

## Отзыв официального оппонента

доктора медицинских наук, профессора Виктора Николаевича Царева

на диссертационную работу Рогачевой Елизаветы Владимировны

«Антибактериальные свойства новых химических соединений природного и синтетического происхождения в отношении бактерий группы ESKAPE»,

представленную на соискание степени кандидата биологических наук

по специальности 1.5.11 Микробиология

### Актуальность избранной темы

В последние годы пандемия устойчивости к антибиотикам усилилась вследствие повсеместного использования антибиотиков при терапии пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19. Группой исследователей выявлено, что в 2019 г. было зарегистрировано 4,95 млн смертей, связанных с устойчивостью к антибактериальным препаратам. При этом шесть возбудителей стали причинами более чем 250 000 смертей, связанных с устойчивостью к антибиотикам: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*. Распространение резистентных к антибиотикам штаммов наблюдается повсеместно.

По данным AMRmap – Российской онлайн платформы анализа данных резистентности к антимикробным препаратам, бактерии группы ESKAPE входят в пятерку самых распространенных возбудителей нозокомиальных инфекций в России, Северо-Западном регионе России и Санкт-Петербурге. А резистентность российских штаммов бактерий группы ESKAPE является одной из самых высоких в мире. По данным постоянно обновляемого регистра CDDEP – американского центра по слежению за динамикой заболеваемости, по этому показателю Россия входит в тройку «лидеров» наряду с Индией и странами Южной Африки.

Наибольшую обеспокоенность вызывает распространение в Российской Федерации штаммов *A. baumannii* и *K. pneumoniae*. При осложненных формах COVID-19 в 30-50% случаев у пациентов, находящихся в отделениях интенсивной терапии, выделяются штаммы *K. pneumoniae* с множественной лекарственной устойчивостью, которые практически не поддаются лечению. Наиболее часто для лечения инфекции, обусловленной *K. pneumoniae*, используют карбапенемы, в частности – антибиотик меропенем. Однако в последнее время штаммы *K. pneumoniae* все чаще приобретают устойчивость

и к этой группе препаратов. В таких случаях приходится прибегать к использованию альтернативных существующим антибиотикам и дезинфектантам препаратам.

В 2019 году CDC опубликовал доклад, в котором говорится, что мы вступили в пост-антибиотическую эру, когда антибиотики перестанут действовать на те бактерии, с которыми здравоохранение успешно справлялось не один десяток лет. Из этого становится понятно, что в настоящее время не существует систематического международного наблюдения за антимикробной резистентностью, но имеющиеся отчеты указывают на то, что в Соединенных Штатах ежегодно происходит более 2 миллионов случаев инфицирования нозокомиальными патогенами (в том числе 29 000 с летальным исходом), с расходами на медицинское обслуживание более 4,7 миллиарда долларов. В Европе более 33 000 смертей и 874 000 случаев с инвалидизирующими последствиями ежегодно связаны с инфицированием нозокомиальными инфекциями, приобретенными в стационарах и амбулаторных отделениях медицинских учреждений. При этом затраты на лечение нозокомиальных инфекций в Европе составляют 1,5 миллиарда долларов прямых и косвенных затрат.

В связи с этим необходимо выработать подходы к систематическому созданию эффективных противомикробных препаратов, а выбранная тема исследования «Антибактериальные свойства новых химических соединений природного и синтетического происхождения в отношении бактерий группы ESKAPE» является весьма актуальной и своевременной. Целью исследования стало изучение антибактериальных свойств новых синтезированных химических соединений природного и синтетического происхождения в отношении бактерий группы ESKAPE. В соответствии с поставленной целью были сформулированы четыре задачи исследования, которые были успешно решены в ходе выполнения диссертационной работы, что нашло отражение в соответствующих выводах.

#### Достоверность и новизна полученных результатов.

Достоверность полученных результатов, выводов и положений не вызывает сомнений и подтверждается достаточным количеством исследуемого материала, использованием современных методов исследования. Все полученные автором результаты статистически обработаны с помощью современных компьютерных программ, выбор метода обработки соответствовал объему и формату проведенных исследований. Положения и выводы основаны на достоверных статистических данных.

## Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Положения и выводы диссертационной работы обоснованы полностью раскрытой целью научного исследования и выполненными задачами, поставленными для ее достижения. Для корректной постановки цели исследования автором диссертационной работы проанализирован достаточный объем источников литературы (8 отечественных и 232 зарубежных источников). Все данные, полученные в ходе выполнения задач исследования, подвергнуты глубокому теоретическому анализу с учетом уже имеющихся знаний в сфере научных интересов автора. Положения, выносимые на защиту, и полученные выводы имеют логическое подтверждение в тексте и хорошо иллюстрированы таблицами и рисунками. Каждое положение и вывод имеют смысловое и фактическое обоснование и логично связаны между собой единой целью исследования.

Практические рекомендации лаконично и четко прописаны в соответствующем разделе работы, выполнимы и могут быть использованы специалистами учреждений различного профиля: научного и лечебно-профилактического.

### Ценность для науки и практики результатов работы:

- на основе полученных данных определен механизм антибактериального действия успешных синтезированных соединений, что позволит конструировать улучшенные образцы для борьбы с возбудителями нозокомиальных инфекций;
- в опытах *in vitro* и *in vivo* определены действующие концентрации соединений-лидеров, которые смогут быть переданы для следующего этапа доклинических испытаний;
- методика и программа исследований может быть использована для оценки других разрабатываемых групп соединений антибактериального назначения;
- создана рабочая коллекция штаммов бактерий группы ESKAPE (120 шт.), охарактеризованная по их отношению к антибиотикам выбора для этиотропной терапии инфекционного процесса, вызванного каждым представителем группы;
- созданы и зарегистрированы базы данных: База данных резистентных к антибиотикам фенотипов бактерий группы ESKAPE (№2021621695), База данных чувствительных к антибиотикам фенотипов бактерий группы ESKAPE (№ 2021 622085), База данных

фенотипа чувствительности к антибиотикам и бактериофагам и генотипа антибиотикорезистентности штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных при нозокомиальных инфекциях (№ 2023621897), База данных генотипа и фенотипа вирулентности и антибиотикорезистентности штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных от больных COVID-19 (№ 2023621900);

- разработан дизайн исследования антибактериальных свойств соединений растительной, минеральной природы и искусственно синтезированных, который может быть использован для оценки других разрабатываемых групп соединений антибактериального назначения;
- полученные данные используются в процессе преподавания биологии, микробиологии и фармакологии в соответствующих высших учебных заведениях, на курсах повышения квалификации врачей, при проведении научно-практических семинаров.

#### Оценка содержания диссертации, ее завершенность.

Материалы диссертационной работы изложены на 156 страницах печатного текста. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, четырех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений, списка литературы из 240 источников, приложений.

В разделе «Введение» обосновывается актуальность проблемы, раскрываются цели и задачи исследования, обозначается научная новизна, теоретическая и практическая значимость, перечисляются материалы и методы исследования, формулируются тезисы, подлежащие защите, подтверждается достоверность исследования и представляется информация о проверке результатов исследования.

В первой главе автор проводит обзор отечественных и зарубежных исследований по представленной проблематике, включающий распространенность бактерий группы ESKAPE с множественной лекарственной устойчивостью, а также оценку их резистентности к антимикробным препаратам. Освещается влияние пандемии новой коронавирусной инфекции на усугубление данной проблематики, проводится оценка частоты инфицирования нозокомиальными патогенами, а также размеров экономического ущерба в разных странах, включая Российскую Федерацию. Дается обширная характеристика исследуемых соединений с

антибактериальной активностью: представлены как успехи, так и неудачи их использования.

Во второй главе представлены материалы, методы и объем проведенных исследований (всего 5 154 исследования). Автор провел работу со 120 бактериальными изолятами, выделенными из биологического материала амбулаторных и стационарных пациентов, а также изучил на предмет антибактериальной активности 250 соединений из 20 групп различного происхождения (природные, минеральные, синтетические) в 1572 экспериментах, 18 из которых являлись соединениями-лидерами и были отобраны для дальнейшей оптимизации, 1 вещество рекомендовано автором для исследований *in vivo* на биологических моделях.

В третьей главе описано изучение штаммов бактерий группы ESKAPE к антибактериальным препаратам. В результате исследования чувствительности бактерий к антибиотикам все изоляты были разделены на 2 группы: 1) проявили чувствительность не менее, чем к 80% антибиотикам (чувствительные) и 2) имели устойчивость к 91% препаратов и более (резистентные). Обе группы были охарактеризованы и представлены в виде Баз данных Чувствительных штаммов и Резистентных по 60 представителей в каждой. В ходе исследования автор соотнес генетические маркеры и фенотипические характеристики резистентности бактерий к антибиотикам. Из полученных данных видно, что штаммы *K. pneumoniae* и *S. aureus* обладали большим набором генов антибиотикорезистентности и проявляли ее в фенотипических тестах, что подтверждает необходимость поиска альтернативных соединений для борьбы с резистентными штаммами.

В четвертой главе дана детальная характеристика каждого антибактериального вещества из группы растительных, минеральных и синтетических соединений. В ходе исследования нановолокон куркумина созданы предпосылки для разработки высокоэффективных антибиотиков на основе природных БАВ, имеющих минимальные побочные эффекты. Крайне интресным оказался материал с комбинацией покрытий  $TiO_2$  и Ag, имеющий большие перспективы для предотвращения бактериальной адгезии и образования биопленки, которая может стать причиной инфекции, связанной с ортопедическими имплантатами после операции. Представлен антибактериальный механизм сплава Cu-Zn, который может быть изменен путем сонохимической обработки с образованием фракций. Среди синтетических веществ исследовано 7 групп соединений, получены значимые результаты в отношении новых производных цiproфлоксацин, азириновой кислоты и пиперидинов с уреанами. Установлено, что синтезированная группа соединений сульфонамидов проявляет синергизм с меропенемом, восстановлена чувствительность штаммов, относящихся к

наиболее актуальным видам возбудителей нозокомиальных инфекций: *K. pneumoniae* и *A. baumannii*.

В пятой главе описано изучение антибактериального действия вещества-лидера *in vivo* в опытах на белых мышах. Доказана эффективность применяемого соединения (3-фенил-2Н-азиридин-2-карбоновой кислоты) при лечении раневой инфекции, обусловленной штаммом *K. pneumoniae*.

Работа завершается заключением и 4-мя выводами, которые логически вытекают из результатов собственных исследований и обобщают весь объем информации. В заключении отражены перспективы дальнейших исследований и практические рекомендации.

По материалам диссертационной работы опубликовано 24 научных работы, из них 2 статьи – в научных рецензируемых изданиях, рекомендуемых ВАК, 22 – в изданиях, входящих в библиографические базы данных Scopus и Web of Science.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации.  
Автореферат полностью соответствует основному содержанию диссертации.

Диссертация и автореферат Елизаветы Владимировны соответствует всем правилам написания и оформления соответствующих научных работ, установленным в нормативных документах.

#### Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации.

Автором исследования достигнута цель – изучены антибактериальные свойства новых синтезированных химических соединений природного и синтетического происхождения в отношении бактерий группы ESKAPE. Диссертация написана корректным научным языком, текст логично и грамотно изложен, снабжен необходимыми табличными данными и рисунками.

Недостатки в содержании и оформлении диссертации не выявлены.

#### Вопросы для дискуссии :

1. Почему именно этот препарат (3-фенил-2Н-азиридин-2-карбоновой кислоты) из 250 исследованных в Вашей работе, избран для лабораторной оценки на животных как кандидатный для дальнейшего внедрения в практику?
2. Меня, как представителя анаэробной микробиологии, интересует какие из

препаратов Вы считаете перспективными для лечения анаэробной инфекции и почему?.

3. Существенное значение для ортопедии и травматологии, несомненно, имеет исследование покрытий для имплантатов с использованием диоксида титана и

серебра. Используемая вами методика основана на оценке процесса адгезии микробов, а как Вы стандартизировали эксперименты?

## Заключение:

Диссертационное исследование Рогачевой Елизаветы Владимировны «Антибактериальные свойства новых химических соединений природного и синтетического происхождения в отношении бактерий группы ESKAPE» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение научной задачи поиска и изучения новых антибактериальных препаратов, имеющей существенное значение для микробиологии (биологические науки). Работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, согласно п. 2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов», утвержденного ученым советом РУДН протокол № УС-1 от 22.01.2024 г., а её автор, Рогачева Елизавета Владимировна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 Микробиология.

Официальный оппонент,  
Заслуженный деятель науки Российской Федерации  
заведующий кафедрой  
микробиологии, вирусологии, иммунологии  
ФГБОУ ВО «Российский университет медицины»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
доктор медицинских наук, профессор,  
03.00.07 – микробиология



Царев Виктор Николаевич

23 апреля 2024 г.

Подпись Царева В. Н. заверяю

Учёный секретарь совета

Заслуженный работник высшей школы Российской Федерации,

доктор медицинских наук, профессор

Васюк Юрий Александрович

127006, г. Москва, ул. Долгоруковская, 4

Тел.: +7 (495) 609-67-00

E-mail: [msmsu@msmsu.ru](mailto:msmsu@msmsu.ru)

Site: <https://rosunimed.ru>

