

О Т З Ы В

на автореферат диссертации Поболеловой Юлии Илдаровны на тему «Колориметрические микрочипы для мультианализа генов карбапенемаз, обуславливающих устойчивость бактерий к бета-лактамам антибиотикам» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 03.01.04 – биохимия.

Диссертационная работа Поболеловой Ю.И. посвящена разработке новых диагностических методов определения генетических детерминант устойчивости бактерий к бета-лактамам антибиотикам. Продукция бактериальных ферментов бета-лактамаз является одним из наиболее распространенных и клинически значимых механизмов устойчивости у грамотрицательных микроорганизмов. Карбапенемазы на сегодняшний день являются самыми опасными бета-лактамазами, поскольку обладают наиболее широким спектром гидролитической активности, который включает карбапенемы – класс бета-лактамов, устойчивых к действию других бета-лактамаз. В течение более тридцати лет карбапенемные антибиотики были ключевым звеном в терапии нозокомиальных инфекций, вызванных патогенами, устойчивыми к другим группам антибиотиков. Однако их частое применение для лечения тяжелых инфекционных заболеваний привело к формированию устойчивости к ним у бактерий и появлению карбапенемаз. Благодаря плазмидной локализации генов карбапенемаз распространение этих ферментов среди возбудителей инфекционных заболеваний человека приняло угрожающий характер. Многообразие карбапенемаз и опасность их широкого распространения диктуют необходимость развивать методы мультипараметрического молекулярно-генетического для одновременной идентификации генов ферментов данного типа, поэтому актуальность представленной диссертационной работы не вызывает сомнений.

Для определения генов карбапенемаз в работе использовалась технология ДНК-микрочипов. Автором подробно описано проведение молекулярного дизайна зондов для идентификации генов карбапенемаз методом прямой гибридизации и сэндвич-анализа. Проведен анализ различного положения олигонуклеотидных зондов относительно друг друга и ДНК-мишени на результаты гибридизационного анализа, указаны параметры, которые следует учитывать при подборе олигонуклеотидных зондов для идентификации генов.

В работе проведено сравнение двух типов гибридизационного анализа: гибридизация зондов, иммобилизованных на микрочипе, с меченой ДНК-мишенью и сэндвич-гибридизация с использованием немеченой ДНК-мишени и двух типов зондов – иммобилизованных и меченых. Автором показаны преимущества сэндвич-схемы анализа.

Важным результатом является оптимизация двух мультиплексных ПЦР: для одновременной амплификации генов основных клинически важных карбапенемаз и для совместной амплификации генов карбапенемаз восьми типов и полноразмерных генов бета-лактамаз класса А с одновременным введением биотина в качестве метки.

Важным практическим результатом работы является разработка двух типов колориметрических микрочипов. Первый позволяет проводить идентификацию восьми типов карбапенемаз в одном анализе. Интегрированный микрочип позволяет идентифицировать в одном анализе все наиболее клинически важные в настоящее время бета-лактамазы (восемь типов карбапенемаз и три типа бета-лактамаз молекулярного класса А). В ходе работы проведена апробация разработанных микрочипов на клинических штаммах энтеробактерий.

При этом установлена хорошая корреляция полученных результатов с данными фенотипических тестов, ПЦР в реальном времени и ДНК-секвенирования.

Таким образом, данное диссертационное исследование весьма актуально и выполнено на современном методологическом уровне. Полученные результаты не только представляют интерес с фундаментальной точки зрения, но и могут быть использованы для создания новых тест-систем, основанных на принципах мультипараметрического анализа, для выявления генетических детерминант антибиотикорезистентности. По научной новизне и практической значимости диссертационная работа Поболеловой Ю.И. соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук, а автор заслуживает присуждения ей искомой степени по специальностям 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 03.01.04 – биохимия.

12 мая 2017 г.

Зав. лабораторией антибиотикорезистентности
НИИ антимикробной химиотерапии
ФГБОУ ВО Смоленский государственный медицинский университет
Минздрава России,
кандидат биологических наук



Эйдельштейн М.В.

Адрес места работы: 214019, г. Смоленск, ул. Кирова, д. 46А
Раб. телефон: (4812) 450602
E-mail: mikhail.edelstein@antibiotic.ru

Подпись	<i>Эйдельштейн М.В.</i>
Начальник	заверяю
управления кадров	<i>Мазурова</i> О.И. Мазурова
12	мая 2017 год

