

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 350.002.01 НА БАЗЕ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ  
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ  
МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО  
НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ  
ЧЕЛОВЕКА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОГО  
РАЗВИТИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА  
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 25.09.2015 г. № 11

о присуждении Фроловой Яне Николаевне, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Биологические свойства биоплёнок штаммов *Corynebacterium diphtheriae gravis tox<sup>+</sup>*» по специальностям 03.02.03 – микробиология и 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) принята к защите 19.06.2015 г., протокол № 7 диссертационным советом Д 350.002.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, Оболенск. Приказ о создании № 714/нк от 02.11.2012 г.

Соискатель Фролова Яна Николаевна 1987 года рождения. В 2010 г. соискатель окончила магистратуру Южного Федерального университета по специальности «Биология» (направление - микробиология), работает ассистентом кафедры микробиологии и вирусологии № 2 в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация выполнена на кафедре микробиологии и вирусологии № 2 Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Ростовский государственный медицинский

университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор Харсеева Галина Георгиевна, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой микробиологии и вирусологии № 2.

Научный консультант: доктор медицинских наук, профессор Миронов Андрей Юрьевич, Федеральное бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по защите прав потребителей и благополучию человека России, руководитель отдела микробиологии  
Официальные оппоненты:

Краева Людмила Александровна, доктор медицинских наук, Федеральное бюджетное учреждение науки «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по защите прав потребителей и благополучию человека России, лаборатория капельных инфекций, ведущий научный сотрудник;

Червинец Вячеслав Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения России, кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии, заведующий, дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения России, г. Москва, в своем положительном заключении, подписанном Костюковой Натальей Николаевной, доктором медицинских наук, профессором, заслуженным деятелем науки РФ, ведущим научным сотрудником научной части, указала, что диссертация представляет собой научно-квалификационную работу, которая соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых

степеней», утвержденного Постановлением правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., поскольку в ней решена научная задача: получена и изучена биопленка, образуемая дифтерийными бактериями. Разработаны методы ее моделирования и изучения, в том числе в сканирующей электронной микроскопии. Полученные результаты имеют существенное значение для понимания сущности дифтерийного бактерионосительства и выработки мер борьбы с ним.

Соискатель имеет **14** опубликованных работ, в том числе по теме диссертации **14** работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях **3** статьи, **1** патент и **6** работ, опубликованных в материалах научных конференций и симпозиумов. Авторский вклад Фроловой Я.Н. в написание научных работ составляет 75 %.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Харсеева Г.Г. Биологические свойства *Corynebacterium diphtheriae* в составе биоплёнки / Г.Г. Харсеева А.Ю.Миронов, **Я.Н. Фролова**, А.В. Лабушкина // **Иммунология, аллергология, инфектология**. – 2012. - № 4. – С. 88-91.

2. Харсеева, Г.Г. Способность к формированию биоплёнки возбудителем дифтерии / Г.Г. Харсеева, А.Ю. Миронов, **Я.Н. Фролова**, А.В. Лабушкина // **Клиническая лабораторная диагностика**. – 2013.- № 3. - С. 36-38.

3. **Фролова, Я.Н.** Чувствительность к антибиотикам биопленочных культур токсигенных штаммов *Corynebacterium diphtheriae* / **Я.Н. Фролова**, Г.Г. Харсеева, А.Ю. Миронов // **Клиническая лабораторная диагностика**. – 2014.- № 6.- С. 51-53.

4. Kharseeva, G.G. The Main Properties of Diphtheriae Causative Microorganism Circulated in Postepidemic Period from Biofilm Culture / G.G. Kharseeva, **J.N. Frolova**, V.N. Gerasimov, T.D. Gasretova // **International Journal of Pediatrics and Child Health**. - 2014. – No. 2. – P. 19-22.

5. Пат. РФ 2491348 МПК С 12 Q 1/04 G 01 N 33/569. Способ определения минимальной подавляющей концентрации антибактериального препарата / Харсеева Г.Г., Миронов А.Ю., **Фролова Я.Н.**, Садовниченко Е. О.;

заявитель и патентообладатель Государственное бюджетное общеобразовательное учреждение высшего профессионального образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ. - № 2011140540; заявл. 06. 10. 2011 г.; опубл. 27. 08. 2013 г.

На диссертацию и автореферат поступили положительные отзывы без замечаний от: (1) доктора медицинских наук, профессора **Рудакова Николая Викторовича**, директора Омского научно-исследовательского института природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора, заведующего кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Омского государственного медицинского университета, г. Омск; (2) доктора медицинских наук, профессора **Евстропова Александра Николаевича**, заведующего кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Новосибирского государственного медицинского университета, г. Новосибирск; (3) доктора медицинских наук, профессора **Мавзютова Айрата Радиковича**, заведующего кафедрой фундаментальной и прикладной микробиологии Башкирского государственного медицинского университета, г. Уфа; (4) доктора медицинских наук, профессора **Романова Виталия Александровича**, заведующего кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Ярославского государственного медицинского университета, г. Ярославль; (5) доктора медицинских наук, профессора **Сбойчакова Виктора Борисовича**, заведующего кафедрой микробиологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург; (6) доктора медицинских наук, профессора **Теца Виктора Вениаминовича**, заведующего кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что, доктор медицинских наук Краева Л.А. является компетентным специалистом в сфере микробиологии и эпидемиологии возбудителя дифтерии и имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Фроловой Я.Н. (Здоровье населения и среда обитания. - 2011. - № 2. - С. 25-27; Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2011. - № 4. - С. 27-31; Журнал

микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2011. - № 2. - С. 62-66; Инфекция и иммунитет. 2012. – Т. 2. - № 4. - С. 699-704; Инфекция и иммунитет. 2012. – Т. 2. - № 4. - С. 729-734); доктор медицинских наук, профессор Червинец В.М. является специалистом в области микробиологии и иммунологии патогенных бактерий, а также изучения биопленок микроорганизмов и имеет научные публикации в сфере исследований диссертации Фроловой Я.Н. (Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2010. - № 6. - С. 80-83; Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. - № 2. - С. 44-46; Стоматология. – 2012. – Т. 91. - № 1. - С. 16-19; Тверь: Триада, 2013. – 232 с. - ISBN 978-5-94789-592-6; Стоматология. – 2015. - № 1. - С. 50-53).

Назначение ведущей организации обосновано широкой известностью ее достижений в области мониторинга циркулирующих штаммов *Corynebacterium diphtheriae*, изучения их биологических свойств и возможных механизмов формирования бактерионосительства, а также наличием публикаций (Вестник Российской академии медицинских наук. – 2011. – № 10. – С. 31-39; Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2011. - № 3. – С. 3-5; Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.- 2014.- № 3. - С. 99-109; Журнал эпидемиологии и инфекционных болезней. - 2013.— № 2.— С. 46–52; Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2014. - № 3. - С. 67-77).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработан новый подход по определению антибиотикочувствительности токсигенных штаммов *C. diphtheriae* в составе биоплёнки;

предложены критерии отличий биопленочных культур *C. diphtheriae* от типовых по культуральным свойствам – размеру, форме, консистенции и цвету колоний, формируемых на коринебакагаре;

доказано, что бактерии *C. diphtheriae* обладают способностью к формированию биоплёнки *in vitro* на абиотических поверхностях, что коррелирует с увеличением количества белковых и липидных компонентов, образующих матрикс;

введены новые представления о морфологии однородных микробных сообществ - биоплёнок *C. diphtheriae* bv. *gravis tox*<sup>+</sup> при помощи электронной сканирующей микроскопии.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказана способность возбудителя дифтерии формировать биоплёнки *in vitro*, структура биоплёночных культур штамма *C. diphtheriae* изучена при помощи электронной сканирующей микроскопии в сотрудничестве с отделом дезинфектологии Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, Оболенск;

применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов) использованы микробиологические (культивирование микроорганизмов, выделение и идентификация бактерий, определение чувствительности к антибиотикам), биологические методы (морфологические, культуральные, ферментативные, токсигенные), молекулярно-генетические (полимеразная цепная реакция, секвенирование по 16S рРНК);

изложены факты и аргументы, позволяющие выдвинуть предположение о возможных механизмах длительной персистенции токсигенных штаммов *C. diphtheriae* в организме, распространении и возможных путях повышения эффективности санации бактерионосителей токсигенных штаммов *C. diphtheriae*;

раскрыто ингибирующее воздействие *C. diphtheriae* в составе биоплёнки на функциональную активность макрофагов, индуцируя процессы их апоптоза;

изучены основные биологические (культуральные, ферментативные, токсигенные) свойства типовой и биоплёночных культур токсигенных штаммов *C. diphtheriae*, а также структура однородных микробных сообществ штаммов *C. diphtheriae* bv. *gravis tox*<sup>+</sup> при формировании биоплёнок *in vitro*;

проведена модернизация метода исследования чувствительности к антибактериальным препаратам возбудителя дифтерии в составе биоплёнки.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработан и внедрен способ определения минимальной подавляющей концентрации антибактериального препарата (патент РФ на изобретение № 2491348 от 27.08.2013 г.) – федеральный уровень внедрения;

определены перспективы использования подходов к коррекции иммунного ответа с помощью препаратов цитокинового ряда у бактерионосителей токсигенных штаммов *C. diphtheriae* (Монография, под общ. ред. Г.Г. Харсеевой. – Ростов н/Д: Изд-во РостГМУ, 2013.) - учрежденческий уровень внедрения;

создана система практических рекомендаций, используемая в работе лаборатории бактериологических методов исследования Центра гигиены и эпидемиологии в Ростовской области (Акт внедрения от 03.03.2015 г.) – региональный уровень внедрения;

представлены программы лекций и лабораторных занятий со студентами, интернами, ординаторами, курсантами Факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов на кафедре микробиологии и вирусологии №2 Ростовского государственного медицинского университета Минздрава Российской Федерации (Акт внедрения от 03.03.2015 г.) – учрежденческий уровень внедрения.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

результаты исследования получены на репрезентативной выборке микроорганизмов с использованием сертифицированного оборудования и программного обеспечения. При этом применены современные методы микробиологии, молекулярной биологии, а также методы статистической обработки данных;

идея диссертационного исследования базируется на анализе имеющихся в литературе данных о заболеваемости дифтерией, вакцинации населения противодифтерийными препаратами, содержащими дифтерийный анатоксин, а так же изучение биологических свойств возбудителя, факторов его патогенности, способности к адгезии, колонизации, персистенции на слизистых оболочках респираторного тракта;

использовано сравнение авторских данных с опубликованными ранее в научной литературе исследований посвященных изучению штаммов *C. diphtheriae*;

использованы современные методы сбора и обработки информации.

Личный вклад соискателя состоит в:

выполнении экспериментальной работы по моделированию процесса биоплёнкообразования штаммами *C. diphtheriae gravis tox<sup>+</sup>*, изучении основных биологических свойств биопленочных культур коринебактерий (культуральных, ферментативных, токсигенных), чувствительности к антибиотикам, электронно-микроскопическом исследовании морфологии матрикса *C. diphtheriae gravis tox<sup>+</sup>* (проведенном на базе ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора, г. Оболенск), исследовании характера воздействия *C. diphtheriae gravis tox<sup>+</sup>* в составе биоплёнки на клетки иммунной системы мышей, а также теоретической обработке полученных результатов.

На заседании 25.09.2015 г. диссертационный совет принял решение присудить Фроловой Я.Н. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 10 докторов наук по специальности 03.02.03 – микробиология и 6 докторов наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета, проголосовали за 16, против 1, недействительных бюллетеней нет.

Председатель

диссертационного совета



(Дятлов Иван Алексеевич)

Ученый секретарь

диссертационного совета

(Фурсова Надежда Константиновна)

Дата оформления Заключения – 25.09.2015 г.

Печать организации, на базе которой создан диссертационный совет.