

УТВЕРЖДАЮ:

Директор 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 академик РАН, д.м.н., профессор



И.А. Дятлов

«28» сентября 2017 г.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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

Диссертация «Молекулярно-генетическая характеристика клинических штаммов *Klebsiella pneumoniae*: вирулентность и устойчивость к антимикробным препаратам» выполнена в лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии 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.

В период подготовки диссертации соискатель Лев Анастасия Игоревна работала в Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной

службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, в лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии в должностях стажера-исследователя и младшего научного сотрудника.

В 2013 г. окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Челябинский государственный университет» по специальности «Биология». В 2017 г. окончила очную аспирантуру в Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации.

Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2017 г. Федеральным бюджетным учреждением науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации.

Научный руководитель: кандидат биологических наук Фурсова Надежда Константиновна, Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, лаборатория антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии, заведующая.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертационная работа Лев А.И. является завершенной научно-квалификационной работой, в которой представлены новые данные о фенотипах и генотипах антибиотикорезистентности и вирулентности клинических штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в 2012-2016 гг. Работа соответствует всем требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям. Диссертационная работа Лев А.И. соответствует отрасли науки «Биологические науки» и паспорту специальности

03.02.03 – «Микробиология» в областях исследований по пунктам 1 – «Проблемы эволюции микроорганизмов, установление их филогенетического положения», 2 - «Выделение, культивирование, идентификация микроорганизмов», 3 - «Морфология, физиология, биохимия и генетика микроорганизмов».

Личное участие автора заключалось в анализе научной литературы, планировании экспериментов, в выполнении микробиологических, молекулярно-генетических, биохимических, биологических экспериментов, анализе полученных результатов, в подготовке публикаций, в представлении устных и постерных докладов на конференциях. Отдельные разделы работы выполнены совместно с к.м.н. Асташкиным Е.И., к.б.н. Воложанцевым Н.В., м.н.с. Соловьевой Е.В., к.м.н. Борзиловым А.И., к.б.н. Кисличкиной А.А., к.б.н. Платоновым М.Е. и к.б.н. Шайхутдиновой Р.З.

Достоверность результатов проведенных исследований подтверждается тем, что они получены на сертифицированном оборудовании, с использованием современных микробиологических, молекулярно-генетических, биохимических, биологических, биофизических, биоинформационных и статистических методов исследований; показана воспроизводимость результатов в разных условиях экспериментов; согласуются с опубликованными в научной литературе экспериментальными данными.

Новизна проведенных исследований состоит в выявлении высокой генетической гетерогенности клинических штаммов *K. pneumoniae*, выделенных в 2012-2016 гг., в описании новых сиквенс-типов клебсиелл; в доказательстве роли *K. pneumoniae* в качестве источником распространения генов эпидемических карбапенемаз *bla*<sub>OXA-48</sub> и *bla*<sub>OXA-244</sub> среди других энтеробактерий в условиях нейрореанимации г. Москвы в 2013-2015 гг.; в выявлении в исследуемых лечебных учреждениях штаммов *K. pneumoniae*, несущих ген эпидемической металло- $\beta$ -лактамазы NDM-1; в описании событий интеграции *IS1R*- и *IS10R*-элементов в позициях 86 п.н. и 41 п.н. в последовательности генов мажорного поринового белка клебсиелл *ompK36*, приводящих к утрате продукции белка *OmpK36* и к изменению чувствительности бактерий в карбапенемам; в расшифровке молекулярного механизма «дефектного» негипермукоидного

фенотипа у *rtmA*-позитивного авирулентного для мышей штамма *K. pneumoniae* КРВ584, который заключается в наличии неописанной ранее точечной делеции в гене регулятора гипермукоидного фенотипа *rtmA*; в обнаружении впервые в мире в штаммах *K. pneumoniae* гипервирулентной генетической линии СС23 капсульного типа К1 одновременно двух генов эпидемических  $\beta$ -лактамаз: цефалоспорины *bla*<sub>CTX-M-15</sub> и карбапенемазы *bla*<sub>OXA-48</sub>.

Практическая значимость работы заключается в создании коллекции клинических штаммов *K. pneumoniae*, выделенных в Российской Федерации в 2012-2016 гг. (n=406), государственной регистрации в Реестре баз данных Базы данных «Клинические штаммы грамотрицательных бактерий для изучения молекулярных механизмов антибиотикорезистентности» (Свидетельство № 2017621413 от 01.12.2017 г.); депонировании в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболенск» 45 референс-штаммов *K. pneumoniae*; размещении в международную базу данных GenBank 497 нуклеотидных последовательностей генов и 5 полных геномов *K. pneumoniae*; размещении в международную базу данных MLST института Пастера, г. Париж информации о 45 изолятах *K. pneumoniae*, выделенных в Российской Федерации, принадлежащих к 14 сиквенс-типам; написании Методических рекомендаций «Мультилокусное сиквенс-типирование (MLST) штаммов *Klebsiella pneumoniae*» (Утв. Ученым советом ФБУН ГНЦ ПМБ 27.10.2015 г., протокол №10) и Методических рекомендаций «Генотипирование штаммов *Klebsiella pneumoniae* на основе детекции генов антибиотикорезистентности и вирулентности» (Утв. Ученым советом ФБУН ГНЦ ПМБ 29.11.2016 г., протокол №9); использовании результатов диссертационного исследования в отделении нейрореанимации ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко» Минздрава РФ для оценки существующей эпидемиологической ситуации, прогнозирования ее развития и выбора оптимальных мер по контролю клебсиеллезных инфекций (Акт внедрения результатов диссертационной работы от 22.11.2017) и в Государственном научном центре прикладной микробиологии и биотехнологии – при чтении лекций в рамках образовательной программы дополнительного профессионального

образования «Бактериология. Основы биологической безопасности и практика работ с микроорганизмами I-IV групп патогенности» при ФБУН ГНЦ ГИМБ.

Материалы диссертации полностью изложены в 26 опубликованных соискателем научных работах по теме диссертации, включая 6 статей в зарубежных реферируемых научных журналах и 20 тезисов в материалах международных и Всероссийских научных конференций.

Диссертация «Молекулярно-генетическая характеристика клинических штаммов *Klebsiella pneumoniae*: вирулентность и устойчивость к антимикробным препаратам» Лев Анастасии Игоревны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Заключение принято на заседании межлабораторного научного семинара 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. Присутствовало на заседании 29 чел. Результаты голосования: «за» - 29 чел., «против» - 0 чел., «воздержалось» - 0 чел., протокол № 50 от 29 августа 2017 г.



доктор медицинских наук, профессор  
Анисимов Андрей Павлович,  
заместитель директора по научной  
работе 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