

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

Способность микроорганизмов к образованию антибиотиков была открыта в середине прошлого века. Устойчивость к противомикробным препаратам – естественное биологическое явление, присущее многим микроорганизмам. В ходе эволюции микробами были выработаны механизмы защиты от веществ, ингибирующих их метаболизм. В настоящее время высокая природная (врожденная) устойчивость к антибиотикам выявлена у некоторых бактерий, известна также приобретенная антибиотикорезистентность, причем число видов таких бактерий, особенно среди патогенных форм, имеет тенденцию к росту. Обнаружены так называемые «супербактерии», обладающие высокой резистентностью к различным классам антибиотиков. Изучение разнообразных стратегий выживания бактерий при контакте с антибиотиками и понимание механизмов этого явления является «горячей точкой» современной микробиологии.

Особенно остро проблема опасности для человека антибиотикорезистентных бактерий стоит в асептических помещениях, наиболее значимыми из которых являются Международная космическая станция (МКС) и внутрибольничные лаборатории (БЛ). Устойчивость бактерий к антибиотикам рассматривается научным сообществом как одна из главных проблем 21-го века, в связи с чем исследование микробиома МКС и поиск путей решения проблемы устойчивости к антибиотикам патогенных бактерий является основной целью текущих и будущих исследований на орбите Земли. **В связи с вышесказанным исследование антибиотикорезистентности бактерий рода *Bacillus*, выделенных из помещений Российского сегмента Международной космической станции**

**(РС МКС) и больничных лабораторий (БЛ) являются весьма своевременными и актуальными.**

Диссертационная работа Еникеева Радмира посвящена изучению бактерий рода *Bacillus*, проведено выделение их с рабочих поверхностей РС МКС и лаборатории для отбора проб крови, их видовая идентификация, определение устойчивости к ряду клинически значимых антибиотиков, а также выявление возможных механизмов и генетических детерминант резистентности. В процессе работы диссертантом были выявлены доминирующие на поверхностях оборудования РС МКС и БЛ виды бактерий рода *Bacillus*, получены чистые культуры бактерий, проведена видовая идентификация на основании анализа гена 16S р РНК, метода MALDI-TOF и полногеномного секвенирования. Создана и поддерживается коллекция штаммов бактерий рода *Bacillus*, выделенных из проб РС МКС и БЛ. Исследована устойчивость штаммов бактерий рода *Bacillus* к 19 клинически значимым антибиотикам, в том числе к 9 антибиотикам (имипенему, меропенему, ципрофлоксацину, левофлоксацину, норфлоксацину, ванкомицину, эритромицину, клиндамицину, линезолиду), рекомендованным Европейским комитетом по тестированию на чувствительность к противомикробным препаратам (EUCAST, 2021-2023). Определены возможные механизмы устойчивости к антибиотикам и выявлены генетические детерминанты резистентности на основе полногеномного секвенирования резистентных штаммов.

Работа Еникеева Радмира построена по традиционному плану, изложена на 150 страницах текста и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части и обсуждения результатов, заключения и выводов, списка сокращения и списка литературы, включающего 245 зарубежных и 7 отечественных источников, содержит 17 таблиц и 22 рисунка.

Обзор литературы состоит из 5 глав, в главе I приводится характеристика микробного сообщества Международной Космической Станции (МКС), а также факторов космического полета, оказывающих

влияние на существование бактерий на МКС. Особое внимание уделено бактериям рода *Bacillus*. В главе II приведена подробная характеристика микробного сообщества больничных помещений. Глава III посвящена устойчивости бактерий к антибиотикам, описанию основных методов определения резистентности, классификации стратегий выживания бактерий при воздействии на них антибиотиками и механизмам резистентности. В главе IV проанализированы молекулярно-биологические аспекты резистентности бацилл к антибиотикам – гены, кодирующие механизмы эффлюкса, а также модификацию и защиту мишени действия антибиотиков. В главе V детально изложены сведения о классических и современных методах микробиологии, примененных автором при выполнении диссертационной работы.

Следующий раздел работы посвящен описанию методов исследования, полученным результатам и их детальному обсуждению. Создана коллекция из 31 штамма бактерий рода *Bacillus*, выделенных с поверхности оборудования РС МКС и БЛ, проведена видовая идентификация на основании изучения морфологических, культуральных, физиолого-биохимических признаков, анализа гена 16S рРНК, методами MALDI-TOF и полногеномного секвенирования. Полученные результаты свидетельствуют о том, что на поверхности оборудования помещений (РС МКС и БЛ), доминируют штаммы, принадлежащие к следующим видам рода *Bacillus* – *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. safensis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. pumilus*, *B. licheniformis*, *B. paralicheniformis*. Изучена резистентность бацилл к 19 клинически значимым антибиотикам. Установлена устойчивость выделенных штаммов к 18 из 19 исследованных антибиотиков. **Впервые определена резистентность бацилл к 9 антибиотикам, рекомендованным EUCAST 2021-2023 для подавления роста бацилл и достоверно показано, что многие штаммы бацилл, выделенные с РС МКС и БЛ, в том числе условно-патогенные штаммы вида *B. cereus* (LR2HG21, HSA01, HSA03, HSA12), обладают множественной лекарственной устойчивостью к структурно и**

**функционально не родственным антибиотикам ( $\beta$ -лактамы, фторхинолоны, оксазолидиноны, аминогликозиды).**

Установлено, что резистентность штаммов *B. cereus* (LR2HG21, HSA01, HSA03, HSA12) и *B. safensis* SE192 к широкому спектру антибиотиков обеспечивает система эффлюкс-насосов, функционирующих за счет электрохимического потенциала клеточной мембраны и генов, кодирующих  $\beta$ -лактамазы и аминогликозид-фосфотрансферазу.

Достоверно показано, что резистентность к эритромицину и клиндамицину штаммов *B. paralicheniformis*, *B. cereus* и *B. subtilis* обеспечивает ген *ermD*, кодирующий эритромицин-резистентную метилазу, а также гены, кодирующие макролидные фосфотрансферазы. **Результаты исследований механизмов антибиотикорезистентности бацилл на молекулярно-генетическом уровне обуславливают высокую теоретическую значимость работы.**

Результаты определения резистентности штаммов бацилл, выделенных с поверхности оборудования РС МКС и больничной лаборатории, к 19 клинически значимым антибиотикам, в том числе 9 антибиотикам, рекомендованным EUCAST в качестве препаратов для подавления роста бацилл (EUCAST 2021-2023), **позволяет рекомендовать эти антибиотики для лечения возможных вспышек инфекций, вызываемых штаммами бацилл на борту РС МКС, что определяет высокую практическую значимость работы.**

Обнаружение на борту РС МКС и БЛ штаммов бацилл, обладающих высокой устойчивостью в отношении многих антибиотиков, а также установление множественной лекарственной устойчивости **свидетельствует о необходимости постоянного мониторинга асептических помещений, особенно РС МКС, с целью своевременного предупреждения потенциальных рисков для здоровья экипажа МКС в условиях длительного космического полета.**

**Положения, выносимые на защиту, обоснованы значительным количеством экспериментальных данных и применением современных методов исследования.** Научные выводы и рекомендации не вызывают сомнения. **Полученные данные новы, приоритетны и представляют значительную практическую ценность.** Объем использованного материала и применение современных методов исследования производят благоприятное впечатление о работе. Поставленные автором задачи выполнены, что позволило прийти к обоснованным выводам. Следует отметить, что работа написана хорошим литературным языком, легко и с интересом читается, прекрасно иллюстрирована, что облегчает восприятие обзора литературы и полученных результатов.

Имеется несколько замечаний к работе, которые отражают интерес оппонента к проделанной работе. В ходе ознакомления с работой возникли следующие вопросы:

1. В каком регионе (БЛ), когда и кем проводился отбор проб, не могло ли это оказать влияние на разнообразие и состав бактериального комплекса?
2. Можно ли сделать вывод о различиях таксономического разнообразия культивируемого бактериального комплекса МКС и БЛ, резистентности и механизмах устойчивости штаммов бацилл, обитающих в РС МКС и БЛ?
3. Какие антибиотики из исследованных автором работы входят в число антибиотиков «резерва»? Какие из исследованных антибиотиков могли бы быть предложены автором работы для использования при возникновении внутрибольничных инфекций?
4. Могут ли быть отнесены некоторые штаммы бацилл (*B. cereus*, *B. paralicheniformis*), характеризующиеся высокой антибиотикорезистентностью, к «супербактериям»?

Сформулированные вопросы не снижают общей высокой оценки работы диссертационного исследования. Автореферат полностью отражает содержание диссертации. 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 совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Еникеев Радмир заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Официальный оппонент:  
доктор биологических наук, доцент  
профессор кафедры биологии почв  
факультета почвоведения ФГБОУ ВО «Московский государственный  
университет имени М.В.Ломоносова»

ЛЫСАК Людмила Вячеславовна

12.09.2024 г.

Контактные данные: тел.: 8(495)939-22-17; e-mail: lvlysak@  
Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:  
03.02.03 – Микробиология

Адрес места работы: 119234, г. Москва, ул. Ленинские горы, д. 1, стр. 12,  
ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени  
М.В.Ломоносова», факультет почвоведения  
Тел.: +7(495)9392947; e-mail: [main@soil.msu.ru](mailto:main@soil.msu.ru)

Подпись профессора кафедры биологии почв  
факультета почвоведения ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени  
М.В.Ломоносова» Л.В. Лысак удостоверяю:

Ученый секретарь факультета почвоведения

Ю.А. Микулина