

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию Еникеева Радмира на тему: «Антибиотикорезистентность
бактерий рода *Bacillus*, выделенных из Международной космической
станции и больничной лаборатории», представленную к защите на
соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.11. Микробиология

Актуальность темы исследования

Антибиотикорезистентные штаммы патогенных бактерий впервые были описаны практически одновременно с открытием пенициллина. За последующие десятилетия частота встречаемости антибиотикорезистентных форм патогенов нарастала и в настоящее время приняла критическое значение. По прогнозу Всемирной организации здравоохранения к середине XXI века смертность от инфекций будет сопоставима со смертностью от онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний. В связи с этим исследование механизмов антибиотикорезистентности является актуальной задачей. Конкретно, диссертационная работа Еникеева Р. посвящена изучению антибиотикорезистентности бактерий рода *Bacillus*, выделенных из асептических помещений двух типов: 1. лабораторной комнаты для отбора проб крови в больнице; 2. Российского сегмента Международной космической станции (РС МКС). Актуальность темы представленного к защите исследования не вызывает сомнений.

Степень обоснованности положений и научных выводов, выносимых на защиту

Основные положения и выводы диссертационной работы сделаны по результатам экспериментов с применением методов микробиологии, генетики и молекулярной биологии. Работа выполнена с использованием современного научного оборудования и высококачественных реактивов. Полученные результаты математически обработаны и не вызывают сомнений. В связи с этим достоверность положений и научных выводов является обоснованной.

Научная новизна и значимость исследования

Создана коллекция из 26 штаммов бацилл семи видов – *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. safensis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. pumilus*, *B. licheniformis*, *B. paralicheniformis*, выделенных из Российского сегмента Международной космической станции, и 5 штаммов из больничной лаборатории (*B. cereus*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*). Антибиотикорезистентность показана в общей сложности к 18 из 19 антибиотиков медицинского назначения, определены механизмы и гены антибиотикорезистентности. Впервые обнаружена антибиотикорезистентность бацилл к 9 антибиотикам медицинского назначения, рекомендованным EUCAST 2021-2023 для подавления роста бацилл. Полученные результаты имеют большое значение, как для фундаментальной науки, так и для практической медицины, подчеркивая значимость определения антибиотикорезистентности и способствуя коррекции антимикробной терапии.

Структура и основное содержание диссертационной работы

Диссертационная работа изложена на 150 страницах и имеет традиционную структуру, включающую следующие разделы: оглавление, введение, обзор литературы из 4 глав, материалы и методы исследований, результаты исследований и их обсуждение, заключение, выводы, список сокращений и список литературы. Диссертация содержит 22 иллюстрации и 17 таблиц. Список литературы включает 245 источников.

Во введении сформулирована цель исследования и поставленные задачи, отмечена новизна полученных результатов, теоретическая и практическая значимость исследования, а также выносимые на защиту положения.

Обзор литературы полностью соответствует цели и задачам исследования. В первых двух главах всесторонне изложено современное состояние изучения микробных сообществ в условиях космических полетов, а также приводится информация по асептическим помещениям больничных учреждений, соответственно. Подробно рассмотрены физические факторы на РС МКС, в том числе отсутствующие на Земле (микрогравитация и космическое

ионизирующее излучение), приводится информация по бактериям рода *Bacillus* на МКС. Микробные сообщества в больничных учреждениях и их формирование рассматриваются на разных этапах пребывания пациентов, асептика поддерживается средствами, большинство из которых не применимо на космических станциях. Третья глава посвящена проблеме антибиотикорезистентности, основным понятиям и терминам, методам определения резистентности к антибиотикам, механизмам устойчивости и ее генетическим детерминантам.

В разделе «Материалы и методы» описан большой набор современных молекулярно-биологических, микробиологических, генетических, биохимических методов, а также математической обработки результатов.

Раздел «Результаты исследований и их обсуждение» содержит две главы. Первая посвящена выделению и идентификации бацилл. Количество КОЕ в пробах из РС МКС колебалось от 0 до 2520/100 см², что намного ниже максимально допустимого предела обсемененности на МКС. В больничной лаборатории величина КОЕ варьировала от 60 до 380/100 см². Видовая принадлежность отобранных по морфологическим признакам вариантов в дальнейшем подтверждена молекулярно-генетическими методами (анализ 16S рРНК, MALDI-TOF MS, полногеномный анализ). Отобрано 26 штаммов бацилл на РС МКС и 5 в больничной лаборатории. Выделенные штаммы относятся к 7 видам бацилл: *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. safensis*, *B. pumilus*, *B. licheniformis*, *B. paralicheniformis*, *B. amyloliquefaciens*. В работу по идентификации также были включены 3 ранее выделенных штамма из образцов с РС МКС. Полногеномное секвенирование показало, что выделенные на РС МКС виды *B. pumilus* и *B. safensis*, а также *B. licheniformis* и *B. paralicheniformis* являются близкородственными видами. Помимо бацилл также были идентифицированы бактерии других таксономических групп, не вошедшие в данную диссертационную работу.

Во второй главе раздела «Результаты исследований и их обсуждение» приводится определение антибиотикорезистентности выделенных штаммов.

Это исследование было начато с применением антибиотиков пенициллина, ампициллина, меропенема, ряда производных цефалоспорины I-го (цефазолин), II-го (цефуроксим), III-го (цефтриаксон, цефоперазон, цефтазидим), IV-го (цефепим) поколений, а также аминогликозида спектиномицина. По мере продвижения диссертационной работы список антибиотиков был расширен, поскольку Европейский комитет по тестированию на чувствительность к противомикробным препаратам (EUCAST) опубликовал список из 9 антибиотиков, рекомендуемых для подавления роста бацилл: имипенем, меропенем (β -лактамы), цiproфлоксацин, левофлоксацин, норфлоксацин (фторхинолоны), ванкомицин (гликопептиды), эритромицин (макролиды), клиндамицин (линкозамиды) и линезолид (оксазолидиноны). В диссертационной работе рассматриваются механизмы антибиотикорезистентности выделенных бацилл, определенные физиологическими методами и по анализу ДНК. Результаты по механизмам устойчивости и генам устойчивости представлены в табл. 17 на стр. 119. Показаны только те гены антибиотикорезистентности, которые более чем на 90% совпадают по идентичности и по длине с последовательностями, содержащимися в Общей базе данных по устойчивости к антибиотикам (CARD). Выявлены механизмы устойчивости по типу инактивации антибиотика, изменения мишени, эффлюкса, снижения проницаемости, защиты мишени, причем у исследованных штаммов имеется от 2 до 10 разных генов антибиотикорезистентности.

Замечания

Диссертационная работа Еникеева Радмира заслуживает высокой оценки, однако есть ряд замечаний, которые не снижают этой оценки, но могут быть полезны автору в последующей работе:

1) Во введении на стр. 6: «РС МКС ... представляет собой закрытую искусственную среду в космосе с собственной экологической нишей, характеризующейся несколькими уникальными для микроорганизмов параметрами». Понятие экологической ниши относится к единственному

виду и не может быть применено к двум и более микроорганизмам (принцип конкурентного исключения). В данном случае применим термин «экосистема».

2) В тексте диссертации сокращение «S.» относится к нескольким родам микроорганизмов, а именно к *Staphylococcus*, *Streptomyces* и *Streptococcus*, «A.» к – *Aspergillus* и *Acinetobacter*, «P.» – к *Penicillium* и *Pseudomonas*. Было бы целесообразно представить список сокращенных названий микроорганизмов после списка аббревиатур, что помогло бы избежать ошибок.

3) Хотелось бы, чтобы автор проанализировал антибиотикорезистентность штаммов, выделенных из медицинской лаборатории и из РС МКС. Также было бы удобно, чтобы по обозначениям штаммов сразу можно было понять, откуда они выделены.

Заключение

Диссертационная работа Еникеева Радмира выполнена на современном методическом уровне и представляет собой масштабное исследование антибиотикорезистентности изолятов бактерий рода *Bacillus*, выделенных из двух искусственных сред обитания людей (Международной космической станции и медицинской лаборатории), в которых стремятся поддерживать асептический режим. Автореферат полностью отражает содержание диссертации. Полученные диссертантом данные не вызывают сомнений и вносят ценный вклад в современное представление специалистов о возникновении антибиотикорезистентности и ее механизмах. Установленная антибиотикорезистентность бацилл, в том числе условно-патогенного вида *B. cereus*, к антибиотикам, рекомендованным CARD для применения против бацилл, имеет важное практическое значение и подтверждает важность исследований в этом направлении, особенно для таких изолированных систем как космические станции.

Замечания и вопросы по тексту диссертации могут быть полезны для дальнейшего исследования в данном направлении и никоим образом не снижают высокой оценки представленной работы.

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.11. Микробиология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова. Диссертация оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова, а сам соискатель Еникеев Радмир, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Официальный оппонент:

кандидат биологических наук,
заведующая сектором поиска природных соединений, преодолевающих
устойчивость бактерий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по
изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе»

ЕФРЕМЕНКОВА Ольга Владимировна

16.09.2024 г.

Контактные данные: Тел. +7(916) ; e-mail: ovefr@

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:
03.00.07 – Микробиология

Адрес места работы: 119021, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 11, стр. 1
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-
исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени
Г.Ф. Гаузе» (ФГБНУ «НИИНА»)

Тел. 8(499)246-99-80; e-mail: instna@sovintel.ru

Подпись О.В. Ефременковой удостоверяю:

Ученый секретарь ФГБНУ «НИИНА»,
кандидат химических наук

О.В. Кисиль