

ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертацию
Алиевой Анны Александровны
на тему: «Адгезия *Corynebacterium diphtheriae*:
роль в патологии и способы подавления»
по специальности 03.02.03 – «микробиология»
на соискание учёной степени кандидата биологических наук**

Актуальность избранной темы.

В настоящее время на фоне стабильной ситуации с заболеваемостью дифтерией в стране оказалась сниженной настороженность медицинских работников к этой инфекции. Между тем, ряд специально проведенных исследований демонстрирует наличие носительства штаммов *Corynebacterium diphtheriae* среди населения. Причиной этого факта может быть отсутствие бактериального компонента в вакцинном препарате против дифтерии. Ряд ученых нашей страны в период последней эпидемии дифтерии настаивали на необходимости включения в противодифтерийный вакцинный препарат компонентов клеточной стенки бактерии. Профессором Шмелевой Е.А. разработан препарат «Кодивак» (вакцина дифтерийная субклеточная) на основе антигенов клеточной стенки нетоксигенного штамма *C. diphtheriae* специально для коррекции антибактериального противодифтерийного иммунитета у бактерионосителей. Препарат прошел государственные клинические испытания, показал свою эффективность; он разрешен для внедрения в практику здравоохранения, но так и не нашел широкого применения.

В связи с этим вопрос бактерионосительства *C. diphtheriae* не снимается с повестки дня. Как известно, практически любой инфекционный процесс начинается с адгезии микроорганизма на поверхности чувствительных клеток макроорганизма. Именно в этот момент происходит противостояние между микроорганизмом с его патогенным потенциалом и макроорганизмом с факторами защиты от микробов. Очевидно, что от степени выраженности адгезивных свойств у штамма *C. diphtheriae* будет зависеть дальнейшее развитие инфекционного процесса. На этом этапе могут помочь противостоять адгезии и колонизации бактерий препараты с антиадгезивным действием.

Поэтому выбранная Анной Александровной тема диссертационного

исследования крайне важна и своевременна как для пополнения теоретических знаний о роли факторов патогенности штаммов *C. diphtheriae* в развитии патологического процесса, так и для нахождения способов подавления адгезивных свойств бактерий.

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

Положения и выводы диссертационной работы обоснованы полностью раскрытой целью научного исследования и выполненными задачами, поставленными для ее достижения. Для правильного выбора цели исследования автором диссертационной работы проанализирован большой объём источников литературы (всего 190 источников, из которых 40 – отечественных, 150 – зарубежных). Все данные, полученные в ходе выполнения задач исследования, подвергнуты глубокому теоретическому анализу с учетом уже имеющихся знаний в сфере научных интересов автора. Положения, выносимые на защиту, и полученные выводы имеют логическое подтверждение в тексте и хорошо иллюстрированы таблицами и рисунками. Каждое положение и вывод имеют смысловое и фактическое обоснование и логично связаны между собой единой целью исследования.

Практические рекомендации лаконично и четко прописаны в соответствующем разделе работы, выполнимы и могут быть использованы специалистами учреждений различного профиля.

Достоверность и новизна полученных результатов.

Достоверность полученных результатов основана на большом объеме проведенных исследований, выполненных на высоком методическом уровне. Так, множественные исследования были проведены на 3-х референтных и 2-х клинических штаммах *C. diphtheriae*, а также на 49-ти штаммах *C. pseudodiphtheriticum*. В работе были использованы образцы сыворотки крови от 5-ти групп по 30 обследуемых: больных дифтерией ротоглотки локализованной и токсической форм, бактерионосителей токсигенных штаммов *C. diphtheriae*, здоровых не привитых и привитых АКДС- и АДС-М-препаратами (всего 150 человек).

Соискателем использованы следующие методы исследования: бактериологические, физико-химические, молекулярно-биологические (ПЦР), культуральные, микроскопические, иммунологические, статистические.

Положения и выводы диссертационного исследования основаны на достоверных статистических данных.

Теоретическая значимость полученных автором результатов заключается в следующем:

- Впервые определена роль адгезивно-инвазивного потенциала токсигенных штаммов *C. diphtheriae* в формировании патологического процесса на ранних стадиях инфекции, а именно: адгезии, инвазии, формировании биопленки.
- Впервые установлена роль нетоксигенных штаммов *C. diphtheriae* с высокой адгезией и инвазивностью в развитии острого воспалительного процесса в респираторном тракте инфицированного человека.
- Впервые культуральным методом на клеточной линии яичников китайского хомячка СНО-К1 определены различия и особенности цитопатического действия планктонных и биопленочных культур токсигенных штаммов *C. diphtheriae*.
- Впервые установлены различия в проявлении адгезивных свойств штаммами *C. diphtheriae* у лиц с диагнозом «дифтерия» и бактерионосителей. При этом у последних увеличение адгезии штаммов способствует формированию биопленки, что в свою очередь тормозит выделение дифтерийного токсина за ее пределы.
- Впервые продемонстрированы, в том числе на клетках карциномы фарингеального эпителия Нер-2, значительные антиадгезивные и антиинвазивные свойства азоксимера бромиды в отношении токсигенных штаммов *C. diphtheriae*, в особенности планктонной культуры.

Практическая значимость результатов исследования заключается в следующем:

- Результаты диссертационной работы об изученных факторах патогенности *C. diphtheriae* (адгезивность, инвазивность, цитопатическое действие) могут быть и уже используются в работе лабораторий научного и практического профиля при диагностике инфекций, связанных с коринебактериями.

- Эффект выраженной антиадгезивной активности азоксимера бромида в отношении планктонных и биопленочных культур токсигенных штаммов *C. diphtheriae* может быть учтен при терапии дифтерии на ранних стадиях патологического процесса и для неспецифической профилактики инфекции.

Оценка содержания диссертации, её завершенность.

Материалы диссертационной работы изложены на 156 страницах печатного текста. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, 2 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложения из 10-ти таблиц.

Работа иллюстрирована 19-ю таблицами и 21-им рисунком. Каждый раздел диссертации логично перетекает в следующий. Диссертация хорошо оформлена, имеет четкий, лаконичный научный стиль. Таблицы и рисунки наглядно представляют результаты и их анализ. Все поставленные автором задачи выполнены в полном объеме.

По теме диссертации опубликовано всего 19 научных работ, из них – 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, включая 3 статьи в журналах, входящих в международную реферативную базу данных и системы цитирования Scopus, 1 – в переводном Российском журнале. Получен патент на изобретение РФ № 2672862 от 20 ноября 2018г. (Бюл. № 32). В публикациях содержится полный объем информации, касающейся темы диссертации.

Соответствие автореферата основному содержанию диссертации.

Автореферат полностью соответствует основному содержанию диссертации.

Соответствие диссертации и автореферата требованиям ГОСТ Р 7.0.11-2011 «Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Диссертация и автореферат диссертации. Структура и правила оформления». М.: Стандартинформ. – 2012. Диссертация и автореферат Анны Александровны соответствует всем правилам написания и оформления соответствующих научных работ, установленным в нормативных документах.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации.

Неоспоримым дополнительным достоинством диссертации является

возможность использования предложенных автором методических подходов для изучения адгезивных и инвазивных свойств других микроорганизмов.

Недостатки в содержании и оформлении диссертации не выявлены.

Вопрос для дискуссии:

Уважаемая Анна Александровна, как Вы думаете, каков механизм антиадгезивного действия азоксимера бромиды может быть в отношении штаммов *C. diphtheriae*?

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным «Положением о присуждении ученых степеней» по пунктам:

10) Диссертация написана автором самостоятельно, обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты и положения, выдвигаемые для публичной защиты. Личный вклад автора в работу составляет более 80 %.

11) Основные научные результаты диссертации опубликованы в 4-х статьях в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ. Результаты работы используются в лаборатории клинической микробиологии МБУЗ «Городская больница № 20 города Ростова-на-Дону» и в бактериологической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области» (Акт внедрения МБУЗ «Городская больница № 20 города Ростова-на-Дону» от 18.06.2020г., Акт внедрения ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области» от 15.06.2020 г., межведомственный уровень внедрения).

14) При использовании методик или полученных ранее отдельных результатов автор диссертации ссылается на автора и источник заимствования материалов.

З а к л ю ч е н и е:

Диссертация Анны Александровны Алиевой на тему: «Адгезия *Corynebacterium diphtheriae*: роль в патологии и способы подавления», выполненная под руководством Харсеевой Галины Георгиевны, доктора медицинских наук, профессора, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 —

«Микробиология», является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи — оценки адгезивно-инвазивного потенциала штаммов *C. diphtheriae* и воздействия на него факторов врожденного и адаптивного иммунитета, имеющей существенное значение для соответствующей отрасли знаний, а именно: определение роли адгезии токсигенных штаммов *C. diphtheriae* в патологическом процессе при дифтерии и нахождение способов для ее подавления, что соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24. 09. 2013 г., с изменениями, утвержденными постановлениями Правительства РФ № 335 от 21.04.2016, № 748 от 02.08.2016, № 650 от 29.05.2017, № 1024 от 28.08.2017, № 1168 от 01.10.2018, предъявляемым ВАК РФ к кандидатским диссертациям, а ее автор Алиева Анна Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 — «Микробиология».

Официальный оппонент,
Краева Людмила Александровна,
доктор медицинских наук, 03.02.03 – «микробиология»,
197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14,
тел. 7 (812) 498 09 39, 7 (904) 610 21 54,
lykraeva@yandex.ru
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии
имени Пастера Роспотребнадзора,
заведующая лабораторией медицинской бактериологии

Л. А. Краева

09 сентября 2020 г.

Подпись Л. А. Краевой удостоверяю:

Начальник отдела кадров

Л. В. Чебакова