

ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертацию
Подкопаева Ярослава Васильевича
на тему: «Разработка питательных сред для выделения и
культивирования возбудителей гнойных бактериальных менингитов»
по специальностям: 03.02.03 — «Микробиология»,
03.01.06 — «Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)»
на соискание учёной степени кандидата биологических наук**

Актуальность избранной темы.

Экономический ущерб от гнойных бактериальных менингитов в России составляет более 0,5 миллиарда рублей ежегодно. Основными этиологическими агентами являются *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenzae*. Однако эти бактерии являются причиной развития целого ряда других заболеваний. Так, в Международном классификаторе болезней МКБ – 10 указано более 30 нозологий, при которых этиологическим агентом являются эти 3 микроорганизма. И если при бактериологической расшифровке менингитов удастся установить этиологию заболевания в половине случаев, то при воспалительных процессах любой другой локализации, особенно в респираторном тракте, возбудитель бывает установлен, по разным данным, лишь в 20 - 30% случаев.

При всем многообразии экспрессных методов, достоверный ответ об этиологии заболевания может дать культуральный метод. Он также необходим для определения чувствительности выделенного штамма к антибактериальным препаратам, особенно принимая во внимание постоянно нарастающую резистентность бактерий.

Питательные среды иностранного производства при всех имеющихся достоинствах имеют недостатки: они дороги и не всегда доступны (транспортировка их из мест производства может длиться до 3 месяцев).

Поэтому выбранная Ярославом Васильевичем тема диссертационного исследования крайне важна и своевременна как для пополнения теоретических знаний о правилах создания питательных сред с заранее заданными свойствами, так и для непосредственного использования этих знаний в производстве.

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

Положения и выводы диссертационной работы обоснованы полностью раскрытой целью научного исследования и выполненными задачами, поставленными для ее достижения. Для правильного выбора цели исследования автором диссертационной работы проанализирован достаточный объем источников литературы (всего 127: 77 отечественных, 80 зарубежных). Все данные, полученные в ходе выполнения задач исследования, подвергнуты глубокому теоретическому анализу с учетом уже имеющихся знаний в сфере научных интересов автора. Положения, выносимые на защиту, и полученные выводы имеют логическое подтверждение в тексте и хорошо иллюстрированы таблицами и рисунками. Каждое положение и вывод имеют смысловое и фактическое обоснование и логично связаны между собой единой целью исследования.

Достоверность и новизна полученных результатов. Достоверность полученных результатов основана на большом объеме проведенных исследований, выполненных на высоком методическом уровне. Так, в работе было использовано 57 штаммов бактерий, полученных из разных коллекций микроорганизмов. В процессе выполнения работы диссертантом было проверено огромное количество комбинаций составных элементов питательных сред различного назначения.

Соискателем использован целый ряд классических и современных методов исследования: микробиологических, молекулярно-биологических, физико-химических, статистических, характеризующихся высокой специфичностью и чувствительностью.

Все полученные автором результаты статистически обработаны с помощью современных компьютерных программ, выбор метода обработки соответствовал объему и формату проведенных исследований. Положения и выводы основаны на достоверных статистических данных.

Теоретическая и практическая значимость полученных автором результатов. Теоретическая значимость результатов исследования заключается в следующем:

- Теоретически разработана и практически подтверждена возможность замены

крови и гемоглобина на ростовые добавки при производстве сухой питательной среды для культивирования *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* и *H. influenzae*. Состав разработанной среды защищен патентом.

- Установлена зависимость биологических показателей питательных сред для выделения основных возбудителей гнойных бактериальных менингитов от физико-химических показателей компонентов, что позволило управлять качеством производственных серий питательных сред.
- Впервые установлена возможность использования стимулятора роста гемофильных микроорганизмов в качестве субстрата для придания питательным средам дифференцирующих свойств при культивировании пневмококка.

Практическая значимость результатов исследования заключается в следующем:

- Разработана и утверждена нормативно-техническая документация для промышленного выпуска трех питательных сред: для выделения возбудителей гнойных бактериальных менингитов, для культивирования и выделения гемофильной палочки, для выделения и культивирования возбудителей гнойных бактериальных менингитов.
- Зарегистрированы в качестве медицинских изделий и внедрены в производство питательные среды Гемофилус агар, Шоколадный агар и ГБМ-агар.
- Разработаны и утверждены методические рекомендации федерального уровня «Использование питательных сред для диагностики гнойных бактериальных менингитов» и методические рекомендации учрежденческого уровня «Использование питательной среды для культивирования и выделения гемофильной палочки (Гемофилус агар)».

Оценка содержания диссертации, её завершенность.

Материалы диссертационной работы изложены на 140 страницах печатного текста. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, собственных исследований, отраженных в 3-х главах, заключения, выводов, 2-х приложений и списка цитируемой литературы из 127-ми источников. Работа иллюстрирована 14-ю таблицами и 27-ю рисунками. Каждый раздел диссертации логично перетекает в следующий. Диссертация хорошо оформлена, имеет четкий, лаконичный научный стиль.

Таблицы и рисунки наглядно представляют результаты и их анализ. Все поставленные автором задачи выполнены в полном объеме.

По теме диссертации опубликовано всего 15 научных работ, из них – 2 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, 1 патент на изобретение, 1 статья в прочих изданиях, 10 тезисов докладов в сборниках трудов конференций, 1 методические рекомендации. В публикациях содержится полный объем информации, касающейся темы диссертации.

Соответствие автореферата основному содержанию диссертации.

Автореферат полностью соответствует основному содержанию диссертации.

Соответствие диссертации и автореферата требованиям ГОСТ Р 7.0.11-2011 «Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Диссертация и автореферат диссертации. Структура и правила оформления». М.: Стандартинформ. – 2012. Диссертация и автореферат Ярослава Васильевича соответствует всем правилам написания и оформления соответствующих научных работ, установленным в нормативных документах.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации.

Неоспоримым дополнительным достоинством диссертации Ярослава Васильевича является разработка питательных сред высокого качества из отечественных компонентов. При этом более низкая стоимость, чем импортных питательных сред, позволит использовать их в большем числе диагностических лабораторий, что, в свою очередь, будет способствовать более качественной бактериологической диагностике не только при гнойных бактериальных менингитах, но и при других нозологиях.

Недостатки в содержании и оформлении диссертации не выявлены.

Вопросы для дискуссии:

1. Как известно, дрожжевые клетки, лактобактерии и некоторые другие микроорганизмы в процессе своего роста могут значительно снижать pH среды обитания. Не будет ли это сказываться при посеве биологических субстратов, содержащих такие бактерии, на качестве разработанных Вами питательных сред, эффективность которых наиболее выражена при слабощелочной реакции?
2. Чем обусловлены нерастворимые коричневые включения в основе ГБМ-агара и

Гемофильного агара, описанные в диссертации, и есть ли способ их устранения?

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным
«Положением о присуждении ученых степеней» по пунктам:

10) Диссертация написана автором самостоятельно, обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты и положения, выдвигаемые для публичной защиты. Личный вклад автора в работу составляет более 80%.

11) Основные научные результаты диссертации опубликованы в 2-х рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, в методических рекомендациях федерального уровня «Использование питательных сред для диагностики гнойных бактериальных менингитов» (МР 4.2.0078/1-13) и методических рекомендациях учрежденческого уровня «Использование питательной среды для культивирования и выделения гемофильной палочки (Гемофилус агар)», имеется 1 патент на изобретение.

14) При использовании методик или полученных ранее отдельных результатов автор диссертации ссылается на автора и источник заимствования материалов.

З а к л ю ч е н и е:

Диссертация Подкопаева Ярослава Васильевича на тему: «Разработка питательных сред для выделения и культивирования возбудителей гнойных бактериальных менингитов», выполненная под руководством кандидата химических наук Домотенко Любови Викторовны и консультанта доктора биологических наук Шепелина Анатолия Прокопьевича, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 03.02.03 — «Микробиология», 03.01.06 — «Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)», является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи — разработки состава и технологии производства питательных сред для выделения и культивирования основных возбудителей гнойных бактериальных менингитов, имеющей существенное значение для соответствующей отрасли знаний, а

именно: разработаны рецептуры и технологии промышленного производства трех питательных сред для культивирования и выделения менингококков, пневмококков и гемофильной палочки с использованием стимуляторов и ингибиторов роста, что соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24. 09. 2013 г., с изменениями, утвержденными постановлением Правительства РФ № 335 от 21.04.2016 г., предъявляемым ВАК РФ к кандидатским диссертациям, а ее автор Подкопаев Я.В. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 03.02.03 — «Микробиология», 03.01.06 — «Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)»).

Официальный оппонент,
Краева Людмила Александровна,
доктор медицинских наук, 03.02.03 – «микробиология»,
197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14,
тел. 7 (812) 498 09 39, 7 (904) 610 21 54,
lykraeva@yandex.ru

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии
имени Пастера Роспотребнадзора,
заведующая лабораторией медицинской бактериологии



Л.А. Краева

05.03.2018

Подпись Л.А.Краевой удостоверяю:

Начальник отдела кадров



С.Н. Михайлова