

«Утверждаю»

Проректор по научной работе ФГБОУ ВПО
«Оренбургский государственный университет»,
доктор физико-математических наук, профессор
С.Н. Летуа



« 09 » 11 2015 г.

Отзыв

ведущей организации Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Оренбургский государственный университет» о научно-практической ценности диссертации Шульгиной Татьяны Андреевны на тему: «Изучение антимикробных свойств дисперсных систем на основе наночастиц серебра и меди и обоснование перспектив их использования», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология

Широкое распространение антибиотикорезистентных штаммов патогенных и условно-патогенных бактерий сохраняет свою актуальность для прикладной микробиологии, практической ветеринарии и медицины. Трудности лечения заболеваний, вызванных полирезистентными госпитальными штаммами микроорганизмов, а также необходимость использования в качестве препаратов выбора дорогостоящих лекарственных средств, приводят к увеличению экономических затрат. Решение данной задачи связано с поиском принципиально новых препаратов, которые сохраняли бы свою эффективность в отношении широкого спектра биологических агентов. В настоящее время с развитием нанотехнологий все большее внимание уделяется возможности использования в качестве антимикробных средств препаратов, содержащих в своем составе металлические наноструктуры. Разработкой подобных экспериментальных препаратов и оценкой их эффективности занимаются как в нашей стране, так и за рубежом. Однако в связи с многочисленными вопросами о безопасности использования металлических наноструктур, более перспективным

направлением считается их получение и применение в составе различных дисперсий. Одним из таких методов является биохимический синтез металлических наночастиц, разработанный Егоровой Е.М. (2010), который сочетает преимущества системы обратных мицелл и природных восстановителей, в частности флавоноидов. Наночастицы металлов, полученные экологически безопасным биохимическим синтезом, стабильны в растворе в течение длительного времени. Кроме того, в имеющихся на настоящий момент работах Егоровой Е.М. с соавторами показана высокая антимикробная активность водных дисперсий серебра в отношении целого ряда референс-штаммов микроорганизмов, представленных *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* TMLR 66, *Salmonella typhi* Ty 2, *Shigella flexneri* 516, *Staphylococcus aureus* Wood-46, *Enterococcus faecalis* CG 110, *Listeria monocytogenes* EGD, *Pseudomonas aeruginosa* 508.

Однако, действие водных дисперсий наночастиц металлов, полученных биохимическим синтезом, на клинические штаммы условно-патогенных бактерий оставалось не изученным. Не представлено в литературе также и сведений о возможных механизмах действия таких наноструктур. В этой связи диссертационное исследование Шульгиной Т.А., посвященное изучению влияния водных дисперсий серебра и меди, полученных биохимическим синтезом, на выживаемость лабораторных и клинических штаммов условно-патогенных микроорганизмов, безусловно, актуально, и имеет большое фундаментальное и прикладное значение. Актуальность и значимость работы дополнительно подтверждается фактом ее выполнения в рамках НИР по договору о проведении научно-исследовательских и экспериментальных работ в области микробиологии с использованием водных дисперсий наночастиц металлов, полученных биохимическим синтезом, между ООО НПК «Наномет» (Москва) и Саратовским научно-исследовательским институтом травматологии и ортопедии Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Во введении к диссертации определено основное направление работы, характеризующееся актуальностью и востребованностью в медико-биологической практике, связанное с выбором наиболее эффективных и безопасных вариантов исследуемых водных дисперсий наночастиц серебра и меди, полученных биохимическим синтезом.

Научная новизна диссертационного исследования связана с изучением антимикробной активности водных и водных диализованных дисперсий наночастиц серебра и меди, полученных биохимическим синтезом, в отношении клинических штаммов *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. Впервые показано влияние водных и водных диализованных дисперсий наночастиц металлов на снижение адгезивной способности лабораторных и клинических штаммов возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний. Установлено эффективное ингибирование роста *Staphylococcus aureus* при сочетанном воздействии синего светодиодного излучения (405 нм) и водных дисперсий наночастиц серебра и меди. Дана оценка показателей острой токсичности исследуемых дисперсий в биотесте на *Daphnia magna* Straus. Выявлена высокая эффективность водной дисперсии наночастиц серебра в очищении раневой поверхности от гнойного экссудата и сокращение срока заживления экспериментальных гнойных ран.

Практическая значимость работы обусловлена определением перспектив создания и использования новых дезинфицирующих и антисептических средств широкого спектра действия, а также препаратов для фотодинамической антимикробной терапии на основе водных и водных диализованных растворов наночастиц серебра и меди, полученных биохимическим синтезом, важным преимуществом которых является их длительная стабильность с сохранением исходных свойств.

Автором сформирована база данных «Анализ действия водных дисперсий наночастиц металлов на клинические штаммы *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*» (свидетельство о гос. регистрации № 2013620158 по

заявке № 2012621425, приор. от 12.12.12 г., опубл. 09.01.13 г., Бюл. № 1), в которой систематизированы представления об антимикробном действии водных и водных диализованных дисперсий наночастиц металлов серебра и меди в присутствии стабилизатора диоктисульфосукцината натрия. Функциональные возможности базы данных позволят создать выборку по заданным критериям, а результаты такой обработки могут быть полезны при анализе концентраций опытных образцов препаратов для эффективного воздействия на микроорганизмы иной видовой принадлежности.

Диссертационное исследование выполнено на высоком методологическом уровне с применением современных и общепринятых микробиологических, биофизических и экспериментальных биологических методов. Кратность экспериментальных исследований и их корректная статистическая обработка позволяют сделать заключение о достоверности полученных результатов.

Диссертационная работа оформлена в соответствии с ГОСТ, изложена на 117 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, глав собственных исследований, заключения, выводов, списка литературы, включающего 133 отечественных и 82 зарубежных источника. Работа иллюстрирована 14 рисунками и 16 таблицами.

В главе «Обзор литературы» автор приводит подробное описание механизмов и условий формирования антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов, а также перспективы преодоления лекарственной устойчивости путем использования металлических наноструктур. В качестве положительного момента хотелось бы отметить умение автора проводить тщательный анализ современных отечественных и зарубежных литературных источников.

Вторая глава содержит описание классических и современных методов микробиологических, биофизических и экспериментальных биологических исследований с использованием современного оборудования и стандартных методик в соответствии с нормативными документами.

Изложение результатов собственных исследований Шульгиной Т.А. дано в трех главах собственных исследований. Автором установлена высокая антимикробная активность водных и водных диализованных дисперсий наночастиц серебра и меди, полученных биохимическим синтезом, в отношении лабораторных и клинических штаммов условно-патогенных бактерий, которая носит дозозависимый характер. С использованием методов трансмиссионной электронной микроскопии установлено сохранение наноразмерности структур во всех исследованных дисперсиях металлов в течение 12 месяцев, что свидетельствует о стабильности металлических наночастиц в составе водных дисперсий, полученных биохимическим синтезом.

Шульгиной Т.А. показано, что обработка микробных клеток исследуемых штаммов микроорганизмов сублетальными концентрациями водных дисперсий наночастиц металлов приводит к снижению показателей их адгезивной активности. А сочетанное действие синего светодиодного излучения и водных дисперсий наночастиц серебра и меди приводит к повышению их ингибирующего действия как в отношении метициллинчувствительного, так и в отношении метициллинрезистентного штамма *Staphylococcus aureus*.

Интересным является факт оценки показателей острой токсичности исследуемых водных дисперсий наночастиц металлов с использованием тест-объекта *Daphnia magna* Straus при предварительном отборе препаратов для последующего использования в системах *in vivo*. Полученные результаты позволили установить, что наиболее перспективной для дальнейшего использования является водная диализованная дисперсия наночастиц серебра в диапазоне концентраций 0,125-1%. Кроме того, автором установлена прямая зависимость токсичности исследуемых препаратов от концентрации стабилизатора в их составе.

Высокая антимикробная активность водных дисперсий наночастиц металлов позволила автору предположить возможность их использования в качестве антисептических средств для обработки экспериментальных полнослойных гнойных ран. Согласно полученным автором результатам наибольшая активность была отмечена для 1%-ой водной диализованной дисперсии наночастиц серебра, обработка которой позволила обеспечить быстрое очищение раны от гнойного экссудата с сокращением сроков заживления в 1,8 раза по сравнению с контролем.

Заключение, представленное в диссертации, дает полное представление о проделанной работе. Выводы обоснованы и соответствуют полученным данным.

Основные результаты работы отражены в 16 научных публикациях, в том числе в 6 статьях журналов из списка изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ; 1 свидетельстве о государственной регистрации базы данных.

Автореферат и научные публикации отражают основные положения, изложенные в диссертации.

При высокой положительной оценке диссертационной работы в целом, возникли следующие вопросы, в том числе дискуссионного характера. Так, хотелось бы уточнить:

1. Почему из всего многообразия наноструктур металлов Вами были выбраны именно серебро и медь?
2. Каким механизмом может определяться снижение адгезивной активности клеток исследуемых штаммов условно-патогенных бактерий, обработанных субингибиторными концентрациями водных дисперсий наночастиц серебра и меди?
3. Каким образом Вы предполагаете практическое использование водных дисперсий серебра и меди в качестве фотосенсибилизаторов для антимикробной фотодинамической терапии?


Заключение

Диссертация Шульгиной Татьяны Андреевны на тему: «Изучение антимикробных свойств дисперсных систем на основе наночастиц серебра и меди и обоснование перспектив их использования», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология является научно-квалифицированной работой, в которой на основании выполненных автором исследований получены новые данные о действии водных дисперсий наночастиц серебра и меди, полученные биохимическим синтезом, на полирезистентные клинические штаммы условно-патогенных бактерий и обоснованы перспективы использования подобных препаратов в медико-биологической практике.

По своей актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований и практической значимости полученных результатов представленная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор – Шульгина Татьяна Андреевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Отзыв обсужден на заседании кафедры микробиологии химико-биологического факультета Оренбургского государственного университета (протокол № 6 от 09 ноября 2015 г.)

Заведующий кафедрой микробиологии
ФГБОУ ВПО «Оренбургский
государственный университет»
доктор медицинских наук, профессор


Дмитрий Геннадьевич
Дерябин

Подпись д.м.н., профессора Дерябина Д.Е.
«Заверяю»
ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный университет»

460018, г. Оренбург, просп. Победы, д. 13 Электронный адрес: post@mail.osu.ru
Телефон: +7 (35-32) 77-67-70 Факс: +7 (35-32) 72-37-01

