



О Т З Ы В

на автореферат диссертации Червяковой Надежды Сергеевны «Оптимизация подходов к установлению аутентичности и консервации коллекционных штаммов патогенных микроорганизмов», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология

Диссертационная работа Червяковой Надежды Сергеевны является оригинальным исследованием, посвященным актуальным направлениям совершенствования коллекционной деятельности, связанным с установлением аутентичности референтных штаммов и оптимизацией способов их долгосрочного хранения.

Первостепенной задачей государственных коллекций патогенных микроорганизмов является сохранение штаммов в неизменном состоянии в течение длительного периода времени. Для этого используют методы лиофилизации, криоконсервации и низкотемпературного замораживания. Во всех случаях выбор способа консервирования конкретного объекта основывается на сохранении микроорганизмами жизнеспособности, морфологических признаков, физиологических характеристик, биохимической активности и генетической стабильности. При этом учитывается максимально возможное время хранения культуры, а также надежность данного метода консервации и требования к его реализации и обслуживанию. Культуры микроорганизмов, подготавливаемые к консервации, должны быть выращены в оптимальных условиях. Состав среды для культивирования, температура, условия аэрации и другие факторы оказывают существенное влияние на устойчивость микроорганизмов к стрессам, возникающим как при подготовке, так и при самом хранении. Кроме того, используемое ранее оборудование в большинстве коллекций к настоящему времени морально и физически устарело и требует замены на современные установки с разработкой алгоритма работы в соответствии с требованиями биологической безопасности. В связи с этим, очевидна актуальность исследований, направленных на оптимизацию существующих подходов с подбором условий и адаптации нового оборудования к консервации патогенных микроорганизмов.

Еще одной актуальной задачей деятельности коллекций микроорганизмов является установление таксономической принадлежности штаммов и подтверждение их аутентичности в процессе воспроизводства. Систематика бактерий постоянно обновляется и совершенствуется, в связи с чем существует необходимость в периодическом проведении номенклатурной ревизии штаммов коллекций. Нередки случаи, когда штамм, идентифицированный по фенотипическим свойствам классическими методами как определенный вид, при более детальном изучении оказывался иной видовой принадлежности. Внедрение в лабораторную практику новых методов и технологий обуславливает применение их как для верификации видовой принадлежности коллекционных штаммов, так и для изучения их свойств. Поэтому в крупных международных коллекциях и государственных коллекциях патогенных микроорганизмов РФ для подтверждения аутентичности референтных штаммов на сегодня используется ряд современных автоматических технологий, в частности биохимическое профилирование с применением микробиологических анализаторов, масс-спектрометрия по технологии MALDI-ToF, рибопринтинг, фрагментарное, мультилокусное и полногеномное секвенирование.

Автореферат диссертации позволяет составить полное представление о методических приемах, использованных в работе и полученных результатах. Его отличает четкость изложения. Выбор направления исследования, предпринятого автором, убедительно аргументирован необходимостью поиска новых научно обоснованных решений по достижению поставленной цели и задач.

Как следует из автореферата, автором получен содержательный экспериментальный материал. Вся структура исследования, включая методические приемы и анализ полученных результатов, свидетельствует о профессиональном уровне соискателя.

Научная новизна диссертационных разработок автора заключается в разработанном алгоритме определения аутентичности и систематической принадлежности коллекционных штаммов патогенных микроорганизмов, включающем скрининг культурально-морфологических свойств штаммов,

определение расширенного спектра ферментативной активности, установление масс-спектрометрического MALDI-ToF профиля, риботипа и обработку результатов в биоинформационном программном пакете BioNumerics. На этой основе проведена номенклатурная ревизия 130 штаммов ГКПБ ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», регламентированных к использованию в качестве контрольных в диагностической и производственной деятельности. В результате чего, таксономическое положение 10% штаммов было уточнено в соответствии с требованиями международной классификации, 10% штаммов были исключены из списка аутентичных. Также в работе впервые на модели 60 штаммов бактерий разработаны схемы долгосрочной консервации методами лиофилизации с использованием современных сублимационных установок камерного, коллекторного типа и низкотемпературного замораживания при обеспечении биологической безопасности всего технологического процесса.

Практическую значимость работы составляют 7 методических рекомендаций различного уровня внедрения, а также разработанная форма паспорта коллекционных тест-штаммов патогенных микроорганизмов ГКПБ ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», включающая полученные данные о фенотипических и молекулярно-генетических свойствах.

Содержание положений, выносимых на защиту диссертационной работы Червяковой Надежды Сергеевны, обосновано. Выводы в полной мере отражают главные итоги проделанной работы.

Материалы диссертационной работы были представлены на Межгосударственных и Всероссийских конференциях и конгрессах. По теме диссертации опубликовано 10 работ, в том числе 4 статьи в журналах списка, рекомендованного ВАК. Содержание публикаций и автореферата полностью соответствует теме диссертационного исследования.

Замечаний по существу изложения материала, интерпретации полученных данных, заключений и выводов нет.

Работа имеет заверченный характер, цель и задачи выполнены, актуальность исследования очевидна, новизна полученных данных, их научная и практическая значимость подтверждены, объем выполненного и проанализированного экспериментального материала и уровень внедрения

