

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

комиссии диссертационного совета Д 350.002.01 при Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора по кандидатской диссертации Соловьевой Екатерины Владимировны на тему: «Капсулоспецифичные бактериофаги и их полисахарид-деградирующие ферменты, активные в отношении гипермукоидных штаммов *Klebsiella pneumoniae*», выполненной в Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология

**Соответствие соискателя ученой степени требованиям, необходимым для допуска к защите.** Соловьева Е.В. соответствует требованиям, изложенным в п. 3 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г.: имеет высшее образование, подтвержденное дипломом ФГБОУ ВПО «Челябинский государственный университет» по специальности 020209 – «Микробиология». Работая в должности младшего научного сотрудника в 2015-2018 гг., Соловьева Е.В. подготовила диссертацию в Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, давшем положительное заключение по данной диссертации; сдала кандидатские экзамены, о чем представлена справка.

**Соответствие диссертации специальности, по которой совету предоставлено право защиты.** Диссертация Соловьевой Е.В. выполнена в лаборатории молекулярной диагностики и генно-инженерных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, под руководством кандидата биологических наук Воложанцева Николая Валентиновича, на современном научно-методическом уровне с использованием микробиологических, молекулярно-генетических и биоинформационных методов исследования. Члены комиссии считают, что диссертация Соловьевой Е.В. соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, отрасли науки «Биологические науки», а также 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», 10 – «Использование микроорганизмов в народном хозяйстве, ветеринарии и медицине».

**Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных автором. Выполнение требований к публикации основных научных результатов диссертации.** По теме диссертации опубликовано 18 научных работ, в том числе 5 работ в

рецензируемых научных журналах и 13 тезисов в материалах международных и Всероссийских научных конференций.

Автор лично подготовила план и программу диссертационного исследования, сформулировала цель и задачи, разработала методологию экспериментальной части. Автор лично проводила все эксперименты по культивированию бактериальных штаммов *K. pneumoniae*, определению признака гипермукоидности и капсульному ПЦР-серотипированию; также ею выполнены все работы по выделению, характеристике литического спектра и специфичности бактериофагов, лизирующих штаммы *K. pneumoniae*. Биоинформационный анализ фаговых геномов выполнен автором диссертационного исследования. Также лично автором получены рекомбинантные генетические конструкции, обеспечивающие экспрессию генов фаговых полисахарид-деполимераз. Оформление первичной документации и обработка результатов проведены автором самостоятельно. Автор непосредственно принимала участие в подготовке и написании научных публикаций по теме диссертации. Присвоения авторства чужого научного труда (плагиата), результатом которого может быть нарушение авторско-правового и патентного законодательства, в данной диссертации не усматривается.

Диссертационная работа изложена на 120 страницах машинописного текста и состоит из Введения, Обзора литературы, Материалов и методов, Resultados и обсуждения, Заключения, Выводов и Списка источников литературы, который включает 24 работы отечественных и 241 работу зарубежных авторов. Работа содержит 28 рисунков и 13 таблиц.

**Актуальность** выбранной темы определяется необходимостью разработки дополнительных средств, направленных на борьбу с гипервирулентными штаммами *K. pneumoniae*, устойчивыми к широкому спектру антибактериальных препаратов и обладающими гипермукоидным фенотипом.

*Klebsiella pneumoniae* – известный оппортунистический патоген, являющийся причиной внебольничных и госпитальных инфекций. За счет быстрого формирования экстремального уровня устойчивости к антибактериальным препаратам, *K. pneumoniae* занимает лидирующее место среди госпитальных патогенов. Всемирная организация здравоохранения рассматривает штаммы *K. pneumoniae*, несущие  $\beta$ -лактамазы расширенного спектра действия и карбапенемазы, как возбудителей заболеваний первой категории приоритетности для научных разработок в области создания новых антибактериальных препаратов. В настоящее время рядом исследователей отмечено формирование новой «гипервирулентной» группы *K. pneumoniae* (hvKp). Большинство сообщений акцентируют внимание на высоком уровне вирулентности hvKp-штаммов, позволяющем им инфицировать людей с неослабленной иммунной системой. Одним из ярких отличительных признаков большинства hvKp-штаммов является гипермукоидность, ассоциированная с гиперпродукцией капсульных полисахаридов. Среди более чем 80-ти

капсульных типов, выявленных к настоящему времени, штаммы *K. pneumoniae* капсульных типов K1 и K2 (в меньшей степени K5, K20, K54 и K57), обладающие признаком гипермукоидности, являются наиболее вирулентными для человека. Тем не менее, современная проблема гипервирулентных *K. pneumoniae* состоит не только в высоком уровне вирулентности. С момента появления hvKp-штаммов в больничной среде исследователи были озабочены проблемой возможного приобретения подобными штаммами детерминант антибиотикорезистентности, т.к. при интенсивном применении антибиотиков такое развитие событий вполне прогнозируемо. В настоящий момент, уже выделены и описаны hvKp-штаммы, обладающие  $\beta$ -лактамазами расширенного спектра действия и карбапенемазами. Фактически на наших глазах происходит формирование «суперпатогена», обладающего экстремальными характеристиками вирулентности и антибиотикорезистентности.

Разработка альтернативных способов лечения инфекций, вызванных антибиотикорезистентными бактериями, является одним из самых приоритетных направлений современной биомедицины. Именно на фоне критического уровня устойчивости патогенных бактерий к антибактериальным препаратам фаготерапия переживает свой второй рассвет. Исследование бактериофагов на современном научном уровне способствует обнаружению дополнительных средств для борьбы с патогенными бактериями. Одним из актуальных направлений исследований является изучение различных фаговых ферментов, участвующих в стадии адсорбции литических фагов на бактериальных клетках. Примером таких веществ могут служить полисахарид-деполимеразы, расщепляющие поверхностные структуры бактерий. Изучение механизмов взаимодействия между фагом и бактериальной клеткой на этапе деполимеризации поверхностных полисахаридов позволяет открыть новые возможности как в борьбе с бактериальными патогенами, так и в применении этих знаний в различных направлениях микробиологических технологий.

**Цель работы** – Выделение и изучение капсулоспецифичных бактериофагов и рекомбинантных фаговых полисахарид-деполимераз, активных против высоковирулентных гипермукоидных штаммов *Klebsiella pneumoniae*.

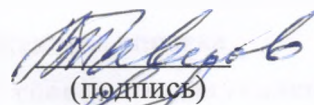
**Научная новизна полученных результатов** усматривается в том, что автором получены данные о циркуляции гипермукоидных штаммов *K. pneumoniae* среди госпитальных изолятов крупных стационаров г. Москвы. Показано, что 12,6 % штаммов обладают гипермукоидным фенотипом и принадлежат к капсульным типам K1, K2 и K57. Выделены и полноценно охарактеризованы бактериофаги, лизирующие гипермукоидные штаммы *K. pneumoniae* капсульных типов K1, K2 и K57. Бактериофаги, специфичные для

*K. pneumoniae* капсульного типа K57, выделены и описаны впервые. Впервые клонированы, выделены и охарактеризованы K2- и K57-специфичные фаговые полисахарид-деполимеразы Der\_kpv74 и Der\_kpv79. Установлен механизм действия ПС-деполимераз: оба фермента являются представителями класса гидролаз и катализируют расщепление О-гликозидной связи в сахарах. Проведенные исследования показали, что ПС-деполимераза Der\_kpv74 обладает «антивирулентной» активностью и обеспечивает терапевтический эффект при лечении инфекций, вызванных гипермукоидным штаммом *K. pneumoniae* у мышей (продемонстрировано на двух инфекционных моделях).

На основании анализа поступившей работы, комиссия пришла к заключению о возможности защиты кандидатской диссертации Соловьевой Екатерины Владимировны по теме «Капсулоспецифичные бактериофаги и их полисахарид-деградирующие ферменты, активные в отношении гипермукоидных штаммов *Klebsiella pneumoniae*» в диссертационном совете Д 350.002.01 при ФБУН ГНЦ ПМБ.

Члены комиссии:

доктор биол. наук Павлов Виталий Михайлович (председатель)



(подпись)

доктор мед. наук Ипполитов Евгений Валерьевич

(подпись)

доктор мед. наук Мокриевич Александр Николаевич

(подпись)

Председатель диссертационного совета  
Д 350.002.01, академик РАН, д-р мед. наук, проф.



Дятлов И.А.

Ученый секретарь диссертационного  
совета Д 350.002.01, канд. биол. наук



Фурсова Н.К..