

ОТЗЫВ

официального оппонента, кандидата медицинских наук, старшего научного сотрудника, ведущего научного сотрудника отдела бактериальных инфекций, заведующего лабораторией индикации и ультраструктурного анализа микроорганизмов федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский Центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации Жуховицкого Владимира Григорьевича на диссертационную работу Маруф Разан «Изучение антибактериального действия экстрактов растений на полирезистентные уropатогенные *E. coli*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. – «Микробиология»

Актуальность темы исследования. Диссертационная работа Маруф Разан «Изучение антибактериального действия экстрактов растений на полирезистентные уropатогенные *E. coli*», выполненная на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 – Микробиология (далее – ДИССЕРТАЦИЯ), посвящена актуальной для микробиологии, эпидемиологии и урологии проблеме диагностики, лечения и профилактики инфекции мочевыводящих путей. Актуальность избранной автором ДИССЕРТАЦИИ темы исследования не оставляет сомнений, поскольку неуклонный рост приобретённой резистентности бактерий к традиционным антибактериальным средствам констатируется во всех регионах мира, что требует разработки терапевтических подходов, альтернативных классическим, опирающимся на применение традиционных схем антибиотикотерапии. Наиболее частой причиной инфекционных поражений мочевыводящих путей является уropатогенная *Escherichia coli* (УПЭК), обладающая широким спектром факторов патогенности, позволяющим вызывать заболевания различной степени тяжести – от цистита до пиелонефрита, осложняющегося бактеремией и сепсисом. Помимо разнообразных факторов патогенности, УПЭК зачастую характеризуются множественной приобретённой антибиотикорезистентностью, что существенно ограничивает возможности терапевтического вмешательства.

Таким образом, диссертационное исследование Маруф Разан является весьма актуальным и своевременным, а поставленные автором задачи исследования в полной мере раскрывают цель диссертационной работы.

Степень разработанности темы исследования охарактеризована исчерпывающе, что дополнительно подчёркивает её актуальность. Таким образом, избранная автором ДИССЕРТАЦИИ тема является актуальным направлением

исследования, способствующим более глубокому пониманию проблемы уроинфекции, сохраняющей высокую значимость для научной медицины и практического здравоохранения.

Достоверность и новизна результатов диссертации. Научная новизна результатов исследования, положенного в основу ДИССЕРТАЦИИ, вполне очевидна: впервые охарактеризован антибактериальный эффект экстрактов некоторых растений на полирезистентные УПЭК, изучен синергический антибактериальный эффект растительных экстрактов в сочетании друг с другом и с антибактериальными средствами, охарактеризована антибактериальная активность наночастиц серебра, полученных из гвоздики, заатара, крапивы, лимонной вербены и зелёного чая относительно штаммов УПЭК, продемонстрирована возможность использования личинок *Galleria mellonella* для оценки токсичности экстрактов растений и патогенности УПЭК *in vivo*.

Цель исследования сформулирована достаточно строго и соответствует формулировке названия ДИССЕРТАЦИИ, требующего, однако, некоторой корректировки.

Формулировка 6-ти задач исследования отличается точностью и лаконичностью, хотя в отдельных случаях требует уточнения.

Методология диссертационного исследования опирается на комплексное применение микробиологического, микроскопического и биотехнологического методов.

Представленные в ДИССЕРТАЦИИ результаты, полученные в процессе изучения обширного экспериментального материала посредством современной методологии исследования, соответствующей уровню заявленной цели и масштабу поставленных задач, могут быть охарактеризованы как достоверные, обосновывающие вытекающие из их совокупности выводы. Достоверность полученных результатов, выводов и положений не вызывает сомнений и подтверждается достаточным количеством исследуемого материала, использованием современных методов исследования. Все полученные автором результаты обработаны с помощью адекватных статистик с применением современных компьютерных программ, выбор метода статистической обработки соответствует объему и формату проведенных исследований.

Основные положения ДИССЕРТАЦИИ, выносимые на защиту, в концентрированной форме отражают наиболее важные в смысловом отношении аспекты выполненного автором диссертационного исследования.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Основные научные положения и выводы

ДИССЕРТАЦИИ обоснованно отражают полное раскрытие цели диссертационного исследования и исчерпывающее выполнение задач, поставленных для её достижения. Автор ДИССЕРТАЦИИ проанализирован представительный объём источников литературы (5 российских и 246 зарубежных источников). Экспериментальные данные, полученные в ходе выполнения задач исследования, подвергнуты глубокому теоретическому анализу с учетом имеющегося уровня знаний в области тематики исследования. Сформулированные автором выводы имеют смысловое и фактическое обоснование, логическое подтверждение в тексте и связь между собой единой целью исследования. Значительная часть полученных автором результатов представлена в табличной форме и иллюстрирована рисунками.

Практические рекомендации принципиально выполнимы и могут быть использованы специалистами научных и лечебно-профилактических учреждений различного профиля.

Ценность для науки и практики результатов диссертационной работы. Полученные автором ДИССЕРТАЦИИ результаты расширяют возможности использования известных лекарственных растений в терапии инфекций мочевыводящих путей - в том числе, в рамках комбинированной терапии, опирающейся на обнаруженный автором синергизм друг с другом между экстрактами различных растений, а также между экстрактами различных растений и антибактериальными средствами. Кроме того, приведенные в ДИССЕРТАЦИИ результаты открывают перспективу и предлагают методическое обоснование разработки новых лекарственных средств и конструирования лекарственных композиций на растительной основе. Помимо несомненной практической значимости, результаты ДИССЕРТАЦИИ имеют и научную ценность: автором показано, что антибактериальная активность экстракта сумаха связана отчасти и с его антиадгезивной активностью – подобное наблюдение расширяет существующие представления о биологических механизмах антимикробного действия.

Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати. Основные результаты ДИССЕРТАЦИИ опубликованы в 7 научных работ, 2 из которых – в изданиях, рекомендованных ВАК РФ и РУДН, 4 статьи – в журналах из перечня международной базы цитирования (WoS и Scopus), и 1 – в материалах конференции с международным участием (2023 г.).

Личный вклад соискателя в исследование. В ходе выполнения диссертационной работы автором был проведен анализ отечественной и

зарубежной литературы по теме исследования. В соответствии с целью и задачами исследования автором был разработан дизайн исследования, его протоколы и методики исследования. Автором самостоятельно был осуществлен сбор, интерпретация и статистическая обработка полученных данных, сформулированы выводы и разработаны практические рекомендации. На основе проведенного исследования автором подготовлены и опубликованы научные статьи, написан текст ДИССЕРТАЦИИ.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации. Автореферат ДИССЕРТАЦИИ объемом 24 страницы отражает основные положения ДИССЕРТАЦИИ и позволяет составить исчерпывающее представление о её содержании.

Структура и содержание диссертационной работы. ДИССЕРТАЦИЯ объемом 139 страниц, построенная по традиционному плану, включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования; описание и обсуждение результатов собственных исследований, заключение, выводы, список цитированной литературы, включающий 251 литературный источник. ДИССЕРТАЦИЯ содержит 10 таблиц и 18 рисунков, расположенных по тексту.

“Введение” содержит аргументированное обоснование актуальности темы исследования, оценку степени её разработанности, формулировку его цели и задач, авторскую оценку научной новизны и практической значимости полученных результатов, описание методологии, материалов и методов исследования.

Глава 1 “Обзор литературы” содержит критическое рассмотрение значительного по объёму массива данных доступной литературы, посвящённых различным аспектам проблемы инфекции мочевыводящих путей: клинко-бактериологическому, эпидемиологическому, лечебно-профилактическому; отдельно рассматриваются биологические свойства растений – кандидатов на использование их в качестве продуцентов субстанций, обладающих антибактериальной активностью. Несомненным достоинством “Обзора литературы” является целостное описание патогенеза инфекции мочевыводящих путей, обобщающее детальное описание отдельных факторов патогенности УПЭК. Вместе с тем, глава 1 отличается некоторой избыточностью информации, часть которой не выглядит востребованной в контексте диссертационного исследования. В целом, критически рассмотренный литературный материал находится в полном соответствии с замыслом исследования и его воплощением.

Глава 2 “Материалы и методы” содержит детальное описание использовавшихся в работе питательных сред, химических реактивов, режимов стерилизации и культивирования и проч. Вместе с тем, отсутствуют сведения о

клиническом происхождении изучавшихся штаммов УПЭК – связи их с той или иной нозологической формой уроинфекции. Кроме того, полностью отсутствует описание процедуры контроля качества экспериментов, по оценке антибиотикорезистентности. Наконец, не приводится аргументации выбора критериев CLSI перед критериями EUCAST при интерпретации результатов тестов оценки чувствительности штаммов УПЭК к антибиотикам. В целом, описание методик исследования (в том числе, неконвенциональных методик) характеризуется степенью детализации, достаточной для их воспроизведения.

Глава 3 “Результаты и обсуждение” содержит детальный анализ спектров резистентности экспериментальных штаммов УПЭК к необходимому набору антибиотиков, а также к водно-спиртовым экстрактам гвоздики, сумаха и заатара; автором выполнена оценка показателей уровня множественной устойчивости к антибиотикам этих штаммов по критерию MAR. Антибактериальная активность упомянутых водно-спиртовых экстрактов относительно штаммов УПЭК убедительно продемонстрирована автором с помощью теста микроразведений в бульоне, позволяющего оценить МИК и МБК; автором проанализировано преимущество этого теста перед тестом диффузии в агаре. Кроме того, автором изучены: антиадгезивная активность водно-спиртовых экстрактов, препятствующая агрегации штаммов УПЭК к клеткам дрожжеподобных грибов *Candida albicans* и *Saccharomyces cerevisiae*, а также к эритроцитам человека и полистиролу; способность штаммов УПЭК трансформироваться в нестабильную L-форму; влияние длительной экспозиции экстрактом сумаха на чувствительность УПЭК к антибиотикам. Чрезвычайно важным выглядит демонстрация синергического антибактериального эффекта экстрактов гвоздики и сумаха при сочетании с нитрофурантоином и цiproфлоксацином либо друг с другом по отношению к УПЭК с множественной лекарственной устойчивостью – подобное явление изучено автором посредством компьютерного моделирования. Хотя автору не удалось идентифицировать мишени антибактериального воздействия фитохимических компонентов водных экстрактов сумаха, было показано, что гибель бактериальных клеток УПЭК не связана с повреждением цитоплазматической мембраны, способной привести к утечке внутриклеточного белка и нуклеиновых кислот. Весьма впечатляющей выглядит демонстрация автором возможности использования личинок большой восковой моли *Galleria mellonella* в качестве модели для оценки токсических эффектов растительных соединений и патогенности микроорганизмов – хотя убедительного подтверждения антибактериального эффекта экстракта сумаха относительно УПЭК *in vivo* получено не было, необходимость дальнейших исследований в рамках упомянутой

модели не вызывает сомнений. Аналогичным образом выглядят результаты серии экспериментов по оценке антибактериальной активности относительно УПЭК наночастиц серебра, полученных путём “зелёного синтеза” с экстрактами гвоздики, заатара, лимонной вербены, крапивы и зелёный чай: отсутствие регистрируемого антибактериального эффекта не означает отсутствия перспективы в изучении наночастиц серебра с экстрактами растений в качестве альтернативы распространённым антибиотикам, приобретённая резистентность к которым приобретает угрожающие масштабы.

“Заключение” в компактной и, вместе с тем, исчерпывающей форме, критически рассматривает и обобщает полученные автором результаты, сопоставляя их с данными доступной специальной литературы. Итоговый фрагмент “Заключения” придаёт оттенок завершенности ДИССЕРТАЦИИ в целом.

Выводы, сделанные автором и убедительно сформулированные им в соответствующей главе, в полной мере отражают полученные результаты собственных исследований, соответствуют цели и задачам диссертационной работы и являются её логическим завершением.

Замечания по работе. Невзирая на очевидные достоинства, рассмотренные выше, ДИССЕРТАЦИЯ содержит отдельные недостатки и недочёты. Так,

- в названии ДИССЕРТАЦИИ следует использовать полное таксономическое название объекта изучения: *Escherichia coli*;
- формулировка задач исследования требует уточнения природы водно-спиртовых растительных экстрактов;
- обзор литературы содержит некоторое количество избыточной информации, не играющей существенной роли в контексте ДИССЕРТАЦИИ (структурные формулы антибиотиков, детальное описание терапевтических схем, применяющихся для лечения инфекций мочевыводящих путей). В то же время, наряду с детальным описанием сирийского сумаха и гвоздики, отсутствует описание прочих объектов исследования (заатара, лимонной вербены и др.);
- отсутствует упоминание об источниках выделения штаммов УПЭК и их связи с той или иной нозологической формой уроинфекции;
- отсутствует мотивировка выбора критериев CLSI перед критериями EUCAST при интерпретации результатов тестов оценки чувствительности штаммов УПЭК к антибиотикам;
- отсутствует описание процедуры контроля качества экспериментов по оценке антибиотикорезистентности;
- в главе “Материалы и методы” отсутствует упоминание о *Saccharomyces cerevisiae*;

- желательным выглядело бы дополнение текста ДИССЕРТАЦИИ разделами “Практические рекомендации” и “Перспективы дальнейшей разработки темы”, присутствующими в тексте автореферата;

- выводы, несомненно, вытекающие из полученных автором результатов, возможно, выглядели бы несколько убедительнее в более лаконичной форме;

- изредка встречаются отдельные неточности (251 источник литературы, но не 246, как то указано в тексте ДИССЕРТАЦИИ, и проч.) и опечатки.

Отмеченные недостатки не носят принципиального характера, не умаляют научной и практической значимости ДИССЕРТАЦИИ и не являются основанием для отказа от общей положительной оценки последней.

Таким образом, диссертационная работа Маруф Разан “Изучение антибактериального действия экстрактов растений на полирезистентные уropатогенные *E. coli*”, выполненная на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 – Микробиология под руководством кандидата биологических наук Ермолаева Андрея Владимировича, является завершённой научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение научной задачи по предотвращению развития лекарственной устойчивости уropатогенных бактерий, что имеет важное значение для научной медицины и практического здравоохранения. По актуальности, новизне и практической значимости диссертационная работа Маруф Разан соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, согласно п. 2.2. раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», утвержденного ученым советом РУДН (протокол № УС-1 от 22.01.2024 г.), а её автор, Маруф Разан, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 Микробиология.

Согласен на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» моих персональных данных (в соответствии с требованиями Приказа Минобрнауки России № 662 от 01 июля 2015 года), необходимых для работы диссертационного совета ПДС 0300.010.

Официальный оппонент:

Заведующий лабораторией индикации и ультраструктурного анализа микроорганизмов федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский Центр эпидемиологии и микробиологии имени

почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации («НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи»), ведущий научный сотрудник отдела бактериальных инфекций (123098, г. Москва, ул. Гамалеи, дом 18. Телефон: + 7 (499) 193-30-01; E-mail: info@gamaleya.org)

Кандидат медицинских наук,
старший научный сотрудник

Жуховицкий Владимир Григорьевич

31 марта 2025 года

Подпись Жуховицкого Владимира Григорьевича заверяю:

Учёный секретарь Учёного совета федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский Центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи), (123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18; сайт: <https://gamaleya.org>, тел.: + 7 (499) 193-71-71, E-mail: sysolyatina@gamaleya.org).

Кандидат биологических наук



Сысолятина Елена Владимировна

Отзыв официального оппонента Жуховицкого В.Г. дан на диссертацию Маруф Разан по теме: «Изучение антибактериального действия экстрактов растений на полирезистентные уropатогенные E. coli»

01 апреля 2025 года