

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 Тюриной Анны Владимировны «Основные аспекты разработки экспериментального профилактического препарата на основе холерных бактериофагов» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 — Биотехнология

Научный руководитель:

1. Гаевская Наталья Евгеньевна — кандидат медицинских наук (03.02.03 - микробиология) директор Федерального казенного учреждения здравоохранения «Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора).

Работа Тюриной А.В. соответствует специальности 1.5.6 Биотехнология (биологические науки).

Работа посвящена разработке альтернативных методов профилактики холеры, основанных на применении бактериофагов — вирусов, избирательно поражающих бактериальные клетки. Актуальность работы обусловлена растущей проблемой антибиотикорезистентности, которая значительно снижает эффективность традиционных подходов к лечению и профилактике инфекционных заболеваний. В частности, использование бактериофагов рассматривается как перспективная стратегия для контроля распространения *Vibrio cholerae* — возбудителя холеры, поскольку фаговая профилактика обладает высокой специфичностью и может быть адаптирована к циркулирующим штаммам бактерий. Этот подход открывает новые возможности для снижения зависимости от антибиотиков и минимизации рисков формирования устойчивых форм патогена.

В ходе исследования Тюриной А.В. проведена комплексная работа по созданию эффективного профилактического средства против холеры на основе бактериофагов. На первом этапе осуществлена детальная характеристика пяти коллекционных штаммов холерных бактериофагов (Rostov-1, Rostov-6, Rostov-7, Rostov-M3, Rostov-13, ФБ1). Биологическая оценка выявила их специфическую активность против различных серогрупп и биоваров *V. cholerae*, при этом все фаги продемонстрировали высокую стабильность (сохранение активности в течение года) и устойчивость к температурным воздействиям и хлороформу.

Молекулярно-генетический анализ, включавший полногеномное секвенирование и биоинформатическое исследование, позволил выявить принципиальные различия между штаммами. В частности, у Rostov-6 и Rostov-7 обнаружены интегразные гены, что исключило возможность их профилактического применения из-за риска лизогенной конверсии. В отличие от них, фаги Rostov-M3, Rostov-13 и ФБ1 показали генетическую безопасность, не содержа генов резистентности к антибиотикам или токсинов.

Важным достижением исследования стала разработка усовершенствованной методики культивирования в 0,9% NaCl, которая обеспечила значительное (на порядок) повышение урожайности холерных фагов, а также эффективное удаление бактериальных эндотоксинов. Это позволило создать экспериментальный фаговый коктейль из трех компонентов (Rostov-M3 + Rostov-13 + ФБ1 в соотношении 1:1:1), который прошел оценку *in vivo*.

Фармакокинетические исследования выявили способность фагов длительно (до 21 дня) персистировать в желудочно-кишечном тракте, при этом их профилактическая эффективность достигала высокого уровня у экспериментальных животных. Комплекс токсикологических тестов подтвердил полную безопасность препарата: отсутствие острой и хронической токсичности, нормальные гистологические показатели, отсутствие

цитотоксического и апоптогенного эффектов.

Однако дальнейшие исследования выявили ограничения применения фага ФБ1, который показал высокую иммуногенность (индукция sIgA) и низкую эффективность против серогруппы O139 *in vivo*. В результате оптимальной была признана двухкомпонентная комбинация Rostov-M3 и Rostov-13 (1:1), обладающая широким спектром литической активности, генетической безопасностью, минимальной иммуногенностью и длительной персистенцией в организме, а также высокой профилактической эффективностью в отношении холерных вибрионов O1 серогруппы.

Полученные результаты подтверждают перспективность использования бактериофагов для профилактики холеры, особенно в условиях роста антибиотикорезистентности. Разработанная технологическая платформа может быть успешно применена для создания аналогичных препаратов против других бактериальных инфекций.

Теоретическая значимость работы заключается в углублении понимания взаимодействий бактериофагов с макроорганизмом. Установлены ключевые закономерности персистенции холерных фагов Rostov-13 и Rostov-M3, включая их длительное сохранение без специфического хозяина, особенности распределения и устойчивость к иммунным факторам. Эти данные вносят вклад в фаговую экологию и создают основу для разработки новых биопрепаратов.

Работа предлагает инновационный подход к противоэпидемическим мероприятиям через создание профилактических средств на основе строго специфичных бактериофагов. Полученные результаты закладывают теоретические основы для развития фагопрофилактики особо опасных инфекций, что особенно важно в условиях роста антибиотикорезистентности.

Практическая значимость заключается в том, что полученные результаты позволяют рассматривать Rostov-M3 и Rostov-13 в качестве перспективной основы для создания эффективных и безопасных профилактических препаратов против холерной инфекции.

Разработаны нормативные документы - Регламент получения и Инструкция по изготовлению и контролю экспериментального профилактического препарата на основе холерных бактериофагов, утвержденные Ученым Советом Федерального казенного учреждения здравоохранения «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора (протокол №11 от 31.10.2022).

Научные данные, полученные в ходе работы, включены в монографию "Холера. Эпидемиология, диагностика, клиника, лечение, профилактика" (2024 г., 718 с., ISBN 978-5-98615-649-1); в Федеральные методические рекомендации МР 4.2.0263-21, регламентирующие работу с бактериофагами микроорганизмов I-IV групп патогенности.

Депонирован в Государственную коллекцию патогенных бактерий Федерального казенного учреждения науки «Российский научно-исследовательский противочумный институт Микроб» Роспотребнадзора штамм *V. cholerae* O1 серогруппы биовара Эль Тор 20554, который может использоваться для размножения холерного бактериофага Rostov-M3 (KM 2157, 11.10.2023 г.).

Определены полногеномные нуклеотидные последовательности трех штаммов *Vibrio phage* (Rostov-1, Rostov-6, Rostov-13), депонированные в Международной базе данных GenBank, номера доступа (MG957431, MH105773, OK169294-OK169295).

Предложенный способ профилактики холеры используется сотрудниками Федерального казенного учреждения науки «Российский научно-исследовательский противочумный институт Микроб» Роспотребнадзора (акт внедрения от 25.03.2024 г.), а также сотрудниками Федерального казенного учреждения здравоохранения «Иркутский научно-исследовательский институт» Роспотребнадзора (акт внедрения от 12.02.2025 г.).

Научные результаты диссертационного исследования включены в программы повышения квалификации Федерального казенного учреждения здравоохранения «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора (акт внедрения от

10.02.2025 г.).

Достоверность представленных результатов обеспечивается комплексным подходом, включающим объем экспериментальных данных, применение современных биотехнологических и микробиологических методов исследования, а также строгое соблюдение методологических принципов биологического эксперимента. Все выводы и научные положения, сформулированные в работе Тюриной А.В., имеют четкое экспериментальное обоснование и представляют собой логически обоснованную интерпретацию полученных результатов. Использование стандартизированных протоколов исследований и комплексный анализ данных гарантируют высокую надежность и воспроизводимость представленных научных результатов.

По объему проведенных исследований, их новизне и научно-практической значимости работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 Биотехнология.

Комиссия не установила в диссертации и в автореферате фактов некорректного заимствования материалов без ссылок на первоисточники. Результаты проверки с помощью системы «Антиплагиат» показал, что оригинальность текста составляет 90,95%.

Материалы исследования диссертационной работы были представлены и обсуждены на конференциях различного уровня, включая конференции молодых ученых: IX Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены» (Иркутск, 5 - 7 декабря 2017 г.); XIV Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены» (Московская обл., ОК «Лужки» 22 - 24 сентября, 2022 г.); Международный молодежный форум «Неделя науки-2022» 28 ноября (Ставрополь, - 2 декабря, 2022 г.); Международная конференция «Бактериофаги: от фундаментальных исследований к применению» (Новосибирск, 21 – 23 сентября, 2024 г.).

Диссертация содержит достоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

По материалам диссертации опубликовано 20 печатных работ, в том числе 10 статей в рецензируемых изданиях, 1 – в других изданиях и 7 в материалах конференций (тезисы), 1 патент, 1 база данных.

Диссертация соответствует профилю Диссертационного совета 64.1.004.01.

В качестве **ведущей организации** предлагается утвердить федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук».

В качестве **официальных оппонентов** предлагаются:

1. Матвеева Ирина Николаевна – доктор биологических наук, профессор (03.00.23 - биотехнология), заведующая лабораторией молекулярной биологии и вирусологии Федерального Государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» Министерства сельского хозяйства Российской Федерации.

2. Жарникова Ирина Викторовна – доктор биологических наук (03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), ведущий научный сотрудник научно-производственной лаборатории препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций Федерального казенного учреждения здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Согласие оппонентов и ведущей организации имеются.

Заключение: комиссия Диссертационного совета 64.1.004.01. рекомендует диссертацию Тюриной Анны Владимировны «Основные аспекты разработки экспериментального профилактического препарата на основе холерных бактериофагов» по специальности 1.5.6. Биотехнология к приему к защите.

Заключение подготовили члены Диссертационного совета 64.1.004.01:

Председатель:

Главный научный сотрудник
Исследовательского центра биологии
бактериофагов
ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского
Роспотребнадзора,
доктор биологических наук



Лахтин Владимир Михайлович

Члены комиссии:

Зам.директора по инновационному развитию и
технологиям
доктор биологических наук



Затевалов Александр Михайлович

Зав.кафедрой иммунологии и биотехнологии
ФГБОУ ВО «Московская государственная
академия ветеринарной медицины и
биотехнологии -МБА имени К.И.Скрябина»
Минсельхоза России,
доктор биологических наук, профессор



Пименов Николай Васильевич

Зам.директора по медицинской биотехнологии
доктор биологических наук, доцент



Воропаева Елена Александровна