

Отзыв официального оппонента

доктора биологических наук Бибиковой М.В. на диссертационную работу Ефименко Татьяны Александровны «Бактериальные продуценты антибиотиков, активных в отношении микроорганизмов с лекарственной устойчивостью», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.07 – химиотерапия и антибиотики

Актуальность проблемы

К настоящему времени, как в России, так и в других странах мира значительно повысился уровень устойчивости, прежде всего нозокоми-нальных возбудителей к антибиотикам. Антибиотики назначаются сразу при поступлении пациента в отделение интенсивной терапии. Коррекция препарата требует выделения возбудителя и проводится с определенным запаздыванием. При этом высокая резистентность нозокоми-нальных возбудителей далеко не всегда преодолевается имеющимися в клинической практике препаратами. Это явление продолжает усиливаться, что определяет необходимость выработки мер по сдерживанию антибиотикорезистентности, включая поиск и разработку новых синтезированных и природных антибиотиков с нестандартным механизмом действия. Многие ведущие институты в разных странах мира ведут исследования по поиску и разработке новых высокоактивных антибиотиков, способных ингибировать рост резистентных возбудителей. Учитывая вышесказанное, актуальность диссертационной работы Ефименко Татьяны Александровны направленной на поиск антибиотиков, активных в отношении лекарственноустойчивых возбудителей не вызывает сомнений.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов диссертационной работы

Диссертационная работа Ефименко Т.А. представлена в традиционном виде и состоит из введения, обзора литературы, описания использованных в

работе методов и материала исследований, результатов работы, обсуждения результатов, заключения, выводов и списка цитируемой литературы.

При обосновании актуальности поиска новых антибиотиков широкого спектра действия автор отмечает, что в заключении ВОЗ от 25.02.2017 подчеркивается необходимость в интенсификации работ по созданию новых антибиотиков медицинского назначения для решения проблемы антибиотикорезистентности.

Автор отмечает, что в течение многих лет основным источником новых антибиотиков являлись актиномицеты и микромицеты, выделяемые из специально собранных в различных регионах мира почвенных образцов. При этом обычно отдается предпочтение образцам, отобраным из жарких и умеренных регионов, которые обогащены микроорганизмами. Однако для поиска антибиотиков активных в отношении резистентных возбудителей требуются новые подходы, позволяющие выявлять продуценты принципиально новых соединений, среди которых повышается вероятность отбора антибиотиков, преодолевающих резистентность возбудителей к применяемым в настоящее время препаратам. Для этих целей необходимо и расширение диапазона исследованных возможных продуцентов лекарственных препаратов.

Анализ научной литературы, выполненный в представленной работе, убедительно показывает, что бактерии, которые к настоящему времени исследованы не столь широко как актиномицеты и микромицеты, также как и другие микроорганизмы способны к биосинтезу различных в химическом и антибиотическом отношении соединений.

В связи с задачей поиска новых антибиотиков, преодолевающих резистентность нозокомиальных штаммов, встает задача провести скрининг продуцентов антибиотиков среди широкого спектра бактерий, выделенных из природных источников с оценкой их способности к

продукции соединений различного спектра активности и механизма действия.

Для решения поставленной задачи автором проведено выделение бактериальных штаммов различных таксонов из ряда источников (почвы Краснодарского края, многолетнемерзлой почвы Антарктики, плодовых тел базидиальных грибов), с последующей оценкой способности штаммов продуцировать антибиотики, активные в отношении резистентных возбудителей. Автором выделено и исследовано на способность к продукции антибиотиков 329 штаммов, из которых 103 штамма, продуцировали антибиотики, активные в отношении антибиотикорезистентных тест-бактерий. Автором впервые показано, что из многолетнемерзлой почвы Антарктики можно выделить бактерии, продуцирующие антибиотики широкого спектра действия, а также показано, что в плодовых телах базидиомицетов обитают различные бактерии, способные продуцировать антибиотики, активные в отношении резистентных патогенных бактерий.

Проведенные исследования позволили автору создать коллекцию природных бактериальных штаммов, продуцирующих антибиотики, активные в отношении резистентных патогенных бактерий.

Представляет большой интерес, что из почвенных образцов Краснодарского края автором отобраны 4 штамма *Bacillus pumilus*, проявляющие высокую активность в отношении чувствительного и резистентного *Staphylococcus aureus* и одновременно в отношении *Aspergillus niger*. Один из штаммов автором отобран для дальнейших исследований как продуцент антибиотика широкого спектра действия.

Автором исследована способность продуцировать антибиотики бактериями, выделенными из многолетнемерзлой почвы Антарктики и установлено, что из 32 штаммов 13 проявляют антибиотическую активность,

из которых 3 штамма подавляют рост резистентного стафилококка. Другие 3 штамма проявили антигрибную активность.

Из плодовых тел 86 базидиальных грибов автором выделено 93 штамма бактерий-симбионтов и исследована их способность продуцировать антибиотики в условиях глубинного культивирования. Оказалось, что 79 штаммов проявили антимикробную активность в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, 17 бактерий также проявили антигрибную активность, 2 штамма *B.subtilis* оказались продуцентами новых антибиотиков пептидной природы и два – полиеновых антибиотиков.

Для 31 штамма, из выделенных диссертантом и продуцирующих антибиотики, им были определены видовая принадлежность и филогенетическое положение на основании анализа последовательности гена 16S рРНК. Эти штаммы были также охарактеризованы по спектру действия и уровню активности

Автором совместно с коллегами получен и запатентован штамм *B.pumilus* INA 01110, продуцирующий амикумацин А, активный в отношении резистентного стафилококка и тест- штамма *Mycobacterium smegmatis* 155. Автором и другими специалистами института проводится разработка биотехнологии этого перспективного антибиотика.

Таким образом, диссертантом поставлены и решены задачи поиска антибиотиков среди природных штаммов бактерий, выделенных из почвы Краснодарского края, многолетнемерзлой почвы Антарктики, из плодовых тел базидиальных грибов, с последующей оценкой способности этих штаммов продуцировать антибиотики, что позволило отобрать 103 перспективных штамма. Из многолетнемерзлой земли Антарктики автором отобраны продуценты антибиотиков, активные в отношении резистентных возбудителей. Из плодовых тел грибов базидиомицетов выделены бактерии с антибиотической активностью в отношении грамотрицательных бактерий.

При этом большинство выделенных автором эндосимбионтов базидиомицетов, проявили активность в отношении резистентных грамположительных бактерий, а также некоторую антигрибную активность. Установлено, что ряд выделенных антибиотиков являются полиеновыми соединениями, а другие являются пептидными соединениями. Описанные антибиотики отличаются от известных и проявляют активность в отношении штаммов, резистентных к антибиотикам бета-лактамной и гликопептидной структуры.

Все штаммы, представляющие интерес в качестве перспективных продуцентов, определены автором до вида методом секвенирования гена 16S рРНК.

По материалам рассматриваемой диссертации опубликовано 4 научных статьи в рецензируемых журналах из списка ВАК, оформлен патент с положительным решением (патент РФ №2564577 от 07.09.2015). Материалы диссертации представлены на 6 научно-практических конференциях с международным участием. Автореферат полностью раскрывает основные положения диссертации и соответствует её содержанию. Диссертация написана вполне четко и грамотно.

Замечания..

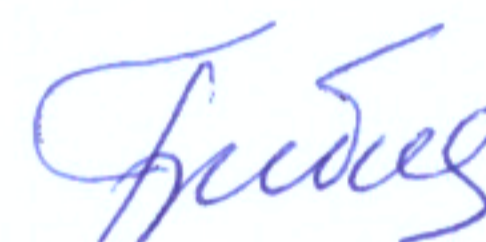
1. Антибактериальные антибиотики при их выделении и идентификации активного вещества обычно контролируются микробиологами, использующими тест-организмы, при помощи которых был отобран продуцент в данном случае продуцент антибиотика амикумацина А. Об этом свидетельствуют и публикации автора и ее коллег. Однако в диссертации эти данные отсутствуют. Естественно рассчитывать, что этот материал, касающийся перспективного антибиотика, будет вскоре получен.

2. Желательно было бы более конкретно уточнить точки, где были получены образцы почв, а также все видовые названия исследованных базидиомицетов, из которых были выделены бактериальные культуры.

Диссертационная работа Ефименко Татьяны Александровны «Бактериальные продуценты антибиотиков, активных в отношении микроорганизмов с лекарственной устойчивостью», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является комплексным исследованием, имеющим фундаментальное и практическое значение и по своей актуальности, степени научной новизны, теоретической значимости и научной ценности полностью соответствует пункту 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней от 24.09. 2013 года за № 842» предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Ефименко Татьяна Александровна заслуживает присуждения ей степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.07 – химиотерапия и антибиотики.

Генеральный директор ООО «ВИОРИН»,

Доктор биологических наук Маргарита Васильевна Бибикина



ООО «ВИОРИН», 117105, Москва, Ул. Нагатинская, д. 3а,

8-917-5555-234 e-mail: bibikova@yandex.ru

Подпись д.б.н., ген. директора Бибикиной М.В. заверяю

Старший научный сотрудник

ООО «ВИОРИН» к.б.н. И.А. Спиридонова

