ОТЗЫВ

официального оппонента профессора кафедры физической химии и хроматографии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева», доктора химических наук, профессора **Курбатовой Светланы Викторовны** по диссертации Османовой Селины Ягьяевны на тему «Разработка методики оценки антимикробной активности антибиотиков с применением биолюминесцентного анализа», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

1. Актуальность выполненного исследования

Антимикробная активность является одним из важнейших параметров качества антибактериальных лекарственных средств, характеризующих их целевое действие и количественное содержание. В условиях возрастающей антибиотикорезистентности и необходимости оперативного контроля качества антибактериальных препаратов, включая как субстанции, так и готовые лекарственные формы, разработка альтернативных, экспрессных и высокочувствительных методик оценки антимикробной активности является своевременной и востребованной задачей.

Использование биолюминесцентных бактерий в качестве тест-объектов представляет собой перспективное направление, поскольку интенсивность свечения легко и точно измеряется современными приборами, а метод характеризуется простотой, быстротой и высокой чувствительностью. Диссертационная работа Османовой С.Я. направлена на решение именно этой актуальной научно-практической задачи — разработку методики биолюминесцентного анализа для определения антимикробной активности антибиотиков и её валидацию в соответствии с требованиями фармакопейного анализа.

8 листов № 1230/02-23-119
05 11 2026
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждения высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации
тел./факс +7(846) 374-10-03

2. Новизна исследования и полученных результатов, их достоверность

Научная новизна работы, выполненной Османовой С.Я., подтверждена результатами, полученными автором впервые. К наиболее значимым элементам новизны следует отнести:

— впервые изучена применимость биолюминесцентных тест-бактерий для определения антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар;

— впервые разработаны методики оценки антимикробной активности антибиотиков методом биолюминесцентного анализа по изменению интенсивности бактериальной биолюминесценции штамма *P. leiognathi* Sh1, определены оптимальные условия культивирования, количество клеток, необходимое для получения достоверных результатов, критерии регистрации биолюминесценции, а также установлены растворители и диапазоны концентраций антибиотиков;

— впервые проведена проверка и подтверждена пригодность разработанных методик путём определения комплекса валидационных характеристик;

— на основе полученных данных подготовлен проект общей фармакопейной статьи «Определение антимикробной активности антибиотиков методом биолюминесцентного анализа».

Новизна исследований подтверждена двумя патентами РФ на изобретение (RU 2838567 C1 и RU 2867877 C1), что свидетельствует о высоком уровне научной и практической значимости полученных результатов. Достоверность полученных результатов подтверждена применением комплекса взаимодополняющих методов анализа

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

Достоверность и обоснованность результатов исследования, научных положений, выводов и рекомендаций диссертационной работы Османовой С.Я. обеспечена значительным объёмом экспериментальных данных, полученных с использованием современных физико-химических и биологических методов анализа, статистической обработкой данных в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи РФ XV издания, воспроизводимостью результатов, а также публикациями в рецензируемых научных изданиях и патентами РФ на изобретение.

4. Значимость для науки и практики результатов диссертации, возможные конкретные пути их использования

Теоретическая значимость работы заключается в расширении существующих знаний о методах оценки качества антибиотиков, в частности их антимикробной активности, с применением подходов на основе бактериальной люминесценции. Представлено обоснование использования методик биолюминесцентного анализа, позволяющее получать более точные и надёжные результаты по сравнению с традиционным методом диффузии в агар.

На основе полученных результатов подготовлен проект фармакопейной статьи, что создаёт предпосылки для внедрения разработанной методики в практику фармакопейного анализа и контроля качества лекарственных средств. Возможность сокращения времени анализа до 30 минут открывает перспективы для экспресс-оценки термолабильных антибиотиков, подверженных гидролизу в водных растворах. При этом разработанные методики оценки антимикробной активности антибиотиков на основе люминесцентных бактерий штамма *P. leiognathi* Sh1 уже нашли применение в учебном процессе и научно-исследовательской работе ФГАОУ ВО

«Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

5. Оценка содержания диссертации

Диссертация построена по традиционному принципу, изложена на 214 страницах машинописного текста, включает введение, обзор литературы, объекты и методы исследования, три главы собственных исследований, выводы и заключение, список литературы из 324 источников. В приложении представлены 5 дополнительных материалов. Работа проиллюстрировано 12 таблицами и 54 рисунками.

В **главе 1** представлен обзор современных методов исследования антибиотиков и оценки их антимикробной активности, а также рассмотрено применение биолюминесцентных бактерий в тестировании биологической активности органических и неорганических веществ в рамках фармацевтического анализа и контроля качества лекарственных средств. Обзор литературы характеризуется достаточной полнотой и критичностью анализа.

В **главе 2** описаны предмет, объекты, оборудование и методы исследования. Следует отметить тщательный подбор объектов исследования, представляющих собой 17 антибиотиков различных химических групп. Использованы современные методы анализа: метод диффузии в агар по ОФС.1.2.4.0010.18, ВЭЖХ с УФ-детектированием, биохемилюминометрия, денситометрия. Статистическая обработка результатов проводилась в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0013.15, ОФС.1.1.0014.15, ОФС.1.1.0012 (валидация аналитических методик).

В главе 3 представлены результаты определения антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар с использованием как рекомендованных ГФ тест-микроорганизмов, так и биолюминесцентных штаммов. Приведены результаты статистического анализа, включая проверку

эквивалентности штаммов с использованием двойного одностороннего тестирования, анализ смешанных эффектов, сравнение моделей по информационным критериям.

В главе 4 описана разработка новой методики определения антимикробной активности антибиотиков, основанной на измерении изменения интенсивности биолюминесценции бактерий *P. leiognathi* Sh1. Определены диапазоны линейных зависимостей биолюминесцентного индекса (БЛИ) от логарифма концентрации антибиотиков. Проведена оценка валидационных характеристик: чувствительность, на основании которых сделаны выводы о высокой чувствительности, воспроизводимости и надёжности разработанной методики.

В главе 5 представлены результаты апробация разработанной методики для оценки антибактериальных субстанций, не описанных в ОФС.1.2.4.0010.18. Показана высокая чувствительность штамма *P. leiognathi* Sh1 к различным классам антимикробных средств. Установлено, что снижение времени анализа до 30 минут позволяет получить прецизионные результаты и одновременно снизить влияние гидролиза субстанций антибиотиков, что открывает новые возможности для экспресс-оценки термолабильных веществ.

В **Заключении** диссертации последовательно обобщены основные итоги исследования, сформулированы практические рекомендации, а также обозначены перспективы дальнейшего развития научной тематики. Таким образом, заключение полно и аргументированно отражает суть полученных результатов и подтверждает решение всех поставленных автором задач.

Работа логически завершается библиографическим списком использованных источников.

По теме диссертации опубликовано 22 работы, 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, оформлено 2 патента на изобретения.

Данные диссертации используются в практической работе на кафедрах медицинской и фармацевтической химии, фармации Института биохимических технологий экологии и фармации, а также в Центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинского института имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского».

Несмотря на общую положительную оценку, по диссертационной работе Османовой С.Я. возник ряд вопросов и замечаний.

1. Хотелось бы знать, в какой среде готовились растворы свежеприготовленные и для инкубирования (вода, с добавлением буфера или нет, физиологический раствор и т.п.) и контролировали ли значения pH при этом, поскольку стабильность β-лактамов существенно зависит от pH, ионной силы и природы буфера, что может повлиять на интерпретацию результатов.

2. Не указано, каким образом термостатировали растворы, как контролировали температуру, была ли защита от света (многие β-лактамы светочувствительны).

3. На основании чего определили, что «При комнатной температуре (25 °C, 18 часов) потери основного вещества составляют лишь около 5%»?

4. Насколько оправдано сравнение результатов при разных температурах? Возможно ли, что при 25 °C рост тест-штаммов замедляется по сравнению с 37 °C, поэтому уменьшение зон ингибирования при 37 °C происходит не только из-за распада антибиотика, но и из-за того, что при 25 °C бактерии просто не успеют дать нормальный размер зоны за 18 часов. Следует пояснить.

5. Была ли проведена оценка специфичности/селективности метода биолюминесценции, то есть, другими словами, обусловлен ли отклик именно антибиотиком, а не каким-либо другим компонентом пробы. И учитывали ли влияние pH, температуры и времени инкубации на люминесценцию.

6. В таблице 12 диссертации приведены разные объемы выборки для разных антибиотиков. С чем это связано и как это влияет на статистические выводы?

7. В работе имеются опечатки, ошибки и несогласованность предложений.

Приведенные замечания и вопросы носят уточняющий характер и не снижают ценности выполненного диссертационного исследования.

6. Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям и выводам диссертации. Диссертационная работа Османовой С.Я. соответствует паспорту специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия по пунктам 2, 3, 5, 6.

7. Заключение о соответствии диссертации критериям «Положения о присуждении ученых степеней»

Таким образом, диссертационная работа Османовой Селины Ягьяевны на тему: «Разработка методики оценки антимикробной активности антибиотиков с применением биолюминесцентного анализа», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, является самостоятельной завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной научной задачи современной фармацевтической химии и фармакогнозии, направленной на разработку методики оценки антимикробной активности антибиотиков с применением биолюминесцентного анализа.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов диссертационная работа Османовой Селины Ягьяевны соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент

Профессор кафедры физической химии и хроматографии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева»,
443086, Приволжский федеральный округ, Самарская область, г. Самара,
Московское шоссе, д. 34
Телефон: +7 (846) 334-54-32
e-mail: kurbatova.sv@ssau.ru
доктор химических наук (02.00.20 – хроматография), профессор

Курбатова Светлана Викторовна

«29» 10 2026 г.

Подпись Курбатовой С.В. удостоверяю.
Начальник отдела сопровождения деятельности диссертационных советов Самарского университета
Боярхина Боярхина У.В.
«10» 10 2026 г.

С отзывом ознакомлена. 05.11.2026