

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

24 08 2023 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального бюджетного учреждения науки «Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации

Диссертация «Фенотипические и молекулярно-генетические свойства уропатогенных штаммов *Escherichia coli*» Слукина Павла Владимировича выполнена в лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии Федерального бюджетного учреждения науки «Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации.

В период подготовки диссертации соискатель Слукин Павел Владимирович работал в Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, отдел молекулярной микробиологии, научный сотрудник.

В 2011 году Слукин П.В. окончил Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Челябинский государственный педагогический университет», получил квалификацию «учитель биологии» по специальности «биология». В 2014 году Слукин П.В. окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пушкинский государственный естественно-научный институт», получил квалификацию «магистр» по специальности «биология».

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, ведущий научный сотрудник.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертационная работа Слукина Павла Владимировича является завершённой научно-квалификационной работой, в которой, на основании выполненных исследований, решены задачи изучения фенотипических и молекулярно-генетических особенностей штаммов уропатогенных *Escherichia coli*, выделенных от людей с инфекциями мочевыводящих путей. Работа соответствует всем требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации 30.07.2014 № 723, от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539), предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Диссертационная работа Слукина П.В. соответствует отрасли науки «Биологические науки» и паспорту специальности 1.5.11. Микробиология по пунктам 1 – «Проблемы эволюции микроорганизмов, установление их филогенетического положения», 2 - «Выделение, культивирование, идентификация микроорганизмов», 3 - «Морфология, физиология, биохимия и генетика микроорганизмов».

Совместно с научным руководителем, к.б.н. Фурсовой Н.К., определены цель и задачи исследования, методика и дизайн экспериментов, а также проведен биоинформатический анализ отдельных нуклеотидных последовательностей генов и подготовка материалов к публикации. Личное участие автора заключалось в анализе научной литературы, планировании, выполнении и анализе большей части экспериментов. Совместно с д.б.н. Игнатовым С.Г. выполнен дизайн, анализ и подготовка к публикации экспериментов с образцами наноструктурированных пленок. Отдельные работы по ПЦР-детекции генов вирулентности и генов «домашнего хозяйства» выполнены совместно с к.м.н. Асташкиным Е.И. Масс-спектрометрическая идентификация штаммов проведена совместно с Детушевым К.В. и Новиковой Т.С., полногеномное секвенирование штаммов – с к.б.н. Мухиной Т.Н. и к.б.н. Кисличкиной А.А., отдельные эксперименты на модели личинок *G. mellonella* – совместно с Асланян Е.М.

Достоверность результатов проведенных исследований определяется использованием современных методов исследования и оборудования, поверенного и сертифицированного надлежащим образом, с привлечением статистических методов обработки данных и сравнением полученных результатов с данными, опубликованными ранее в научной литературе по исследуемой тематике.

Новизной полученных данных является:

- установление факта принадлежности 45 % штаммов, из 303 *E. coli*, выделенных от пациентов с урологическими заболеваниями в России в 2005-2020 гг., к широко распространенным в мире генетическим группам O25-B2-ST131, O75-B2-CC14, A-CC10, D-ST69, O2-B2-ST141, O4/O6-B2-ST127, O2/O6-B2-ST73, D-ST405, O86-D-ST501, B1-ST58 и O89-A-ST744;
- выявление высокой генетической гетерогенности штаммов UPEC: определены 19 серогрупп, 25 сиквенс-типов и 21 генетические группы;
- идентификация 3 новых сиквенс-типа *E. coli*: ST9239, ST10102 и ST12358, характеризующихся новыми аллельными профилями генов «домашнего хозяйства» по схеме Ahtman (*adk6*, *fumC19*, *gyrB33*, *icd26*, *mdh11*, *purA8*, *recA341*; *adk13*, *fumC44*, *gyrB9*,

icd22, mdh579, purA30, recA34; и *adk10, fumC11, gyrB4, icd8, mdh1153, purA13, recA2*, соответственно);

- отнесение к патогруппе UPEC штаммов с сиквенс-типами ST165, ST1140, ST1858, ST9239, ST10102 и ST12358; а также штаммов с генетическими группами O4-F-ST12, O6-B2-ST1858, O8-B1-ST9239, O8-B1-ST297, O9-A-ST46, O11-F-ST457, O15-E-ST38, O17-E-ST69, O18-B2-ST14, O91-B1-ST1196 и O134-B2-ST569;

- выявление для 20 % штаммов *E. coli* факта сочетания мультирезистентности к антибиотикам (бета-лактамам, фторхинолонам и аминогликозидам) с устойчивостью к препаратам антисептиков/дезинфектантов (триклозану и бензалконию хлориду).

Полученные в ходе исследования результаты расширяют представления об этиологической структуре инфекции мочевыводящих путей, вызванных *Escherichia coli*.

Практическая значимость работы заключается в следующем:

- создание коллекции штаммов *E. coli* (n=303), выделенных от пациентов с урологическими заболеваниями в Российской Федерации в 2005-2020 гг., электронного каталога и трех Баз данных: «Клинические штаммы грамотрицательных бактерий для изучения молекулярных механизмов антибиотикорезистентности» (Свидетельство RU2017621413 от 01.12.2017 г.), «Генетические детерминанты вирулентности и антибиотикорезистентности уropатогенных *Escherichia coli*, выделенных в Российской Федерации в 2005-2020 гг.» (Свидетельство № 2021621432 от 01.07.2021 г.) и «CRISPR-CAS системы бактерий III-IV групп патогенности» (Свидетельство № 2021621482 от 07.07.2021 г.) – Федеральный уровень внедрения;

- депонирование в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболensk» 62 штаммов патогруппы UPEC, охарактеризованных по O-групповой принадлежности, вирулентности, антибиотикорезистентности и биопленкообразованию (Справки о депонировании №№ 57-60 от 18.05.2018; №№ 181-184 от 15.11.2018; №№ 60-74 от 28.05.2019; №№ 94-100 от 09.09.2019; №№ 66-82 от 11.02.2020; №№ 107-121 от 04.03.2020) – Федеральный уровень внедрения;

- размещение в Базе данных GenBank 28 нуклеотидных последовательностей генов вирулентности, антибиотикорезистентности и O-серогрупповой принадлежности, а также 54 полных геномов штаммов патогруппы UPEC – Международный уровень внедрения;

- размещение в Базе данных MLST Уорикского университета информации о 21 штамме *E. coli*, принадлежащих к 16 сиквенс-типам – Международный уровень внедрения;

- разработка Методических рекомендаций «Оценка вирулентности бактерий III-IV групп патогенности на модели личинок большой восковой моли *Galleria mellonella*» (Рассмотрены и одобрены Ученым советом ФБУН ГНЦ ПМБ, протокол № 4 от 10.09.2020) – Учрежденческий уровень внедрения.

Материалы диссертации полностью изложены в 24 научных работах, из которых 5 статей в отечественных и международных реферируемых научных журналах, 3 Базы данных, 5 статей в других журналах и 11 тезисов устных и стендовых сообщений в материалах международных и всероссийских научных конференций.

Статьи, опубликованные в реферируемых научных журналах

1. Детушева, Е.В. Чувствительность нозокомиальных штаммов *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *P. mirabilis* к антисептику на основе хлоргексидина / Е.В.

Детушева, В.Б. Родин, **П.В. Слукин** [и др.] // Клин. Микробиол. Антимикроб. Химиотер. – 2015. – Т. 17, № 1. – С. 57-66. (SCOPUS, ВАК, IF 1,32; цит. 11)

2. Permyakova, E.S. Antibacterial biocompatible PCL nanofibers modified by COOH-anhydride plasma polymers and gentamicin immobilization / E.S. Permyakova, D.V. Shtansky, A. Manakhov, J. Polčák, **P.V. Slukin**, S.G. Ignatov, N.A. Gloushankova, L. Zajíčková // Materials & Design. – 2018. – Vol. 153. – P. 60-70. (Web of Science, SCOPUS, Q1, IF 6,551; цит. 37)

3. Ponomarev, V.A. TiCaPCON-supported Pt-and Fe-based nanoparticles and related antibacterial activity / V.A. Ponomarev, A.N. Sheveyko, E.S. Permyakova, A.M. Manakhov, I.V. Chepkasov, Z.I. Popov, D.V. Shtansky, J. Lee, A.A. Voevodin, D. Berman, M. Michlíček, **P.V. Slukin**, V.V. Firstova, S.G. Ignatov // ACS applied materials & interfaces. – 2019. – Vol. 11. – № 32. – P. 28699-28719. (SCOPUS, Q1, IF 8,758; цит. 17)

4. **Слукин, П.В.** Фенотипические и молекулярно-генетические свойства клинических штаммов *Escherichia coli*, выделенных от пациентов с урологическими заболеваниями / **П.В. Слукин**, Э.А. Светоч, Е.М. Асланян [и др.] // Урология. – 2020. – № 2. – С. 23-30. (SCOPUS, ВАК, Q4, IF 2,649; цит. 1)

5. **Слукин, П.В.** Характеристика вирулентных штаммов *Escherichia coli*, выделенных от пациентов с урологической инфекцией / Слукин П.В., Е.И. Асташкин, Е.М. Асланян [и др.] // Журн. Микроб. Эпидем. Иммунол. – 2021. – № 6. – С. 671-684. (SCOPUS, ВАК, Q4, IF 0,324; цит. 4)

Базы данных

1. **Слукин, П.В.** Генетические детерминанты вирулентности и антибиотикорезистентности уропатогенных *Escherichia coli*, выделенных в Российской Федерации в 2005-2020 гг. / П.В. Слукин, Л.В. Колупаева, Н.А. Слукина, Н.К. Фурсова // База данных. Свид. о рег. 2021621432, 01.07.2021. Заявка № 2021621323 от 25.06.2021.

2. **Слукин, П.В.** Клинические штаммы грамотрицательных бактерий для изучения молекулярных механизмов антибиотикорезистентности / П.В. Слукин, А.И. Лев, Е.И. Асташкин, Н.К. Фурсова // База данных. Свид. о рег. RU 2017621413, 01.12.2017. Заявка № 2017621156 от 18.10.2017.

3. **Слукин, П.В.** CRISPR-CAS системы бактерий III-IV групп патогенности / П.В. Слукин, Е.В. Детушева, Е.С. Кузина [и др.] // База данных. Свид. о рег. 2021621482, 07.07.2021. Заявка № 2021621321 от 25.06.2021.

Статьи, опубликованные в других изданиях

1. **Слукин, П.В.** Антибактериальная активность бензидамина гидрохлорида против клинических изолятов бактерий, выделенных от людей в России и Испании / П.В. Слукин, Н.К. Фурсова, Н.И. Брико // Эпидем. Вакцинопроф. – 2018. – Т. 17. – № 6 (103). – С. 11-18.

2. Детушева, Е.В. Молекулярно-генетические методы изучения биопленок микроорганизмов / Е.В. Детушева, **П.В. Слукин**, Н.К. Фурсова // Бактериология. – 2020. – Т. 5. – № 2. – С. 49-55.

3. Ермоленко, З.М. Биопленки микроорганизмов в урологии: клиническая значимость и контроль связанных с ними инфекций / З.М. Ермоленко, **П.В. Слукин**, Н.К. Фурсова // Бактериология. – 2021. – Т. 6. – № 2. – С. 47-61.

4. **Слукин, П.В.** Оценка способности бензидамина гидрохлорида подавлять планктонные клетки, а также растущие и зрелые биопленки клинически значимых микроорганизмов / П.В. Слукин, Н.К. Фурсова, И.В. Кукес, Н.И. Брико // Фарматека. – 2021. – Т. 28. – № 1. – С. 102-107.

5. **Слукин, П.В.** Создание базы данных клинических штаммов грамотрицательных бактерий для изучения молекулярных механизмов антибиотикорезистентности / П.В. Слукин, А.И. Лев, Е.И. Асташкин [и др.] // Бактериология. – 2018. – Т. 3. – № 1. – С. 26-32.

Тезисы Всероссийских и международных научных конференций

1. **Слукин, П.В.** Антибактериальное действие наночастиц на керамическом носителе на грамположительные и грамотрицательные бактерии / П.В. Слукин, З.М. Ермоленко, Н.К. Фурсова, С.Г. Игнатов // Бактериология. – 2017. – Т. 2. – № 3. – С. 99-100.

2. **Слукин, П.В.** Генетические детерминанты антибиотикорезистентности и вирулентности уропатогенных *Escherichia coli*, выделенных в Ярославле в 2016-2017 гг / П.В. Слукин, З.М. Ермоленко, Е.И. Асташкин [и др.] // Материалы I-ого Российского Микробиол. конгресса. – 2017. – С. 124-125.

3. **Слукин, П.В.** Антибактериальная активность нановолокон с иммобилизованным гентамицином против уропатогенных *Escherichia coli* / П.В. Слукин, З.М. Ермоленко, Н.К. Фурсова, С.Г. Игнатов // Материалы I-ого Российского Микробиол. конгресса. – 2017. – С. 174-174.

4. **Слукин, П.В.** Разнообразие клинических уропатогенных штаммов *Escherichia coli* по генотипам вирулентности / П.В. Слукин, Е.И. Асташкин, З.М. Ермоленко [и др.] // Молекулярная диагностика 2017. – 2017. – С. 345-347.

5. **Слукин, П.В.** Колицинопродуцирующие антибиотикорезистентные уропатогенные штаммы *Escherichia coli*, выделенные в Ярославле в 2016-2017 гг / П.В. Слукин, З.М. Ермоленко, Е.И. Асташкин [и др.] // Бактериология. – 2017. – Т. 2. – № 3. – С. 98-99.

6. **Слукин, П.В.** Антибиотикорезистентность и генотипы клинических штаммов уропатогенных *Escherichia coli* / П.В. Слукин, З.М. Ермоленко, Е.И. Асташкин [и др.] // Клин. Микробиол. Антимикроб. Химиотер. – 2018. – Т. 20. – № S1. – С. 41-41.

7. **Слукин, П.В.** Чувствительность к антимикробным препаратам уропатогенных *Escherichia coli* в планктонной форме и в составе биопленок / П.В. Слукин, З.М. Ермоленко, Е.И. Асташкин [и др.] // Микроорг. и биосфера «Microbios-2018». – 2018. – С. 65-65.

8. **Слукин, П.В.** Распространенность генов вирулентности в клинических штаммах уропатогенных *Escherichia coli* / П.В. Слукин, Е.И. Асташкин, З.М. Ермоленко [и др.] // Материалы V Национал. конгресса бактериол. – 2019. – С. 72-72.

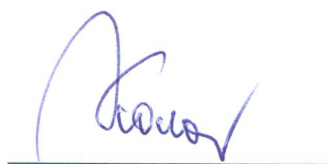
9. Колупаева, Л.В. Чувствительность штаммов *Escherichia coli* серогруппы O25 к бактериофагам / Л.В. Колупаева, **П.В. Слукин**, Н.К. Фурсова // Пробл. Мед. Микол. – 2020. – Т. 22. – № 3. – С. 89.

10. Колупаева, Л.В. Оценка эффективности фага ВЕУ 50 против уропатогенных *Escherichia coli* на *in vivo* модели *Galleria mellonella* / Л.В. Колупаева, Е.М. Асланян, **П.В. Слукин**, Н.К. Фурсова // Пробл. Мед. Микол. – 2021. – Т. 23. – № 2. – С. 92.

11. Колупаева, Л.В. Чувствительность уропатогенных *E. coli* к коммерческим фаговым препаратам / Л.В. Колупаева, **П.В. Слукин**, Н.К. Фурсова // Эпидемиолог. надзор за актуал. инф.: новые угрозы и вызовы. – 2021. – С. 343-345.

Диссертация «Фенотипические и молекулярно-генетические свойства уропатогенных штаммов *Escherichia coli*» Слукина Павла Владимировича рекомендуется к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Заключение принято на заседании межлабораторного научного семинара Федерального бюджетного учреждения науки «Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации. Присутствовало на заседании 17 чел. Результаты голосования: «за» – 12 чел., «против» – 5 чел., «воздержалось» – 0 чел., протокол № 64 от 19 мая 2023 г.



Коломбет Любовь Васильевна
доктор биологических наук
ученый секретарь
Федерального бюджетного учреждения науки
«Государственного научного центра прикладной
микробиологии и биотехнологии» Федеральной
службы по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека
Российской Федерации