

Заключение Комиссии диссертационного совета Д 208.046.01 при ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора по кандидатской диссертации Змеевой Татьяны Алексеевны на тему: «Повышение эффективности методов санитарно-микробиологических исследований воды с использованием современных мембранных технологий и способов детекции» по специальности 03.02.03 – микробиология

Научный руководитель:

Малышев Владимир Васильевич – профессор кафедры микробиологии федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, доктор медицинских наук (14.00.30 - эпидемиология), доцент

Диссертационная работа Змеевой Т.А. соответствует специальности 03.02.03 – микробиология (медицинские науки).

Работа посвящена повышению эффективности методов санитарно-микробиологических исследований водных объектов с использованием фильтрующих мембран, эффективных по извлекаемости бактерий и концентрированию вирусов из воды, вакуумного и напорного режимов фильтрации, и современных методов детекции. На основании проведенного исследования, оценена эффективность извлекаемости бактерий из воды мембранами с различным диаметром пор (0,2 мкм и 0,45 мкм) при проведении бактериологического посева методом мембранный фильтрации модельного водоема *Escherihia coli*. Определена эффективность концентрирования вирусов из воды различными микрофильтрационными мембранами со средним диаметром пор 0,2 мкм, в том числе капроновых мембран с положительным зарядом (экспериментальный материал), путем фильтрации модельных водоемов ротавирусов в вакуумном и напорном режиме. Выявлена различная степень концентрирования ротавирусов при вакуумном и напорном режимах фильтрации, определена эффективность сорбции и элюции ротавирусов из воды разными мембранами. Для обнаружения маркеров ротавирусов (антител и рибонуклеиновой кислоты) в элюатах воды использованы различные методы детекции (полимеразная цепная реакция со стадией обратной транскрипции, иммуноферментный анализ, иммунохроматографический анализ и реакция агглютинации латекса). Проведена апробация наиболее эффективных фильтрующих мембран для пробоподготовки и обнаружения санитарно-показательных и патогенных микроорганизмов в водных объектах окружающей среды в натурных исследованиях. Разработан макет переносного малогабаритного комплекта для пробоподготовки и детекции кишечных микроорганизмов в воде, который позволяет проводить санитарно-бактериологический и санитарно-вирусологический контроль водных объектов на месте отбора проб, что сокращает время получения предварительного результата по определению *E. coli* до 12 часов и детекции ротавирусов до 2,5-3 часов (получено уведомление о положительном результате формальной экспертизы заявки на изобретение, регистрационный № 2017108402 от 14.03.2017 г. и решение о выдаче патента на полезную модель, регистрационный № 2017108400 от 14.03.2017 г.).

Теоретической значимостью работы является то, что новые данные об эффективности фильтрующих материалов в отношении извлекаемости *E. coli* и концентрирования ротавирусов из воды позволяют повысить эффективность использования мембранных технологий в санитарно-микробиологических исследованиях воды. Полученные результаты о различной эффективности фильтрующих материалов при напорной и вакуумной фильтрации для пробоподготовки санитарно-микробиологических исследований воды обосновывают необходимость применения вакуумной фильтрации. Приведены данные о большей эффективности

удержания *E. coli* при извлечении из воды фильтрующими мембранами из ацетата целлюлозы и нитрата целлюлозы со средним диаметром пор 0,45 мкм, в сравнении с теми же мембранами со средним диаметром пор 0,2 мкм и мембранными из смеси сложных эфиров целлюлозы и полиамида. Сведения об изменении типичных свойств *E. coli*, удержанных на фильтрах из полиамида с размером пор 0,2 мкм и инкубированных на среде Эндо, имеют эпидемиологическое значение, так как полученные на таких фильтрах ложноотрицательные результатыискажают реальную картину микробной загрязненности воды.

Применение инновационных экспериментальных микрофильтрационных мембран из капрона с положительным зарядом для извлечения ротавирусов из воды в режиме вакуумной фильтрации позволило получить большую их концентрацию на порядок, чем на известных в практике фильтрующих мембранных из полиамида и других материалов; в результате проведена эффективная детекция в элюатах ротавирусных маркеров (антигены) экономичными экспресс-тестами (метод ИХА и РАЛ).

Практическая значимость заключается в том, что полученные результаты экспериментальных исследований эффективности микрофильтрационных материалов для концентрирования ротавирусов из воды свидетельствуют о возможности применения простых и относительно недорогих методов детекции (ИХА, РАЛ) при проведении санитарно-вирусологических исследований воды. Разработанный макет комплекта для пробоподготовки и детекции кишечных микроорганизмов в воде дает возможность проводить оценку безопасности водопользования населения, военнослужащих Вооружённых сил Российской Федерации, других силовых структур с достаточной эффективностью и низкими экономическими затратами в полевых условиях, в различных экстремальных ситуациях.

Материалы исследования реализованы в следующих формах: подготовлено учебное пособие «Использование мембранных технологий в санитарной микробиологии» (в соответствии с Планом редакционно-издательской деятельности ГВМУ МО РФ на 2016 год от 31.12.2015 г.); подготовлен раздел проекта методических рекомендаций для Вооруженных сил РФ по инновационной пробоподготовке возбудителей острых кишечных инфекций в водных объектах окружающей среды с помощью фильтрационных мембранных технологий и методов детекции; основные положения диссертационной работы внедрены в учебный процесс на кафедрах: микробиологии; общей и военной эпидемиологии; общей и военной гигиены (с курсом военно-морской и радиационной гигиены) федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации (акт внедрения № 194 от 14.07.2017 г.).

Предложенные методики по экспресс-детекции маркеров (антигенов) возбудителей острых кишечных вирусных инфекций и подсчету *E. coli* в пробах воды внедрены в повседневную работу ФГКУ «985 ЦГСЭН» Минобороны России (акт внедрения № 3 от 22.02.2017 г.), в практику работы Центра исследования воды МУП города Череповца «Водоканал» (акт внедрения № 1 от 17.02.2017 г.) и Санкт-Петербургского научно-исследовательского центра экологической безопасности Российской академии наук (акт внедрения № 1 от 20.03.2017 г.).

Работа выполнена с применением современных методов исследования, адекватных поставленным задачам. Представленные результаты являются достоверными, так как был проведен достаточный объем исследований. Научные положения и выводы, сформулированные Змеевой Т.А., логически вытекают из результатов проведенных исследований.

По объему проведенных исследований, их новизне и научно-практической значимости работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на

соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Комиссия не установила в диссертации и автореферате фактов некорректного заимствования материалов без ссылок на первоисточники. В системе «АНТИПЛАГИАТ» оригинальность исследования составила 91,01%.

Результаты исследований были представлены и обсуждены на: Российской-Китайской научно-практической конференции по медицинской микробиологии и клинической микологии (Санкт-Петербург, 2015 г.; 2016 г.); Всероссийской научно-практической конференции «Новые методы экспресс-диагностики микроорганизмов в медицине, фармации, ветеринарии и экологии» (Санкт-Петербург, 2015 г.); научно-практической конференции «Лабораторная диагностика в решении проблем современной клинической медицины» (Санкт-Петербург, 2015 г.); заседании отделения Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов в Санкт-Петербурге и Ленинградской области (Санкт-Петербург, 2016 г.); «3-м Азиатско-Тихоокеанском конгрессе по военной медицине» (Санкт-Петербург, 2016 г.); II Национальном конгрессе бактериологов «Состояние и тенденции развития лабораторной диагностики инфекционных болезней в современных условиях» (Санкт-Петербург, 2016 г.); «Международной конференции по медицине катастроф и военной медицине» (Дюссельдорф, 2016 г.); трехстороннем форуме «Gulf of Finland Trilateral Scientific Forum» (Хельсинки, 2016 г.); Юбилейной научно-практической конференции, посвященной 15-летию образования НИЦ ВМедА имени С.М. Кирова «Современные проблемы охраны здоровья военнослужащих» (Санкт-Петербург, 2016 г.); Научной конференции, посвященной тематике водоснабжения и водоотведения малых и средних городов: «Практические вопросы снижения себестоимости и улучшения качества предоставления услуг в условиях природно-климатических изменений» (Череповец, 2017 г.); Российской научно-практической конференции «Актуальные проблемы инфекционной патологии» (Санкт-Петербург, 2017 г.); Всероссийской научно-практической конференции «Иновации в медицинской, фармацевтической, ветеринарной и экологической микробиологии» (Санкт-Петербург, 2017 г.).

По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, в которых достаточно полно отражено содержание диссертации, из них 3 статьи в ведущих рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ, и 7 тезисов в рецензируемых изданиях.

Диссертация соответствует профилю Диссертационного совета.

В качестве **ведущей организации** предлагается утвердить: федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

В качестве **официальных оппонентов** предлагаются:

Кветная Ася Степановна – доктор медицинских наук (03.02.03), профессор, ведущий научный сотрудник отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства». Червинец Вячеслав Михайлович – доктор медицинских наук (03.02.03), профессор, заведующий кафедрой микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Согласие оппонентов и ведущей организации имеются.

Заключение: комиссия диссертационного совета рекомендует диссертацию Змеевой Татьяны Алексеевны: «Повышение эффективности методов санитарно-микробиологических исследований воды с использованием современных мембранных технологий и способов детекции» по специальности 03.02.03 – микробиология к приему к защите.

Заключение подготовили члены Диссертационного совета:

Председатель:

Федеральное бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, заместитель директора по клинико-эпидемиологической работе
доктор медицинских наук

Е.П. Селькова

Члены комиссии:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет),

профессор кафедры фармацевтической технологии и фармакологии
доктор медицинских наук, профессор

В.И. Кочеровец

Федеральное бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,
главный научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии
доктор биологических наук

В.М. Лахтин

ООО «НПО Петровакс Фарм», научный консультант
доктор медицинских наук, профессор

А.В. Степанов