

УТВЕРЖДАЮ:

Директор

ФБУН НИИ эпидемиологии

и микробиологии имени Пастера,

академик РАН, д.м.н., профессор

А.А. Тотолян



«18» февраля 2025 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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

Диссертация 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» (медицинские науки) выполнена в лаборатории биопрепаратов 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.

В период подготовки диссертации и по настоящее время соискатель Лихачев Иван Владимирович работает младшим научным сотрудником лаборатории биопрепаратов 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.

В 2013 году Иван Владимирович окончил медико-профилактический факультет Федерального государственного бюджетного образовательного

учреждения высшего образования "Северо-западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова" Министерства здравоохранения Российской Федерации по специальности «медико-профилактическое дело» (диплом ОКС № 06192, регистрационный номер 53376 от 27 июня 2013 года).

В период с 2013 по 2017 год Лихачев И. В. проходил обучение в очной аспирантуре по специальности 03.02.03 – микробиология при Федеральном бюджетном учреждении науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Лихачев Иван Владимирович для завершения диссертационной работы, апробации, получения заключения организации был прикреплен соискателем по специальности 1.5.11 – микробиология в лабораторию кишечных инфекций 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, приказ № 049/1 от 16.05.2024 г.

Справка о сдаче кандидатских экзаменов № 61/1 выдана 14.02.2025 года Федеральным бюджетным учреждением науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

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.

Оценка выполненной соискателем работы

Диссертационное исследование является законченной научно-квалификационной работой, в ходе которого выполнена разработка технологии производства тест-полосок для определения минимальной подавляющей концентрации антимикробных препаратов методом градиентной диффузии. По актуальности, научной новизне, практической значимости результатов и объему проведенных исследований работа соответствует требованиям, установленным в пп. 9-14 Положения «О присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и рекомендуется к защите.

Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации

Автором самостоятельно сформулированы цель и задачи исследования, разработаны необходимые для исследования методологические подходы, организованы и выполнены все разделы диссертационной работы. Автором проведён анализ данных научного и справочного характера, разработаны методики расчёта концентраций антимикробных препаратов, наносимых на тест-полоски, спланированы и выполнены микробиологические эксперименты, работы по проектированию и изготовлению лабораторной установки, анализ и статистическая обработка полученных результатов, сформированы выводы, практические рекомендации и перспективы дальнейшего исследования.

Изучение чувствительности изолятов диско-диффузионным методом выполнено на базе лаборатории кишечных инфекций 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 (заведующая лабораторией — д.м.н., вед.н.с. Макарова М.А.).

Изучение чувствительности клинических изолятов группы ESKAPE выполнено на базе лаборатории медицинской бактериологии 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 (заведующая лабораторией — д.м.н., вед.н.с. Краева Л.А.). Разработка методики изготовления тест-полосок и апробация изготовленных изделий на эталонных штаммах выполнялась на базе лаборатории биопрепаратов отдела новых технологий 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 (заведующий отделом — к.х.н. Вербов В.Н.).

Степень достоверности результатов проведенных исследований

Достоверность и обоснованность результатов работы обеспечена достаточным объемом исследований, применением референтных методов исследования и статистической обработкой полученных данных согласно требованиям руководящих документов. Микробиологические исследования включали в себя определение МПК к 22 АМП при помощи разработанных тест-полосок на эталонных штаммах коллекции ATCC (n=5) и клинических изолятах (n=133), в качестве эталона сравнения применялся референтный метод серийных разведений и коммерческие Е-тесты. Для изучения распространенности микробиологических критериев количественного определения чувствительности к антимикробным препаратам исследовали 2212 штаммов порядка *Enterobacterales*. Положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации, сформулированные в диссертационной работе, аргументированы и обоснованы результатами проведенных исследований.

Научная новизна и практическая значимость, ценность научных работ соискателя

Впервые в Российской Федерации (РФ) разработана технология изготовления на статистически достоверной выборке ($n=2212$) относительно изолятов *E. coli*, *Salmonella spp.* и *Klebsiella spp.* выявлены антимикробные препараты с наибольшей частотой встречаемости категории «чувствительный при увеличенной экспозиции антимикробного препарата» и зоны технической неопределённости.

На основании распределения категории «чувствительный при увеличенной экспозиции антимикробного препарата» и зоны технической неопределённости среди штаммов *E. coli*, *Salmonella spp.* и *Klebsiella spp.* изучено процентное соотношение данных энтеробактерий и установлены достоверные различия их частоты встречаемости для каждого из исследованных антимикробных препаратов.

Впервые в Российской Федерации разработана тест-система, предназначенная для определения чувствительности к антимикробным препаратам методом градиентной диффузии и установлено, что в качестве материала подложки возможно использование бумаги фильтровальной быстрой фильтрации плотностью 160 ± 10 г/м², толщиной $0,4 \pm 0,1$ мм).

Предложена формула для расчёта концентрации наносимых на подложку тест-полосок растворов антимикробных препаратов, учитывающая концентрацию антимикробных препаратов, которую необходимо достичь в непосредственной близости от тест-полоски, геометрические характеристики подложки и объём жидкости, приходящийся на участок полоски с одной концентрацией.

Разработан прототип лабораторной установки для нанесения растворов антимикробных препаратов на подложку тест-полосок, представляющий из себя 16-канальную помпу с роликовым дозатором.

С помощью изготовленных тест-полосок воздействие комбинаций азидотимицина и байкалина с антимикробными препаратами в отношении

изолятов *Klebsiella pneumoniae*. Для комбинации азидотимидина с гентамицином был выявлен синергетический эффект, для комбинации азидотимидина с ципрофлоксацином и байкалина с цефотаксимом — аддитивный эффект.

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).

Специальность, которой соответствует диссертация

Диссертационное исследование соответствует паспорту специальности 1.5.11. Микробиология. Результаты проведенного исследования соответствуют пункту 14 паспорта специальности – «Организация разработки и промышленного производства питательных сред, диагностических систем и биологических препаратов».

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем

По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 4 статьи – в рецензируемых изданиях, рекомендуемых Всероссийской аттестационной комиссией (ВАК), 4 тезиса в материалах международных и всероссийских научно-практических конференций, 1 патент на изобретение.

Текст диссертации проверен на использование заимствованного материала без ссылки на авторов и источники заимствования. После исключения всех корректных совпадений иных заимствований не обнаружено.

Диссертация «Разработка тест-системы для определения минимальной подавляющей концентрации антибиотиков методом градиентной диффузии» Лихачева Ивана Владимировича рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11 Микробиология.

Заключение обсуждено на заседании отдела микробиологии Ученого совета 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. Присутствовало на заседании 27 человек из 30 человек списочного состава, в том числе 17 докторов наук, 9 кандидатов наук. Результаты голосования: «за» - 26 человек, «против» - 1 человек, «воздержались» - 0 человек (протокол № 12 от 18 декабря 2024 года).

Заключение принято экспертной комиссией 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 по подготовке заключения Ученого совета для предоставления в диссертационный совет (создана приказом директора от 28.02.2024 г. № 22/1). Присутствовало на заседании 27 человек из 30 человек списочного состава, в том числе 19 докторов наук, 8 кандидатов наук. Результаты голосования: «за» - 27 человек, «против» - 0 человек, «воздержались» - 0 человек.

Протокол заседания экспертной комиссии 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 по подготовке заключения Ученого совета для предоставления в диссертационный совет № 01/2025 от 18.02.2025 года.

Председатель экспертной комиссии, заместитель директора по научной работе
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
кандидат медицинских наук



Владимир Георгиевич Дедков

Ученый секретарь 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
кандидат медицинских наук

Галина Фёдоровна Трифонова