

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Косиловой Ирины Сергеевны на тему
«Питательная среда для определения чувствительности микроорганизмов к
антимикробным препаратам», представленной на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности

1.5.6. - Биотехнология

Актуальность исследования

Широкое распространение микроорганизмов, устойчивых к антимикробным препаратам, вызывает серьезную проблему общественного здравоохранения во всем мире. Проблема антибиотикорезистентности носит убиквитарный характер. Наиболее распространенным в медицинской практике методом определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам является диско-диффузионный метод. Для его постановки используется специально предназначенная для данного метода питательная среда – агар Мюллера-Хинтона. К качеству агара Мюллера-Хинтона международными организациями предъявляются требования по содержанию в ней ионов кальция, магния, марганца, цинка и тимидина.

Анализ качества питательных сред данного назначения, присутствующих на мировом рынке, показал, что только около 30 % из них стандартизованы по содержанию ионов двухвалентных металлов и тимидина. Определение антибиотикочувствительности микроорганизмов на нестандартизированных питательных средах приводит к получению ложных результатов чувствительности к аминогликозидам, фторхинолонам, тетрациклинам, тигециклину, карбапенемам и сульфониламидам. Качество питательной среды зависит от качества компонентов, входящих в ее состав. Основным компонентом агара Мюллера-Хинтон является кислотный гидролизат казеина.

Актуальность представленного исследования обусловлена разработкой технологии производства солянокислотного гидролизата казеина с

заданными характеристиками специально для данной питательной среды, ввиду того, что до настоящего времени в отечественных и международных публикациях данная информация отсутствовала.

Цель данной работы состояла в разработке технологии производства солянокислотного гидролизата казеина с заданными характеристиками и конструирования на его основе питательной среды для определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам (агар Мюллера-Хинтон), удовлетворяющим требованиям международных стандартов.

Косиловой И.С. были решены следующие задачи: Оценена возможность применения коммерческих гидролизатов казеина при производстве питательной среды для определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам и обосновать необходимость разработки технологии получения солянокислотного гидролизата казеина с заданными характеристиками. Разработана технология производства и определения оптимальных параметров процесса получения солянокислотного гидролизата казеина со сбалансированным содержанием ионов двухвалентных металлов и тимидина, изучены его физико-химические показатели качества, аминокислотный состав и молекулярно-массовое распределение пептидных фракций, установлены критерии пригодности в составе питательной среды. Разработана нормативно-техническая документация на производство солянокислотного гидролизата казеина. Разработана питательная среда для определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам на основе солянокислотного гидролизата казеина и определены физико-химические и биологические показатели качества. Доказана пригодность разработанной питательной среды для определения чувствительности музейных и клинических штаммов микроорганизмов к антимикробным препаратам диско-диффузионным методом и методом градиентной диффузии. Оценена возможность применения разработанной питательной среды при изучении

чувствительности музейных штаммов нового патогена *Photorhabdus* spp. к антимикробным препаратам, определено влияние температуры инкубирования на их чувствительность к антимикробным препаратам. Разработана технология и нормативно-техническая документация на производство питательной среды, с последующей регистрацией питательной среды в качестве медицинского изделия.

Научная новизна исследования заключалась в определении критериев качества солянокислотного гидролизата казеина, входящего в состав питательной среды, для получения достоверных результатов определения чувствительности микроорганизмов к аминогликозидам, фторхинолонам, тетрациклинам, тигециклину, карбапенемам, и к сульфаниламидам: содержание ионов Ca^{+2} от 1,15 мг/г до 1,45 мг/г, ионов Mg^{+2} от 0,6 мг/г до 0,7 мг/г, ионов Mn^{+2} не более 0,5 мг/г, ионов Zn^{+2} не более 0,06 мг/г, тимидина менее 0,001 мг/г. Кроме того, в систематическом изучении чувствительности штаммов *Photorhabdus asymbiotica* и *P. luminescens* к аминогликозидам, тетрациклинам, карбапенемам, хлорамфениколу, триметоприму/сульфаметоксазолу, цефалоспорином, фторхинолонам, макролидам и пенициллинам с помощью разработанной питательной среды (агара Мюллера-Хинтон). Определено влияние температуры культивирования бактерий *Photorhabdus* spp. на чувствительность к антибиотикам группы пенициллинов (амоксициллину/клавулановой кислоте, ампициллину и бензилпенициллину) и обосновано использование температуры $(35 \pm 1)^\circ\text{C}$, как оптимальной, для определения их чувствительности к антимикробным препаратам.

Теоретическая и практическая значимость диссертационного исследования определяется разработкой способа получения солянокислотного гидролизата казеина, который может быть положен в основу производства других белковых гидролизатов со сбалансированным содержанием ионов кальция, магния, марганца и цинка, а также пониженной концентрацией тимидина. На основе результатов исследований утверждён

Промышленный регламент ПР 78095326-12-2012 и Технические условия ТУ 9385-182-78095326-2012. Приоритет на способ получения солянокислотного гидролизата казеина подтвержден патентом RU № 2746624. На основе солянокислотного гидролизата казеина разработана питательная среда для определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам (агар Мюллера-Хинтон), на которую утверждены Технические условия (ТУ 9385-227-78095326-2015), Промышленный регламент (ПР 78095326-150-2015) и Инструкция по применению. Питательная среда внедрена в производство на технологической базе ФБУН ГНЦ ПМБ и зарегистрирована в качестве медицинского изделия (регистрационное удостоверение № РЗН 2017/5962 от 10.07.2017 г.).

В целом автореферат написан грамотным литературным языком, аккуратно оформлен, содержит достаточное количество исходных данных. Выводы диссертационной работы соответствуют поставленным задачам. Материалы диссертации представлены и обсуждены на 9 международных и Всероссийских конференциях. Основные результаты исследования отражены в 3 статьях в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК, 1 статья в прочих изданиях. Получен патент РФ на изобретение.

Ознакомление с работами автора, опубликованными в печати, и рецензирование автореферата диссертации Ирины Сергеевны Косиловой на тему «Питательная среда для определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 - Биотехнология, позволяет сделать вывод, что по актуальности, научной новизне, практической значимости результатов и объему проведенных исследований, свидетельствует о решении диссертантом важной народно-хозяйственной задачи по контролю за антибиотикорезистентностью. Работа соответствует требованиям пунктов 9, 10, 11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., в редакции

постановлений Правительства РФ № 335 от 21.04.2016 г., № 748 от 02.08.2016 г., № 650 от 29.05.2017 г., № 1024 от 28.08.2017 г. и № 1168 от 01.10.2018 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Ирина Сергеевна Косилова заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 - Биотехнология.

Заслуженный работник высшей школы Российской Федерации
профессор кафедры микробиологии,
доктор медицинских наук, доцент

Малышев
Владимир Васильевич

Специальность –
14.00.30 – эпидемиология

ФГБВОУ ВО Военно-медицинская
академия имени С.М.Кирова
Министерства обороны
Российской Федерации

Почтовый адрес: ул. Академика
Лебедева, д. 6, г. Санкт-Петербург,
194044

e-mail: ymeda@mail.ru

тел. +7 (812) 299 34 65

« 1 » февраля 2022 г.

Подпись профессора кафедры микробиологии

Военно-медицинской академии имени С.М.Кирова
доктора медицинских наук, доцента
Малышева Владимира Васильевича

«Заверяю»

Начальник отдела кадров
Военно-медицинской
академии
майор П. Милич

« 1 » февраля 2022 г.

