

## О Т З Ы В

**официального оппонента на диссертационную работу Сычева Александра Владимировича «Количественный анализ характеристик бактериального роста на основе колориметрических данных», представленной на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.5.2 – Биофизика**

**Актуальность темы.** Диссертационная работа посвящена разработке нового метода количественной индикации и определения параметров роста микробных популяций на основе колориметрических измерений. В качестве основы таких измерений в работе предлагается использовать тест с применением резазурина (REMA). Основным драйвером интереса к подобной тематике стали события 2020 года, а именно, эпидемия COVID-19, когда стало окончательно ясно, что нужны быстрые, эффективные и относительно недорогие методы количественной оценки роста микробных культур и влияния лекарственных препаратов на этот рост. Диссертация является одной из многих работ, которые пытаются восполнить этот пробел. Однако, в отличие от существенного числа подобных работ, в диссертации предложен конкретный, достаточно простой и эффективный способ решения этой проблемы.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций.** Диссертантом изучены и проанализированы существующие методы количественной индикации роста микробных популяций. Список использованной литературы содержит включает 149 наименований. Одна из сильных сторон работы состоит в том, что автор достаточно корректно использует различные научные методы обоснования полученных результатов. Соискатель провел различные эксперименты (фотографический и фотометрический анализ, различные колориметрические тесты) для подтверждения своих результатов. Более того, в работе проведены не только экспериментальные исследования, но и выполнены теоретические оценки динамики роста бактерий. Проведено сопоставление этих оценок с экспериментальными данными на примере тестовой культуры *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 и *Lactobacillus fermentum* 90T-C4. Другим ярким примером обоснованности полученных результатов является эксперименталь-

ное подтверждение автором кривых регистрируемой динамики, соответствующей популяционному росту микробных культур в индикаторных средах. На мой взгляд, все результаты и выводы соискателя обоснованы, они опираются на большой объем экспериментальных работ и теоретических оценок, полученных в ходе проведения работы.

**Оценка новизны и оригинальности работы.** Достоинством диссертационной работы является ее прикладная направленность. В ходе выполнения работы был разработан новый количественный метод определения роста микроорганизмов при помощи портативного микробиологического анализатора. Этот метод базируется на согласовании интенсивности светопропускания с колориметрическими характеристиками индикаторной среды. Помимо этого, была проведена дополнительная верификация метода и показано, что он метод корректно учитывает особенности цветовой фильтрации осветителя. На основе предложенного метода автор получил ряд важнейших результатов, а именно:

1) новые данные об активности в отношении возбудителя туберкулеза с множественной лекарственной резистентностью для ряда новых перспективных препаратов нитрофуранового ряда; 2) обнаружил новое явление спонтанной синхронизации роста и деления клеток *M. tuberculosis*, растущих в специальных средах.

#### **Замечания по диссертационной работе в целом.**

1. При определении взаимосвязи концентрационных и колориметрических характеристик индикатора, используемого в резазуриновом тесте (Гл. 2) не проведено достаточных исследований влияния рН на результаты резазуринового теста. Хотя сам автор отмечает важность этого показателя, в работе нет никаких указаний (кроме самого резазуринового теста) при каких значениях рН выполнялись все последующие тесты и экспериментальные проверки, в частности REМА-тест (Гл. 3), и тесты по индикации экспериментального роста культуры лактобактерий (Гл. 4).

2. В главе 3 приведен график «доза–отклик» для данных по флуоресценции и колориметрии и проведена обработка этих данных на основании функции Хилла. Эта кривая включает эмпирический параметр - степенной показатель функции Хилла. На мой взгляд, имело смысл представить не только оконча-

тельные графики, но и этот показатель, а также степень достоверности его определения для каждого из указанных методов.

3. В главе 4 для исследования роста бактерий используется уравнение Ферхюльста, задающее рост численности популяции. Следует отметить, что данное уравнение адекватно описывает кинетику, только в ограниченном числе случаев (в том, числе для того случая, который рассмотрел соискатель). Существует довольно большой ряд практических случаев, когда динамика роста не описывается этой логистической кривой. Поэтому было разумно провести оценку влияния выбора модели роста, чтобы избежать ошибок, связанных с неадекватным выбором модели роста.

Отмеченные недостатки снижают общность исследования, но они не влияют на главные теоретические и практические результаты диссертации.

**Заключение.** Диссертация является законченным научно-исследовательским трудом, выполненным автором самостоятельно на высоком научном уровне. В работе приведены научные результаты, позволяющие ее квалифицировать как разработку эффективного и недорогого способа количественной оценки роста микробных культур и получения надежных оценок влияния лекарственных препаратов на этот рост. Выводы, сделанные автором, позволяют реализовать это способ для исследования широкого ряда различных клинических антибиотико-резистентные штаммов бактерий и будут способствовать разработке новых веществ нитрофуранового ряда в качестве перспективных лекарственных средств. Новые научные результаты, полученные соискателем, имеют существенное значение для биофизики. Они являются ярким примером комбинирования глубины фундаментальных исследований, проведенных соискателем и практическим выходом, позволяющим получать конкретные результаты для эффективного тестирования и разработки новых лекарственных средств. Работа базируется на достаточном числе теоретических и экспериментальных исходных данных. Проведено большое число расчетов, исследован достаточно широкий ряд практических примеров применения предложенного метода. В заключение каждой главы приведены выводы. Все полученные результаты и рекомендации обоснованы. Основные положения диссертации нашли отражение в публикациях автора, а также были доложены на достаточно представительных конференциях.

