

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию
Вороной Натальи Александровны
на тему «Недифтерийные коринебактерии: биологические свойства
и роль в развитии инфекционных процессов у человека»
по специальности 03.02.03 – «микробиология»
на соискание учёной степени кандидата биологических наук

Актуальность избранной темы. Несмотря на давнюю историю недифтерийных коринебактерий, долгие годы они считались непатогенными для человека и не рассматривались в качестве этиологического фактора при выделении их на фоне инфекционного процесса. Так, описанные Lehmann и Neumann еще в 1896 г. и отнесенные к роду *Corynebacterium* 2 новых вида *C.pseudodiphtheriae* и *C.xerosis*, не заслуживали должного внимания, т.к. при заражении ими морских свинок не вызывали того эффекта, который наблюдался при заражении их *C. diphtheriae*.

И действительно, многие из открытых в последующем виды коринебактерий относятся к сапрофитам, обитающим в окружающей среде или представителям нормальной микрофлоры человека. Однако более глубокое изучение факторов патогенности у *Corynebacteria non diphtheriae* позволяет отнести их к возбудителям ряда острых воспалительных процессов верхних дыхательных путей, урогенитального тракта, кожи, гнойно-септических процессов (Bernard K.A., 2012), особенно у лиц с иммунодефицитными состояниями. Поэтому из описанных в настоящее время 120 видов коринебактерий более половины оказались причастны к развитию инфекционных процессов различной локализации. Многие из них, особенно штаммы с множественной резистентностью к антибиотикам, выявляются при внутригоспитальных инфекциях.

В то же время в практической лабораторной практике не уделяется должного внимания выделению и идентификации недифтерийных коринебактерий. Так, описанная в 1998 г. G.Funke при воспалительном процессе мочеполовой системы *C.riegelii*, имеет ряд факторов патогенности и способна вызывать инфекционную патологию почек, но не выделяется в большинстве практических лабораторий, как и многие другие условно-патогенные коринебактерии. Причиной такого факта является недостаток данных о наиболее достоверных методах идентификации *C. non diphtheriae* и доказательстве их этиологической значимости.

Поэтому выбранная Натальей Александровной Ворониной тема диссертационного исследования крайне важна и своевременна как для лабораторной диагностики, так и для открывающейся перспективы в выборе профилактических и лечебных мероприятий.

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 достаточный объём источников литературы (всего 168: 46 отечественных, 122 зарубежных). Все данные, полученные в ходе выполнения задач исследования, подвергнуты глубокому теоретическому анализу с учетом уже имеющихся знаний в сфере научных интересов автора. Положения, выносимы на защиту, и полученные выводы имеют логическое подтверждение в тексте и хорошо иллюстрированы таблицами и рисунками. Каждое положение и вывод имеют достаточную 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: научного, диагностического и лечебного.

Достоверность и новизна полученных результатов. Достоверность полученных результатов основана на большом объеме проведенных исследований, выполненных на высоком методическом уровне. Так, в работе были использованы 217 штаммов недифтерийных коринебактерий, выделенных от больных и практически здоровых лиц. В качестве контролей служили референтные штаммы и музейные культуры микроорганизмов 21 вида.

Соискателем использован целый ряд классических и современных методов исследования: бактериологических, молекулярно-генетических, иммунологических и статистических, характеризующихся высокой специфичностью и чувствительностью. Основные биологические свойства (морфологические, культуральные, ферментативные, токсигенные, отношение к антибиотикам) изучены с помощью бакте-

риологического метода. Для идентификации коринебактерий помимо биохимических тестов использовали масс-спектрометрический метод MALDI-TOF а также секвенирование генов 16S рРНК. Влияние *C. non diphtheriae* на клетки иммунной системы изучали с помощью ряда иммунологических методов.

Все полученные автором результаты статистически обработаны с помощью современных компьютерных программ, выбор метода обработки соответствовал объему и формату проведенных исследований. Положения и выводы основаны на достоверных статистических данных.

Теоретическая и практическая значимость полученных автором результатов.

Теоретическая значимость результатов исследования заключается в следующем:

- Впервые показано преимущество бактериологического метода исследования по сравнению с масс-спектрометрическим (MALDI-ToF-MS) при сравнительном анализе эффективности методов идентификации различных видов недифтерийных коринебактерий с использованием «золотого стандарта» (секвенирование генов 16S рРНК).
- Определена значимость факторов патогенности недифтерийных коринебактерий: уреазной, гемолитической, ДНК-азной активности, A1g-а по отношению к IgG - в развитии инфекционных процессов различной локализации.
- Впервые исследована способность недифтерийных коринебактерий к индукции фагоцитоза и апоптоза макрофагов, а также механизм регуляторного влияния нейтрофилокинов, индуцированных *C. non diphtheriae*, на эти процессы.
- Впервые выявлена чувствительность к антибактериальным препаратам штаммов *C. non diphtheriae*, выделенных при инфекционных процессах среди различных контингентов населения в г. Ростов-на-Дону и Ростовской области.

Практическая значимость результатов исследования заключается в следующем:

- Результаты исследования факторов патогенности недифтерийных коринебактерий легли в основу разработки биоинформационного алгоритма для определения этиологической значимости *C. non diphtheriae* в развитии инфекционных процессов в организме человека.
- Депонирован штамм *Corynebacterium riegelii* «Дон» в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКМП-Оболенск» (сви-

детельство № 207 от 23.12.13г.).

- Разработаны подходы к рациональной антибиотикотерапии воспалительных заболеваний, вызванных недифтерийными коринебактериями, с учетом их симбиотических взаимоотношений с представителями условно-патогенной микрофлоры организма человека.

Результаты диссертационной работы Натальи Александровна внедрены в практику работы:

- лаборатории бактериологических методов исследования ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области» (имеется акт внедрения);
- использованы при чтении лекций и проведении лабораторных занятий со студентами, интернами, ординаторами, курсантами факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов на кафедре микробиологии и вирусологии № 2 ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России (имеется акт внедрения).

Оценка содержания диссертации, её завершенность. Материалы диссертационной работы изложены на 154 страницах печатного текста. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, собственных исследований, отраженных в 3-х главах, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, списка цитируемой литературы из 168-ми источников. Работа иллюстрирована 32-мя таблицами и 3-мя рисунками. Каждый раздел диссертации логично перетекает в следующий. Обращает на себя внимание тщательное оформление диссертации, 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 29 научных работ, из них – 6 статей и 6 тезисов в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ. В публикациях содержится полный объем информации, касающейся темы диссертации. Получено Свидетельство № 207 от 23.12.13г. о депонировании штамма *Corynebacterium riegelsii* «Дон» в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКМП-Оболенск».

Соответствие автореферата основному содержанию диссертации. Авторефе-

рат 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 Натальи 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 Натальи Александровны является то, что эта работа имеет большое значение не только для биологических, но и медицинских наук. Востребованность в результатах работы, проведенной автором, многократно возрастает в связи со следующим:

- 1) Соискателем показано, что многие виды недифтерийных коринебактерий обладают антагонистическими свойствами в отношении эпидермального стафилококка. Как известно, кокковая флора, в том числе стафилококковая, нередко является причиной бактериальных дисбиозов, особенно в урогенитальном тракте женщин. В то же время, многие коринебактерии могут компенсировать сниженное при этом состоянии количество лактобактерий. Поэтому на основе штаммов *C. non diphtheriae*, не имеющих факторов патогенности, могут быть разработаны пробиотические препараты, которые могут быть использованы при коррекции нормальной флоры урогенитального тракта женщин.
- 2) Разработанный автором биоинформационный алгоритм для определения этиологической значимости *C. non diphtheriae* в развитии инфекционных процессов в организме человека может быть включен в программный пакет, предназначенный для автоматизированных бактериологических лабораторий, что позволит в короткие сроки получить достоверный ответ о возбудителе заболевания.

Недостатки в содержании и оформлении диссертации не выявлены.

Вопросы для дискуссии:

1. Чем Вы объясните 100%-ную антииммуноглобулиновую активность (AIg-a) штаммов всех недифтерийных коринебактерий, выделенных как от здоровых, так и от больных лиц?

2. В чем причина появления полиантибиотикорезистентных штаммов *C.xerosis*, *C.amycolatum*, *C.striatum*?

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным «Положение 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 6-ти рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, имеется свидетельство о депонировании штамма *Corynebacterium riegellii* «Дон» в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКМП-Оболенск».

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 Ворониной Натальи Александровны на тему: «Недифтерийные коринебактерии: биологические свойства и роль в развитии инфекционных процессов у человека», выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора Харсеевой Г. Г., 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 — изучения патогенных свойств недифтерийных коринебактерий и определения их роли в развитии инфекционных процессов в организме человека, имеющей существенное значение для соответствующей отрасли знаний, а именно: разработан биоинформационный алгоритм для определения этиологической значимости недифтерийных коринебактерий в развитии инфекционных процессов в организме человека; впервые исследована способность недифтерийных коринебактерий к индукции фагоцитоза и апоптоза макрофагов, а также механизм регуляторного влияния нейтрофилокинов, индуцированных *C. non diphtheriae*, на эти процессы, что соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24. 09. 2013 г., с изменениями, утвержденными постановлением Правительства РФ № 335 от

21.04.2016 г., предъявляемым ВАК РФ к кандидатским диссертациям, а ее автор 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, заведующая лабораторией
медицинской бактериологии

 Л. А. Краева

12.09.2016.

Подпись Л.А.Краевой удостоверяю:

Начальник отдела кадров:
12.09.2016г.



С. Н. Михайлова