

Заключение комиссии Диссертационного совета 64.1.004.01 при Федеральном бюджетном учреждении 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 кандидатской диссертации Боровковой Екатерины Андреевны на тему: «Использование аутопробиотикотерапии для коррекции микрoэкологических нарушений кишечника» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. – микробиология

Научный руководитель:

Алиева Елена Васильевна - доктор медицинских наук (03.00.07 – микробиология, 03.00.23 - биотехнология), доцент, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом бактериологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России).

Диссертационная работа Боровковой Е.А. соответствует специальности: 1.5.11. - микробиология.

Работа посвящена оценке эффективности аутопробиотикотерапии в коррекции микрoэкологических нарушений кишечника, вызванных применением антибактериальных препаратов, а также изучению биологических свойств и пробиотического потенциала индигенных штаммов *Lactobacillus spp.*, выделенных из кишечника жителей Северо-Кавказского федерального округа (СКФО). В ходе проведенных исследований Боровковой Е.А. определено видовое разнообразие *Lactobacillus spp.* и выявлено, что преобладающими видами в микробиоте кишечника жителей СКФО являются *L.rhamnosus* (53,5%), *L.plantarum* (33,9%), *L.paracasei* (9,6%), *L.fermentum* (2,4%) и *L.brevis* (0,6%). Продемонстрировано наличие значительного пробиотического потенциала у большинства штаммов *Lactobacillus spp.*, выразившегося в средней адгезивной активности 76,0% штаммов и высокой антагонистической активности к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам большинства штаммов *Lactobacillus spp.* (от 59,0% в отношении *S.typhimurium* ATCC 14028 до 100% в отношении *P.aeruginosa* ATCC 27853).

В результате впервые проведенного полногеномного секвенирования аутоштаммов *L.paracasei* 347-16, *L.plantarum* 123-17 и *L.plantarum* 83-18 описана структура генома и выявлены типичные для лактобацилл гены антибиотикорезистентности. Установлено, что в исследованных геномах не содержатся гены *ermB*, *ermC*, *tetW* и *tetM*, ассоциированные с мобильными генетическими элементами, что позволяет безопасно использовать аутопробиотики на основе *L.paracasei* 347-16, *L.plantarum* 123-17 и *L.plantarum* 83-18 с позиции нераспространения детерминант устойчивости к антибиотикам.

Диссертантом проведено культуральное исследование микробиоценоза кишечника 78 добровольцев СКФО в возрасте от 20 до 60 лет до начала антибактериальной терапии. Выявлены нормобиоценоз у 31% лиц и микробиологические нарушения микробиоценоза кишечника I и II степени у 23% и 46% лиц соответственно. Охарактеризован микробный пейзаж кишечника жителей СКФО, изменённый под воздействием антибиотиков, и показано снижение содержания протективной микрофлоры, а именно *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.* и *E.coli* более чем на два порядка, повышение содержания *Candida spp.*, а также снижение

количества условно-патогенных *K.pneumoniae* и *E.aerogenes* вплоть до элиминации *Proteus spp.*, *E.coli lac-*, *E.coli hem+* и *Staphylococcus spp.*

Боровковой Е.А. впервые в исследовании с участием добровольцев доказана эффективность аутопробиотикотерапии в коррекции микрoэкологических нарушений кишечника, вызванных применением антибактериальных препаратов. Показана способность аутопробиотиков на основе индигенных лактобацилл восстанавливать нарушенный антибиотиками микробиоценоз кишечника, достоверно повышая и стабилизируя содержание *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* и типичных *E.coli*.

Теоретическая значимость работы заключается в том, что на основании характеристики биологических свойств и выявления высокого пробиотического потенциала индигенных штаммов *Lactobacillus spp.*, выделенных из кишечника жителей СКФО, возможно применение полученных результатов для создания новых и эффективных региональных пробиотиков. Проведённая в динамике оценка состояния микробиоценоза кишечника до и после антибактериальной терапии, а также после аутопробиотикотерапии в комплексе с созданием индивидуального аутопробиотического препарата на основе индигенных *Lactobacillus spp.* определяет новый методологический подход к коррекции дисбиотических нарушений в контексте персонализированной медицины. Доказанная эффективность аутопробиотикотерапии в коррекции микробиоценоза кишечника, нарушенного применением антибиотиков, расширяет область применения данной методики, которая может быть использована для профилактики и устранения побочных эффектов использования нестероидных противовоспалительных препаратов, гормонотерапии и др.

Практическая значимость диссертационной работы заключается в том, что в ходе проведения исследования были получены и депонированы в базу данных GenBank NCBI следующие полногеномные нуклеотидные последовательности: CP052065 – хромосома *L.paracasei* 347-16, CP052066 - плаزمида 1 *L.paracasei* 347-16, CP052067 – плазмида 2 *L.paracasei* 347-16; CP046656 - хромосома *L.plantarum* 123-17, CP046657 – плазмида 1 *L.plantarum* 123-17, CP046658 – плазмида 2 *L.plantarum* 123-17, CP046659 – плазмида 3 *L.plantarum* 123-17, CP046660 – плазмида 4 *L.plantarum* 123-17; CP046661 – хромосома *L.plantarum* 83-18, CP046662 – плазмида 1 *L.plantarum* 83-18, CP046663 – плазмида 2 *L.plantarum* 83-18, CP046664 – плазмида 3 *L.plantarum* 83-18, CP046665 – плазмида 4 *L.plantarum* 83-18, CP046666 – плазмида 5 *L.plantarum* 83-18, CP046667 - плазмида 6 *L.plantarum* 83-18, CP046668 – плазмида 7 *L.plantarum* 83-18, CP046669 – плазмида 8 *L.plantarum* 83-18.

Предложенный алгоритм микробиологического мониторинга состава микрофлоры кишечника и коррекции микрoэкологических нарушений с помощью аутопробиотиков на основе *Lactobacillus spp.* позволит одновременно решать ряд важных задач: выявлять возможную степень дисбиотических нарушений кишечника; устанавливать качественные и количественные изменения микрофлоры кишечника под воздействием различных факторов, нарушающих микробный баланс, и аутопробиотикотерапии; выделять, отбирать и сохранять с помощью систем криохранения перспективные аутоштаммы *Lactobacillus spp.* для создания на их основе индивидуальных аутопробиотических препаратов. Практическое использование аутопробиотиков на основе бактерий рода *Lactobacillus* позволит оптимизировать лечебную тактику клиницистов и обеспечит персонализированный подход к коррекции нарушенного применением антибиотиков микробиоценоза кишечника.

Материалы диссертации применяются в лечебно-диагностической работе Пятигорской городской поликлиники № 1 города Пятигорска для проведения

микробиологического мониторинга состояния микробиоценоза кишечника и его коррекции с помощью аутопробиотиков на основе *Lactobacillus spp.* (акт внедрения от 17.05.2021 г.). Методологическая база используется в работе бактериологической лаборатории Кисловодской городской специализированной инфекционной больницы города Кисловодска при проведении исследований микробиоценоза кишечника (акт внедрения от 21.05.2021 г.).

Работа выполнена с применением современных методов исследования, адекватных поставленным задачам. Представленные результаты являются достоверными, поскольку проведен достаточный объем исследований. Научные положения и выводы, сформулированные Боровковой Е.А., логически вытекают из результатов, полученных в ходе исследований.

По объему проведенных исследований, их новизне и научно-практической значимости работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.11. – микробиология.

Комиссия не установила в диссертации и автореферате фактов некорректного заимствования материалов без ссылок на первоисточники. Анализ проверки с помощью системы «Антиплагиат» на сайте www.antiplagiat.ru показал, что оригинальный текст составляет 83,76%, самоцитирование – 10,27%, цитирование – 0,054%.

Материалы исследования и основные положения диссертационной работы были доложены и обсуждены на 6 российских научных конференциях и конгрессах, в том числе с международным участием.

Диссертация не содержит недостоверных сведений об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации. По материалам диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых изданиях, 1 - в другом издании, 6 – в материалах конференций.

Диссертация соответствует профилю Диссертационного совета 64.1.004.01. В качестве **ведущей организации** предлагается утвердить 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. Согласие ведущей организации имеется.

В качестве **официальных оппонентов** предлагаются:

- Ильин Вячеслав Константинович - доктор медицинских наук (14.00.32 - авиационная, космическая и морская медицина, 03.00.07 - микробиология), профессор, заведующий отделом санитарно-гигиенической безопасности человека в искусственной среде обитания, заведующий лабораторией микробной экологии человека Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр Российской Федерации - Институт медико-биологических проблем Российской академии наук».
- Червинец Вячеслав Михайлович - доктор медицинских наук (03.00.07 - микробиология), профессор, заведующий кафедрой микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Гверской государственной медицинской академии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Согласие официальных оппонентов имеется.

Заключение:

комиссия Диссертационного совета 64.1.004.01. рекомендует диссертацию Боровковой Екатерины Андреевны «Использование аутопробиотикотерапии для коррекции микробиологических нарушений кишечника» по специальности: 1.5.11. – микробиология к приему к защите.

Заключение подготовили члены комиссии Диссертационного совета 64.1.004.01:

Председатель:

Главный научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,
доктор биологических наук

В.М. Лахтин

Члены комиссии:

Руководитель отдела медицинской биотехнологии
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,
доктор биологических наук, доцент

Е.А. Воронаева

Главный научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,
доктор биологических наук, профессор РАН

А.В. Алёшкин

Управляющий директор УК Фармаклон,
доктор медицинских наук, профессор

А.В. Степанов