

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор
ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова»
Минздрава России,
академик РАН, д. м. н., профессор



Г. Т. Сухих

2023 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу Тимошиной Ольги Юрьевны
на тему «Бактериофаги *Acinetobacter baumannii* семейства *Autographiviridae*:
ферментативное взаимодействие с полисахаридами»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.3 -«Молекулярная биология»

Актуальность темы выполненной работы

Смертность от заболеваний, вызванных устойчивыми к действию антибиотиков бактериями, к 2050 году сможет превысить смертность от сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний. Причинами распространения антибиотикорезистентности называют нерациональное и бесконтрольное применение противомикробных препаратов в медицине, ветеринарии и сельском хозяйстве. Всемирная организация здравоохранения выделяет список глобально приоритетных групп устойчивых к антибиотикам бактерий, в отношении которых необходима разработка новых противомикробных препаратов. К критически высокому уровню приоритетности относят широко лекарственно устойчивые грамотрицательные бактерии, в первую очередь резистентный к карбапенемам *Acinetobacter baumannii*. Всё увеличивающаяся экспансия устойчивых ко всем антибиотикам кроме колистина штаммов *A. baumannii* в отделениях реанимации и интенсивной терапии госпиталей по всему миру создает существенную угрозу глобальному благополучию. Одним из перспективных направлений борьбы с лекарственно устойчивыми нозокомиальными штаммами *A. baumannii* представляется использование сочетанной антибиотико- и фаготерапии.

Рациональным подходом к применению бактериофагов в клинической практике на данный момент представляется использование персонифицированных коктейлей, сформированных из фагов, специфичных к индивидуальным изолятам бактерии, выделяемых от пациента в процессе инфекции. Создание локальных коллекций строго литических бактериофагов позволит упростить подбор компонентов фаговых коктейлей под каждый конкретный случай заболевания.

подавляющее большинство известных на данный момент бактериофагов, инфицирующих *A. baumannii*, являются вирусами с коротким несократимым хвостом, первичными рецепторами которых на поверхности бактериальной клетки являются капсульные полисахариды. Данный факт обусловлен наличием у этих бактериофагов хвостовых шипов сложной структуры, обладающих ферментативной активностью. Изучение разнообразия капсульных полисахаридов *A. baumannii* и бактериофагов, способных специфически поражать штаммы соответствующих капсульных типов, таким образом, может служить основой для формирования коллекций литических бактериофагов, имеющих потенциал применения в фаготерапии.

Общая характеристика и структура диссертационной работы

Диссертационная работа имеет стандартную структуру и состоит из следующих разделов: «Список сокращений», «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список литературы». Работа изложена на 122 страницах, содержит 33 рисунка и 6 таблиц, список литературы включает ссылки на 197 источников на русском и на английском языках.

Введение содержит краткую информацию об актуальности, научной новизне и практической значимости работы, а также цели и задачи, поставленные перед автором.

Обзор литературы разделен на две смысловые части, в первой из которых приводится подробная микробиологическая, молекулярно-генетическая и таксономическая характеристика *A. baumannii*, а также описана уникальность данного микроорганизма в отношении антибиотикорезистентности и патогенных свойств. Во второй части обзора систематизированы актуальные данные об описанных ранее в научных публикациях бактериофагах, инфицирующих *A. baumannii*. Отдельные главы посвящены рассказу о полисахарид-деполимеризующих ферментах бактериофагов, а также практическому применению фагов и фаговых ферментов для контроля за инфекциями. В заключении к обзору литературы приводится краткое содержание предыдущих глав.

Раздел «Материалы и методы» содержит данные об используемых в ходе работы штаммах *A. baumannii*, приведены подробные описания проведенных экспериментов. Так

как представленная работа является обширной и комплексной, для выполнения поставленных задач был использован широкий спектр микробиологических, молекулярных, биофизических и биоинформатических методов.

Раздел «Результаты и обсуждение» хоть и является достаточно кратким, но четко структурирован и содержит информацию о микробиологических характеристиках впервые выделенных бактериофагов, организации и сравнении их геномов, их таксономическом положении. Существенную часть этого раздела занимает информация о механизмах ферментативного взаимодействия рекомбинантных белков хвостовых шипов исследуемых бактериофагов с капсульными полисахаридами целевых штаммов *A. baumannii*. Положения, выносимые на защиту, прямо вытекают из полученных Тимошиной О. Ю. результатов. Полученные результаты являются оригинальными.

Раздел «Заключение» кратко подводит итог проделанной работы. Выводы написаны четко и аккуратно, они полностью соответствуют поставленной цели и задачам.

Научная новизна и научно-практическая значимость полученных результатов

В ходе диссертационной работы были впервые выделены из объектов окружающей среды 9 ранее неизвестных литических бактериофагов, специфически инфицирующих штаммы *A. baumannii* капсульных типов K09, K14, K16, K37/K3-v1, K26, K86, K127 и K128. Для исследуемых бактериофагов установлены основные фенотипические характеристики; параметры инфекционного процесса; полная нуклеотидная последовательность и структура фаговых геномов; таксономическое положение на основе биоинформатического анализа и данных электронной микроскопии; определены механизмы, лежащие в основе ферментативной активности белков хвостового шипа исследуемых бактериофагов. Полученные данные вносят вклад в формирование общей картины геномного разнообразия вирусов, инфицирующих *A. baumannii*.

Все описываемые бактериофаги, за исключением фага *Aristophanes*, имеют потенциал использования в качестве компонентов препаратов для фаготерапии. Бактериофаг *Aristophanes*, при этом, является первым представителем ранее неопisanного рода вирусов внутри подсемейства *Beijerinckvirinae* семейства *Autographiviridae*.

Достоверность и обоснованность результатов исследования

Достоверность результатов работы подтверждена публикациями в международных высокоимпактных научных рецензируемых журналах. По теме работы опубликовано 7

полноразмерных научных статей в международных научных изданиях, индексируемых в базах РИНЦ, Scopus и Web of Science, а также 2 тезисов докладов на конференциях.

Исследование проведено на высоком методологическом уровне. Используемые в ходе работы методики современны, актуальны и адекватны поставленным задачам.

Вопросы и замечания

1) На с. 68 диссертации отмечено, что специфичность бактериофагов оценивали на панели из 51 штамма *A.baumannii*, но на с. 72 написано, что панель включала в себя 52 штамма. В таблице 3 приводится 52 штамма. Хотелось бы понять, сколько штаммов было в панели.

2) В тексте диссертации есть небольшое количество грамматических ошибок и опечаток. Например, в таблице 3 вместо «GenBank» написано «GeneBank», на с. 81 вместо «к капсульным типам K2 и K93» написано «к капсульным типам K2 and K93», на с. 82 вместо «от 40 966 до 42 013 п.н.» указано «от 40,966 до 42,013 п.н.». В диссертации приводится 6 статей, опубликованных по теме диссертации, а в автореферате их уже 7. Страница 93 в печатном варианте диссертации дублируется.

3) Содержание пар GC в геномах фагов АРК составляло 39,2-39,4%, что близко к 39% GC для *A.baumannii*. А для фага Aristophanes содержание пар GC было заметно выше, составив 42,5%. Есть ли у автора гипотезы или возможные объяснения этого факта?

4) На с. 67 для части штаммов *A.baumannii* указаны сиквенс-типы, а для части (D4, AB5256) – нет. Для этих штаммов нет соответствующих данных или же они просто не указаны? Как считает автор, какая из двух используемых схем типирования более распространена?

Заключение

Диссертационная работа Тимошиной Ольги Юрьевны «Бактериофаги *Acinetobacter baumannii* семейства *Autographiviridae*: ферментативное взаимодействие с полисахаридами» соответствует критериям (в том числе п. 9), установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426; 11.09.2021 №1539; 26.09.2022 №1690), а сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 - Молекулярная биология.

Отзыв на диссертационную работу Тимошиной Ольги Юрьевны «Бактериофаги *Acinetobacter baumannii* семейства *Autographiviridae*: ферментативное взаимодействие с

полисахаридами» обсужден и одобрен единогласно на семинаре института микробиологии, антимикробной терапии и эпидемиологии (протокол № 5 от 14 сентября 2023 г.)

Директор института микробиологии, антимикробной терапии и эпидемиологии,
чл.-корр. РАН, д. м. н., доцент

E-mail: t_priputnevich@oparina4.ru

Припутневич Татьяна Валерьевна

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России), 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4
Телефон: +7 (495) 531-44-44; E-mail: info@oparina4.ru; сайт: ncagp.ru

Подпись Припутневич Т. В. заверяю
Ученый секретарь
ФГБУ НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова
Минздрава России
к. м. н., доцент

Павлович С. В.