаммах и клинических базовых изолятах, находятся в допустимых диапазонах, регламентированных EUCAST 14.0, CLSI M100-ED34 и ГОСТ Р ISO 20776-2-2010.

Подтверждена возможность применения изготовленных тест-полосок для проведения исследований методом кросс-теста. Изучена активность комбинаций азидотимидина и байкалина в сочетании с антимикробными препаратами в отношении изолятов *Klebsiella pneumoniae* с множественной лекарственной устойчивостью.

Теоретическая значимость работы заключается в расширении представлений о необходимости количественного определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Установлена распространённость категории «чувствительный при увеличенной экспозиции антимикробного препарата» и зоны технической неопределённости среди штаммов *E. coli*, *Salmonella* spp. и *Klebsiella* spp. по отношению к 13 антимикробным препаратам 7 фармакологических групп, что позволяет с новых позиций подойти к оценке потребности в тест-системах для количественного определения чувствительности данных микроорганизмов к антимикробным препаратам.

Изучение воздействия антимикробных препаратов методом кросс-теста дают возможность рассматривать результаты работы в качестве основы развития нового перспективного направления — создания тест-систем для оценки комбинированного применения антимикробных препаратов, особенно актуального в условиях роста антибиотикорезистентности.

Выявленный в работе синергетический эффект комбинаций азидотимидина и байкалина с антимикробными препаратами (гентамицин, цефотаксим, ципрофлоксацин) в отношении штаммов *Klebsiella pneumoniae* позволяет расширить возможности антибиотикотерапии в отношении резистентных изолятов.

Практическая значимость диссертационной работы заключается в создании методики расчёта концентраций растворов антимикробных препаратов, способе изготовления тест-полосок и сконструированном прототипе лабораторной установки, применение которых демонстрирует возможность создания тест-системы для количественного определения чувствительности из доступного отечественного сырья, что особенно актуально в условиях импортозамещения.

Использованные в работе подходы формируют методическую базу для изготовления тест-систем на основе принципа градиентной диффузии, предназначенных для определения клинически значимых фенотипов резистентности.

Разработанные протоколы оценки функциональных характеристик тест-системы применимы в качестве основы программы для клинических испытаний при регистрации данного медицинского изделия в системе Росздравнадзора.

Тест-полоски, изготовленные на основании материалов диссертационного исследования, используются для количественного определения чувствительности клинических штаммов бактерий к антимикробным препаратам в работе Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (акт внедрения от 08.11.2024), Государственного Бюджетного Учреждения "Республиканский клинический центр инфекционных болезней, профилактики

и борьбы со СПИД" (акт внедрения от 13.11.2024) и Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова» (акт внедрения от 27.11.2024).

О достоверности работы свидетельствует достаточный объем исследований, применение современных, объективных микробиологических методов исследования, формулирование результатов на основе принципов доказательной медицины. Научные положения и выводы, сформулированные Лихачевым И.В., логически вытекают из результатов проведенных исследований.

По объему проведенных исследований, их новизне и научно-практической значимости работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11 Микробиология.

Комиссия не установила в диссертации и в автореферате фактов некорректного заимствования материалов без ссылок на первоисточники. Проверка с помощью системы «Антиплагиат» показала, что оригинальность текста составляет 97,98%.

Материалы исследования и основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора (Иркутск, 5–7 декабря 2017 г.), семинаре «Стандарты лабораторной диагностики в рамках организации и проведения эпиднадзора за иерсиниозами» (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, 23–25 октября 2019 г.), всероссийской научно-практической интернет-конференции молодых учёных и специалистов Роспотребнадзора с международным участием (Пермь, 5–9 октября 2020 г.), семинаре «Стандарты лабораторной диагностики в рамках организации и проведения эпиднадзора за иерсиниозами», (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, 12-14 декабря 2023 г.).

По материалам диссертационной работы опубликовано 9 научных работ, в том числе 4 статьи – в изданиях, включенных в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий ВАК Минобрнауки РФ, 4 тезиса в материалах международных и всероссийских научно-практических конференций, 1 патент на изобретение.

Диссертация соответствует профилю Диссертационного совета 64.1.004.01.

В качестве **ведущей организации** предлагается утвердить Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ростовский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В качестве **официальных оппонентов** предлагаются:

1. Царев Виктор Николаевич - доктор медицинских наук (03.00.07 - Микробиология), профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

2. Тец Виктор Вениаминович - доктор медицинских наук (03.00.07 - Микробиология), профессор, заведующий кафедрой микробиологии и вирусологии имени академика Д. К. Заболотного Федерального государственного бюджетного образовательного

учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Согласие оппонентов и ведущей организации имеются.

Заключение: комиссия Диссертационного совета 64.1.004.01. рекомендует диссертацию Лихачева Ивана Владимировича ««Разработка тест-системы для определения минимальной подавляющей концентрации антибиотиков методом градиентной диффузии» по специальности 1.5.11. Микробиология к приему к защите.

Заключение подготовили члены Диссертационного совета 64.1.004.01:

Председатель:

Главный научный сотрудник
Исследовательского центра по изучению
бактериальных инфекций Федерального
бюджетного учреждения науки «Московский
НИИ эпидемиологии и микробиологии им.
Г.Н.Габричевского» Роспотребнадзора (ФБУН
МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского
Роспотребнадзора),
доктор медицинских наук, профессор,
заслуженный деятель науки РФ

Афанасьев Станислав Степанович

Члены комиссии:

Профессор кафедры микробиологии,
вирусологии ИМП им. З.П. Соловьева
Федерального государственного автономного
образовательного учреждения высшего
образования «Российский национальный
исследовательский медицинский университет
имени Н.И. Пирогова» Минздрава России,
(ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова),
доктор медицинских наук, профессор

Ефимов Борис Алексеевич

Директор Федерального бюджетного
учреждения науки «Московский НИИ
эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.
Габричевского» Роспотребнадзора (ФБУН
МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского
Роспотребнадзора),
доктор медицинских наук, профессор

Борисова Ольга Юрьевна

Заведующий отделом клинической
фармакологии с центром клинических
исследований Городской клинической
больницы № 67 им. Л.А. Ворохобова
Департамента здравоохранения г. Москвы
(ГКБ № 67 им. Л.А. Ворохобова ДМЗ),
доктор медицинских наук, профессор

Митрохин Сергей Дмитриевич