

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 64.1.004.01 НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «МОСКОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМ. Г.Н. ГАБРИЧЕВСКОГО» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 11 ноября 2021 г. № 8.

О присуждении Боровковой Екатерине Андреевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

**Диссертация** «Использование аутопробиотикотерапии для коррекции микрoэкологических нарушений кишечника» по специальности 1.5.11. – микробиология (биологические науки) принята к защите 09.09.2021г. протокол № 5 диссертационным советом 64.1.004.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 10). Диссертационный совет утвержден Приказом Министерства образования и науки РФ № 714 / нк «О советах по защите докторских и кандидатских диссертаций» от 2 ноября 2012 г., приказ № 791/ нк от 09.12.2020 г. част. изм., приказ № 1040/нк от 13.10.2021 г. част. изм.

**Соискатель** Боровкова Екатерина Андреевна, 1985 года рождения. В 2008 году окончила Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Южный Федеральный Университет», биолого-почвенный факультет по направлению «Биология».

С 2012 по 2018 год Боровкова Е.А. проходила обучение в заочной аспирантуре по специальности 03.02.03 – микробиология (биологические науки) при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Справка об обучении № 1294 выдана 03.07.2018 года. Диплом об окончании аспирантуры № 034 выдан 31.08.2018 года. С 31.03.2021 года была прикреплена в качестве соискателя к кафедре клинической лабораторной диагностики с курсом бактериологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации для завершения работы над диссертацией на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности: 03.02.03 – микробиология (биологические науки).

В период подготовки диссертации Боровкова Е.А. работала в должности биолога бактериологической лаборатории в Государственном бюджетном учреждении здравоохранения Ставропольского края «Кисловодская городская больница».

Диссертация выполнена на кафедре клинической лабораторной диагностики с курсом бактериологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Научный руководитель:** Алиева Елена Васильевна - доктор медицинских наук (03.00.07 – микробиология, 03.00.23 - биотехнология), доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра клинической лабораторной диагностики с курсом бактериологии, профессор кафедры.

**Официальные оппоненты:**

Ильин Вячеслав Константинович – доктор медицинских наук (14.00.32 - авиационная, космическая и морская медицина, 03.00.07 - микробиология), профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр Российской Федерации - Институт медико-биологических проблем Российской академии наук», отдел санитарно-гигиенической безопасности человека в искусственной среде обитания, лаборатория микробной экологии человека, заведующий отделом, заведующий лабораторией; Червинцев Вячеслав Михайлович - доктор медицинских наук (03.00.07 - микробиология), профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии, заведующий кафедрой.

**Ведущая организация:** Федеральное бюджетное учреждение науки «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в своем положительном заключении, подписанном д.б.н., доцентом Соловьевой Ириной Владленовной, заведующей лабораторией микробиома человека и средств его коррекции, указала, что диссертация является самостоятельной завершённой научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача – коррекция нарушений качественного и количественного состава микробиоты кишечника, вызванных применением антибактериальных препаратов, с помощью аутопробиотиков из аутоштаммов семейства *Lactobacillaceae*.

**Соискатель имеет** 10 печатных работ, опубликованных по теме диссертации, из них 3 статьи в рецензируемых изданиях, 1 - в другом издании, 5 тезисов в рецензируемых изданиях, 1 – в материалах конференций, общим объёмом 41 страница и авторским вкладом - 28 страниц. Наиболее значимые работы: 1) Цапиева, А.Н. Разработка метода идентификации индигенных лактобацилл кишечника при создании аутопробиотиков / А.Н. Цапиева, Е.А. Боровкова, А.Б. Карасева, Е.В. Алиева, А.Н. Суворов // Вопросы детской диетологии. – 2019. – Т. 17, № 3. – С. 52-59; 2) Боровкова, Е.А. Оценка безопасности индигенных лактобацилл кишечника, перспективных в качестве аутопробиотиков / Е.А. Боровкова, Е.В. Алиева, Д.А. Ковалёв, Н.А. Шапаков, А.Б. Карасёва, А.Н. Цапиева, А.Н. Суворов, D. Guo, J. Yang, S. Zhao // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и Технические Науки. - 2020. - № 7. – С. 14-19; 3) Боровкова, Е.А. Микробиологическое исследование микрофлоры толстого кишечника на дисбактериоз в оценке эффективности аутопробиотикотерапии / Е.А. Боровкова, Е.В. Алиева // Естественные и технические науки. – 2020. - № 8 (146). – С. 24-33.

**На диссертацию и автореферат поступило** 5 положительных отзывов от: 1) д.м.н., профессора Тюменцевой И.С., главного научного сотрудника научно-производственной лаборатории препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора; 2) д.м.н., профессора Хараевой З.Ф., заведующей кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Кабардино-

Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова» Минобрнауки РФ; 3) д.б.н., профессора Тартаковского И.С., руководителя лаборатории легионеллёза ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ; 4) д.м.н., Кафтыревой Л.А., заведующей лабораторией кишечных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера Роспотребнадзора; 5) д.м.н., доцента Ермоленко Е.И., заведующей лабораторией биомедицинской микрoэкологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Минобрнауки РФ. В отзыве д.м.н., доцента Ермоленко Е.И. в качестве замечания указано на неудачное использование термина «микрофлора», который в последнее время все чаще заменяется на «микробиоту», и из материалов, представленных в автореферате, не понятно, производился ли анализ изменения состава микробиоты в зависимости от антибиотикотерапии. В отзывах отмечено, что в ходе диссертационного исследования определено видовое разнообразие и изучены биологические свойства индигенных штаммов *Lactobacillus spp.*, выделенных из кишечника жителей Северо-Кавказского федерального округа (СКФО), описана структура генома и проведён поиск генов антибиотикорезистентности аутоштаммов *L.paracasei* 347–16, *L.plantarum* 123–17 и *L.plantarum* 83–18, охарактеризован микробный пейзаж кишечника добровольцев СКФО, изменённый под воздействием антибиотиков и аутопробиотиков, доказана эффективность аутопробиотикотерапии и показана способность аутопробиотиков на основе индигенных лактобацилл восстанавливать нарушенный антибиотиками микробиоценоз кишечника, достоверно повышая и стабилизируя содержание *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* и *E.coli*.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тематикой научных исследований, компетентностью в вопросах, рассмотренных в диссертации, большим опытом работы в изучении значимых для здоровья человека микроорганизмов и способов их идентификации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований разработано новое решение актуальной научной задачи коррекции дисбиотических нарушений кишечника, вызванных применением антибактериальных препаратов с помощью аутопробиотикотерапии. Предложено использование аутопробиотиков на основе аутоштаммов *Lactobacillus spp.*, выделенных из микробиоты кишечника человека. Доказана способность аутопробиотиков на основе индигенных лактобацилл восстанавливать нарушенный антибиотиками микробиоценоз кишечника, достоверно повышая и стабилизируя содержание *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* и типичных *E.coli*. Введен алгоритм микробиологического мониторинга состояния микробиоценоза кишечника добровольцев под влиянием антибиотиков и аутопробиотиков на основе *Lactobacillus spp.*

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказана эффективность аутопробиотикотерапии с использованием аутоштаммов лактобацилл в коррекции микробиоценоза кишечника, нарушенного применением антибиотиков в группе из 78 добровольцев, проживающих на территории Северо-Кавказского федерального округа, что расширяет область применения данной методики, которая может быть использована для профилактики и устранения побочных эффектов использования нестероидных противовоспалительных препаратов, гормонотерапии и др. Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс микробиологических и молекулярно-генетических методов исследования, которые позволили всесторонне изучить биологические свойства и пробиотический потенциал индигенных штаммов

*Lactobacillus spp.*, выделенных из кишечника жителей Северо-Кавказского федерального округа, для обоснования возможности их использования в качестве эффективных и безопасных аутопробиотиков. Изложены этапы проведения микробиологического мониторинга состояния микробиоты кишечника, позволяющие выявлять возможную степень дисбиотических нарушений и устанавливать изменения микробиоценоза под влиянием различных факторов, как нарушающих микробный баланс, так и восстанавливающих его, что дает возможность использовать данный алгоритм для оценки эффективности аутопробиотикотерапии. Раскрыты качественные и количественные изменения микробного пейзажа кишечника добровольцев в динамике под воздействием антибиотиков и аутопробиотикотерапии. Изучено и определено видовое разнообразие, адгезивность, антагонистическая активность и антибиотикорезистентность индигенных штаммов *Lactobacillus spp.*, выделенных из кишечника жителей Северо-Кавказского федерального округа, и выявлено, что преобладающими в микробиоте кишечника видами являются *L.rhamnosus* (53,5%), *L.plantarum* (33,9%), *L.paracasei* (9,6%), *L.fermentum* (2,4%) и *L.brevis* (0,6%). Большинство штаммов *Lactobacillus spp.* (76,0%) обладали средней адгезивной активностью и высокой антагонистической активностью к патогенным и условно-патогенным тест-культурам (от 59,0% в отношении *S.typhimurium* № 4922 до 100% в отношении *P.aeruginosa* ATCC 27853). Впервые изучена структура генома аутоштаммов *L.paracasei* 347–16, *L.plantarum* 123–17 и *L.plantarum* 83–18 и выявлены типичные для лактобацилл гены антибиотикорезистентности. Проведена модернизация схемы посева биоматериала для микробиологического исследования содержимого кишечника, позволяющая уже на первые сутки роста оценить содержание микроорганизмов родов *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus* и других, а также предположить наличие НФГОБ за счет включения цитратного агара в перечень используемых питательных сред.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработанный алгоритм микробиологического мониторинга состава микробиоценоза кишечника и коррекции микрoэкологических нарушений с помощью аутопробиотиков на основе *Lactobacillus spp.* внедрен в работу Пятигорской городской поликлиники № 1 города Пятигорска (акт внедрения от 17.05.2021 г.). Модернизирована и внедрена в работу бактериологической лаборатории Кисловодской городской специализированной инфекционной больницы города Кисловодска схема посева биоматериала при проведении исследований микробиоценоза кишечника (акт внедрения от 21.05.2021 г.). Определены и депонированы в базу данных GenBank NCBI полногеномные нуклеотидные последовательности аутоштаммов *L.paracasei* 347-16, *L.plantarum* 123-17 и *L.plantarum* 83-18. Создан в контексте персонифицированной медицины алгоритм коррекции микрoэкологических нарушений кишечника с помощью аутопробиотиков на основе индигенных штаммов *Lactobacillus spp.* Представлен двухнедельный курс аутопробиотикотерапии дисбиотических нарушений кишечника, вызванных применением антибактериальных препаратов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что для экспериментальных работ объем фактического материала является достаточным, методы статистической обработки подобраны адекватно, эксперименты проведены на высоком научно-методическом уровне с применением современных методов и использованием сертифицированного оборудования.

Диссертантом изучены биологические свойства 159 штаммов лактобацилл, выделенных из клинического материала от пациентов медицинских учреждений Северо-Кавказского федерального округа. Аутопробиотикотерапия проведена 78 добровольцам (28 мужчинам и 50 женщинам в возрасте от 20 до 60 лет). Четырёхкратное культуральное исследование микробиоценоза кишечника в динамике (до и после антибактериальной терапии, после аутопробиотиков и три месяца спустя после аутопробиотикотерапии) проведено каждому добровольцу. В работе применяли современные высокочувствительные, специфичные микробиологические и молекулярно-генетические методы, которые поддерживаются программным обеспечением, позволяющим проводить биоинформационный и статистический анализ данных на сертифицированном и поверенном оборудовании. Теория исследования построена на известных данных и согласуется с опубликованными экспериментальными данными, посвященными изучению биологических свойств лактобацилл, выделенных из кишечника человека, и влиянию антибактериальной терапии на микробиоценоз кишечника. Идея базируется на отечественных и мировых данных в области изучения вопросов коррекции микробиоты кишечника. Использовано сравнение авторских данных и данных, полученных ранее в работах по установлению таксономической принадлежности лактобацилл, преобладающих в кишечнике человека, видоспецифичности адгезивной активности и фенотипической антибиотикорезистентности лактобацилл. Проведено сопоставление данных автора и других исследователей по частоте распространения дисбиотических нарушений кишечника в Северо-Кавказском федеральном округе и других регионах РФ, влиянию антибиотиков на микробиоту кишечника. Установлено, что большинство результатов исследования согласуется с результатами других авторов, представленными в независимых источниках. Используются классические и современные методы исследования, параметрические и непараметрические методы статистики, специализированные компьютерные программы и международные базы данных, что свидетельствует о всестороннем и качественном анализе материала.

Личное участие автора заключалось в анализе литературных источников, разработке дизайна научного исследования и выполнении всего объема микробиологических исследований, включавшим выделение, идентификацию, изучение биологических свойств и пробиотического потенциала индигенных штаммов *Lactobacillus spp.*, приготовлении всех партий аутопробиотических кисломолочных заквасок индивидуально для каждого добровольца. Четырёхкратное микробиологическое исследование фекалий для каждого добровольца проводилось диссертантом совместно с заведующей бактериологической лабораторией, врачом-бактериологом высшей квалификационной категории ГБУЗ СК «Кисловодская городская больница» Фроловой Т.В. Идентификация лактобацилл с помощью метода М-ПЦР проведена совместно с научными сотрудниками Отдела молекулярной биологии ФГБНУ «Институт Экспериментальной Медицины» Карасёвой А.Б. и Цапиевой А.Н. Биоинформационный анализ данных полногеномного секвенирования аутоштаммов *L.paracasei* 347–16, *L.plantarum* 123–17 и *L.plantarum* 83–18 проведён совместно с сотрудниками ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора» Ковалёвым Д.А. и Шапаковым Н.А. Коррекция микрoэкологических нарушений кишечника, вызванных применением антибиотиков в группе добровольцев, проводилась на базе ГБУЗ СК «Кисловодская городская больница» совместно с заведующей отделением гипербарической оксигенации, врачом-терапевтом Биджиевой Ф.А., заведующим урологическим отделением, врачом-урологом высшей

квалификационной категории, д.м.н. Боташевым А.А., врачом-хирургом высшей квалификационной категории Севостьяновым А.С. под руководством заместителя главного врача по медицинской части ГБУЗ СК «Кисловодская городская больница», к.м.н. Халина Д.А. Диссертантом самостоятельно проведены статистическая обработка и анализ результатов исследования, сформулированы выводы и перспективы дальнейшей разработки темы.

На заседании 11 ноября 2021 года диссертационный совет принял решение присудить Боровковой Екатерине Андреевне ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. – микробиология (биологические науки).

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 12 докторов наук по специальности 1.5.11. – микробиология, участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 17, против – 0, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета,  
доктор биологических наук, профессор

Алёшкин Владимир Андрианович

Ученый секретарь диссертационного совета,  
доктор медицинских наук, профессор

Борисова Ольга Юрьевна

12.11.2021

