

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук Прилипова Алексея Геннадьевича на диссертационную работу Тимошиной Ольги Юрьевны «Бактериофаги *Acinetobacter baumannii* семейства *Autographiviridae*: ферментативное взаимодействие с полисахаридами», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология

Большую угрозу мировому здравоохранению представляет распространение мультирезистентных клонов патогенов группы ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и представители рода *Enterobacter*). Наиболее важной характеристикой инфекций, вызванных патогенами данной группы, является высокая вероятность летального исхода, связанная с трудностью подбора эффективной антимикробной терапии. Первое место в группе критического приоритета занял устойчивый к карбапенемам *Acinetobacter baumannii*. Препаратами выбора для терапии инфекций, вызванных *A. baumannii*, традиционно считались карбапенемы, однако на данный момент наблюдается высокий уровень распространённости нозокомиальных штаммов *A. baumannii*, устойчивых к данному классу антибиотиков. По результатам многоцентровых исследований доля карбапенем-резистентных нозокомиальных штаммов *A. baumannii* среди всех собранных на территории РФ в 2015-2016 гг. приблизилась к отметке в 80%; 20,5% всех исследованных изолятов были устойчивы ко всем антибиотикам, кроме колистина. Возможным компонентом антимикробной терапии инфекций, вызванных экстремально лекарственно устойчивыми штаммами *A. baumannii*, могут служить литические бактериофаги.

Первичными рецепторами для значительного числа типов бактериофагов, лизирующих клетки патогенов группы ESKAPE, являются бактериальные экзополисахариды, а именно капсульные полисахариды и/или

О-антиген поверхностные полисахариды. На данный момент установлено, что патогены группы ESKAPE характеризуются широким разнообразием структур экзополисахаридов, что обусловлено высокой вариабельностью генетических кластеров, ответственных за их синтез. Понимание молекулярных основ фаговой инфекции, а также биологии бактериофагов, инфицирующих экстремально лекарственно устойчивые штаммы основных бактериальных патогенов, позволяет рационализировать подбор терапевтических бактериофагов и оптимизировать методы антимикробной химиотерапии.

В связи с вышесказанным, актуальность избранной темы и цель - создание коллекции исчерпывающе охарактеризованных литических бактериофагов семейства *Autographiviridae*, специфически инфицирующих штаммы *A. baumannii* различных капсульных типов., не вызывает никаких сомнений. Автор поставил перед собой решение большого количества задач, требующих от исполнителя не только понимания логики проводимой работы, но и высокого уровня владения современными методами молекулярной биологии.

Научно-квалификационная работа О.Ю.Тимошиной построена по традиционному плану, включает «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 научных публикаций, в том числе на публикации последних лет.

В работе соблюдено внутреннее единство. Глава «Обзор литературы» (50 стр.) полностью соответствует теме работы и предоставляет все необходимые для понимания работы сведения. Тема обзора соответствует основным вопросам, поставленным в работе. В главах «Материалы» и «Методы» (12 стр.) подробно изложены все данные, необходимые для повторения описанных экспериментов.

Для получения результатов в работе использованы современные высокотехнологичные методы вирусологии, молекулярной биологии и биохимии.

В соответствующей главе представлена вся необходимая информация с достаточной степенью подробности. Общий методический уровень работы высок, статистическая обработка данных выполнена корректно.

В разделе «Результаты и обсуждение» (20 стр.) присутствует достаточное количество рисунков, значительно облегчающих понимание излагаемого автором материала. Глава содержит большой объем экспериментальных данных. Описание полученных результатов логически обоснованное и поэтапное. Разработка новых стратегий терапии инфекций, вызванных мультирезистентными бактериальными патогенами, является одной из приоритетных задач здравоохранения. Одним из возможных решений этой задачи может быть использование литических бактериофагов против проблемных возбудителей. Важной характеристикой фагов-кандидатов для включения в препараты для фаготерапии является диапазон штаммов-хозяев - способность фага проявлять литическую активность в отношении различных, клинически значимых штаммов патогена. Данная работа посвящена бактериофагам, инфицирующим *A. baumannii*. Принимая во внимание тот факт, что в большинстве известных случаев первичными рецепторами для фагов *A. baumannii* являются капсульные полисахариды, логично предположить, что рациональный подбор литических бактериофагов для включения в препараты для фаготерапии должен быть основан на понимании механизмов взаимодействия фаговых ферментов с экзополисахаридами, продуцируемыми штаммами *A. baumannii*. Высокое разнообразие и изменчивость структур капсульных полисахаридов штаммов *A. baumannii* подразумевают существование такого же разнообразия фаговых ферментов, способных специфически распознавать и расщеплять различные связи в структуре капсульных полисахаридов.

Выводы работы отражают полученные результаты и не вызывают сомнений в своей достоверности. Автор проводит детальный анализ всех полученных результатов. Претензия лишь к формулировке некоторых выводов, например, 1 и 2: «В ходе представленной работы была сформирована

коллекция из девяти ранее не известных литических бактериофагов, специфически инфицирующих штаммы *A. baumannii* капсульных типов К09, К14, К16, К37/К3-v1, К26, К86, К127 и К128. Выделенные фаги, за исключением бактериофага Aristophanes, получили названия в соответствие с номером капсульного типа штамма-хозяина».

«Изучены биологические и молекулярно-генетические характеристики выделенных бактериофагов. На основе биоинформатического анализа показано, что бактериофаги АРК09, АРК14, АРК16, АРК37.1, АРК26, АРК86, АРК127v и АРК128 являются представителями рода *Friunavirus*, а фаг Aristophanes - первым представителем ранее неопisanного рода вирусов внутри подсемейства *Beijerinckvirinae*». Полагаю, что лучше было бы сформулировать таким образом, чтобы это выглядело как получение нового знания, а не отчет о проделанной работе. К примеру: «Девять, ранее не известных литических бактериофагов, специфически инфицирующих штаммы *A. baumannii* капсульных типов К09, К14, К16, К37/К3-v1, К26, К86, К127 и К128 получили названия в соответствие с номером капсульного типа штамма-хозяина». «Показано, что бактериофаги АРК09, АРК14, АРК16, АРК37.1, АРК26, АРК86, АРК127v и АРК128 являются представителями рода *Friunavirus*, а фаг Aristophanes - первым представителем ранее неопisanного рода вирусов внутри подсемейства *Beijerinckvirinae*».

Автор решил все поставленные перед ним задачи. Основная часть работы выполнена лично автором на высоком научном и методическом уровне. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений, выводы и рекомендации логично вытекают из полученных данных. Результаты работы не дают усомниться в обоснованности научных положений, сформулированных в диссертации и их достоверности и новизне. По результатам данной работы было выделено из объектов окружающей среды 9 бактериофагов, инфицирующих штаммы *A. baumannii* восьми различных капсульных типов. По результатам биоинформатического анализа геномов все выделенные фаги принадлежали к семейству *Autographiviridae*, при этом

восемь из них – к роду *Friunavirus*, и один - являлся первым представителем ранее неопisanного рода вирусов внутри подсемейства *Beijerinckvirinae*. Геномы бактериофагов АРК09, АРК14, АРК16, АРК37.1, АРК26, АРК86, АРК127v и АРК128 демонстрировали высокую степень сходства с геномами ранее выделенных фриунавирусов, инфицирующих *A. baumannii*. Учитывая высокую специфичность выделенных бактериофагов рода *Friunavirus* по отношению к штаммам *A. baumannii* различных капсульных типов, а также их высокую литическую активность, можно сделать вывод о том, что исследуемые фаги могут быть включены в коллекцию вирусов для возможной фаготерапии.) Выделенные в ходе проведенных исследований бактериофаги АРК09, АРК14, АРК16, АРК37.1, АРК26, АРК86, АРК127 и АРК128 высоко специфичны в отношении штаммов *A. baumannii* капсульных типов К09, К14, К16, К37/К3-v1, К26, К86, К127 и К128, соответственно. Впервые показано использование механизма О-деацетилирования капсульного полисахарида бактериофагом, специфически инфицирующим *A. baumannii*.

По материалам научно-квалификационной работы опубликовано 7 статей и 2 докладана научных конференциях.

Диссертационная работа Тимошиной Ольги Юрьевны «Бактериофаги *Acinetobacter baumannii* семейства *Autographiviridae*: ферментативное взаимодействие с полисахаридами», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология, 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 ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 - Молекулярная биология.

Официальный оппонент:

Заведующий лабораторией молекулярной генетики института вирусологии им. Д.И. Ивановского Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор биологических наук


Прилипов Алексей Геннадьевич

«11» сентября 2023 г.

Контактная информация:

Тел. 8 (499) 190-28-74

Email: a_prilipov@mail.ru

Адрес организации: 123098, г. Москва, ул.Гамалеи, д.16,

Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Подпись заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи»

Минздрава России,

Кандидат биологических наук



Кожевникова Людмила Кондратьевна