



Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
«НИЖЕГОРОДСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ
им.академика И.Н. Блохиной»
(ФБУН ННИИЭМ им.академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора)**

ул. Малая Ямская, д. 71, г. Нижний Новгород, 603950 тел. (831) 469-79-01, факс (831) 469-79-20 E-mail: micro@nniiem.ru

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН ННИИЭМ
им.академика И.Н.Блохиной
Роспотребнадзора,
доктор медицинских наук
Зайцева Наталья Николаевна



2021 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального бюджетного учреждения 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 о научно-практической ценности диссертационной работы Боровковой Екатерины Андреевны на тему «Использование аутопробиотикотерапии для коррекции микрoэкологических нарушений кишечника», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. – микробиология (биологические науки).

Актуальность темы выполненной работы

Микробиота кишечника представляет собой самую многочисленную, сложную, пространственно неоднородную совокупность разнообразных микроорганизмов, общий геном которых на порядок превышает геном человека. К настоящему времени накоплен целый ряд данных о зависимости здоровья человека от состояния его микробиоты, а также о взаимосвязи

дисбиотических нарушений кишечника с нейродегенеративными, сердечно-сосудистыми, желудочно-кишечными заболеваниями и различными нарушениями обмена веществ.

Среди многочисленных эндогенных и экзогенных факторов, негативно влияющих на микробиоценоз кишечника, антибиотики являются основной причиной изменения качественного состава и снижения численности облигатных микроорганизмов. Восстановление и/или коррекция нормобиоты кишечника после антибактериальной терапии необходимы в большинстве случаев, иначе микробиологические нарушения могут прогрессировать, что приведет к развитию дисбиоза.

Аутопробиотикотерапия – новое направление традиционной пробиотикотерапии, которое предполагает использование аутоштаммов индигенных облигатных микроорганизмов для профилактики дисбиотических нарушений и коррекции микробиоты. Метод аутопробиотикотерапии позволяет осуществлять персонализированный подход к лечению каждого пациента, тем самым повышая эффективность пробиотикотерапии. Таким образом, учитывая высокую частоту дисбиозов, развивающихся вследствие антибактериальной терапии, диссертационная работа Боровковой Екатерины Андреевны, посвященная оценке эффективности аутопробиотикотерапии с использованием аутоштаммов *Lactobacillus spp.* для коррекции микробиологических нарушений кишечника, вызванных применением антибактериальных препаратов, является важной и актуальной.

Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научная новизна результатов, полученных диссертантом, заключается в определении видового разнообразия индигенных штаммов *Lactobacillus spp.*, выделенных из кишечника жителей Северо-Кавказского федерального округа с помощью микробиологических и молекулярно-генетических методов идентификации. Автором 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%).

Диссертантом проведены исследования биологических свойств индигенных *Lactobacillus spp.*, в результате которых продемонстрировано наличие значительного пробиотического потенциала, выражавшегося в средней адгезивной активности 76,0% штаммов и высокой антагонистической активности к патогенным и условно-патогенным тест-культурам большинства

штаммов *Lactobacillus spp.* (от 59,0% в отношении *S.typhimurium* № 4922 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 Боровковой Е.А. 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. Установлено, что использование аутопробиотиков на основе *L.paracasei* 347–16, *L.plantarum* 123–17 и *L.plantarum* 83–18 с позиции нераспространения детерминант устойчивости к антибактериальным препаратам является безопасным.

Проведенное с помощью классического бактериологического метода исследование микробиоценоза кишечника жителей Северо-Кавказского федерального округа в возрасте от 20 до 60 лет до начала антибактериальной терапии показало наличие нормобиоценоза у 31% лиц и дисбиотических нарушений кишечника I и II степени у 23% и 46% лиц соответственно. Охарактеризован микробный пейзаж кишечника добровольцев Северо-Кавказского федерального округа, измененный под воздействием антибиотиков, и показано снижение содержания протективной микрофлоры, а именно *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.* и *E.coli* более чем на два порядка, повышение количества *Candida spp.*, а также снижение количества условно-патогенных *Klebsiella spp.* и *Enterobacter spp.* вплоть до элиминации *Proteus spp.*, *E.coli lac-*, *E.coli hem+* и *Staphylococcus spp.*

Впервые в исследовании с участием добровольцев (N=78) автором доказана эффективность 78 образцов аутопробиотических кисломолочных продуктов для коррекции микробиологических нарушений кишечника, вызванных применением антибактериальных препаратов. Боровковой Е.А. показана способность аутопробиотиков на основе индигенных лактобацилл восстанавливать нарушенный антибиотиками микробиоценоз кишечника, достоверно повышая и стабилизируя содержание молочнокислых бактерий и типичных *E.coli*.

В целом, используемые материалы, методы и объем проведенных исследований обеспечивают выполнение поставленных задач и достижение цели. Основные положения, выводы и практические рекомендации, сформулированные диссертантом, являются научно-обоснованными и соответствуют результатам проведенных исследований.

Связь новизны исследования с планами соответствующих отраслей науки

Диссертационное исследование Боровковой Е.А. осуществлялось в рамках научно-исследовательской работы «Роль микробиоты влагалища в патогенезе гинекологической патологии» кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом бактериологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Регистрационный номер темы НИР АААА–А17–1171228500074.

Значимость для науки и практики данных, полученных автором диссертации

Теоретическая значимость диссертационной работы Боровковой Е.А. заключается в том, что в ходе исследования при достаточном экспериментальном объеме выборки выявлены преобладающие в микробиоте кишечника жителей Северо-Кавказского федерального округа виды лактобацилл (*L.rhamnosus* (53,5%), *L.plantarum* (33,9%), *L.paracasei* (9,6%), *L.fermentum* (2,4%) и *L.brevis* (0,6%)), охарактеризованы их биологические свойства и пробиотический потенциал. Депонированы в базу данных GenBank NCBI полногеномные нуклеотидные последовательности аутоштаммов *L.paracasei* 347–16, *L.plantarum* 123–17 и *L.plantarum* 83–18.

Автором предложен алгоритм микробиологического мониторинга состава микробиоты кишечника, позволяющий выявлять возможную степень дисбиотических нарушений и устанавливать качественные и количественные изменения микробиоценоза кишечника под воздействием различных факторов, как нарушающих микробный баланс, так и восстанавливающих его, что дает возможность использовать данный алгоритм также для оценки эффективности пробиотикотерапии. Автором разработан алгоритм коррекции микробиологических нарушений в контексте персонализированной медицины с помощью аутопробиотиков на основе индигенных штаммов *Lactobacillus spp.*

Доказанная диссертантом эффективность применения аутопробиотиков для коррекции нарушений микробиоценоза кишечника, обусловленных массивной антибиотикотерапией, расширяет область их применения для профилактики и устранения побочных эффектов при использовании других

лекарственных средств, обеспечивая персонализированный подход к коррекции микробиоты.

Достоверность и апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнения и подтверждается наличием первичной документации, большим объемом выборки исследованных штаммов лактобацилл, достаточным числом добровольцев, принимавших участие в исследовании, а также большим объемом проведенных исследований. Работа проведена на современном, сертифицированном и поверенном оборудовании, оснащено необходимым в соответствии с целями и задачами программным обеспечением, позволяющим проводить биоинформационный и статистический анализ данных, полученных с помощью современных высокочувствительных, специфичных микробиологических и молекулярно-генетических методов.

Основные результаты диссертационной работы представлены и обсуждены на 6 научно-практических конференциях, в том числе, с международным участием.

Диссертантом опубликовано 10 печатных работ, из них 3 статьи в периодических рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, из которых 1 статья в журнале, индексируемом в международной базе данных цитирования Scopus, 1 – в другом издании, 5 тезисов в рецензируемых изданиях, 1 – в материалах конференций.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты и выводы диссертационного исследования Боровковой Е.А. могут быть использованы в учебных программах по бактериологии в рамках непрерывного постдипломного профессионального образования врачей и биологов.

Полученные автором результаты могут быть использованы в деятельности практических бактериологических лабораторий медицинских учреждений при идентификации и изучении биологических свойств *Lactobacillus spp.*, а также при культуральном исследовании микробиоценоза кишечника. Результаты диссертационного исследования могут быть внедрены в работу врачей общей практики при планировании коррекции

микробиоценоза кишечника, нарушенного применением антибактериальных препаратов.

Соответствие специальности

Тема диссертации, основные положения и выводы, сформулированные автором, полностью соответствуют специальности 1.5.11. – микробиология (биологические науки).

Оценка содержания и оформления диссертации

Диссертация написана грамотным научным языком, построена по традиционному плану, включает введение, обзор литературы, 3 главы собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений, список литературы, приложение. Во введении диссертации представлена актуальность темы исследования и степень ее разработанности, сформулированы цель и задачи, отражены научная новизна, теоретическая и практическая значимость, методология и методы исследования, положения, выносимые на защиту, степень достоверности, апробация результатов и личный вклад соискателя. Диссертационная работа изложена на 156 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 19 таблицами и 16 рисунками. Список литературы включает 207 источников, из которых 71 – отечественных, 136 – зарубежных авторов. Содержание диссертации свидетельствует о выполнении поставленных задач, завершенности исследования и достижении цели исследования. Выводы обоснованы полученными результатами и соответствуют задачам исследования. Автореферат содержит основные положения и отражает суть выполненной работы. Оформление диссертации и автореферата соответствует ГОСТ 7.0.11-2011.

В целом, диссертационная работа Боровковой Е.А. выполнена на высоком научном и методическом уровне и, несомненно, заслуживает высокой положительной оценки. Однако, в ходе рецензирования представленной диссертационной работы к соискателю возникли следующие **замечания и вопросы:**

- 1) В связи с тем, что автор фактически контролирует готовые кисломолочные продукты, то их безопасность должна оцениваться не по методикам МУ 2.3.2.2789-10 «Продовольственное сырье и пищевые продукты. Методические указания по санитарно-эпидемиологической оценке безопасности и функционального потенциала пробиотических

- микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов», а в соответствии с СанПиН 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов».
- 2) Почему для интерпретации данных антибиотикочувствительности автор использовал Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» версия-2018-03, тогда как аутопробиотик является, по сути, готовым пробиотическим пищевым продуктом, то есть подпадает под действие МУ 2.3.2.2789-10.2.3.2. «Продовольственное сырье и пищевые продукты. Методические указания по санитарно-эпидемиологической оценке безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов», приложение 2, в котором изложены критерии интерпретации результатов определения чувствительности лактобактерий к антибиотикам, в том числе методом серийных разведений. Насколько соотносятся значения минимальных подавляющих концентраций антибиотиков, приведенные в этих документах?

Заключение

Диссертационная работа Боровковой Екатерины Андреевны на тему «Использование аутопробиотикотерапии для коррекции микробиологических нарушений кишечника», представляемая к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. – микробиология (биологические науки), является самостоятельной завершенной 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*. По актуальности, научной новизне и практической значимости результатов диссертационная работа Боровковой Екатерины Андреевны соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции Постановлений Правительства РФ № 335 от 21.04.2016 г., № 748 от 02.08.2016 г., № 650 от 29.05.2017 г., № 1024 от 28.08.2017 г., № 1168 от 01.10.2018 г., № 426 от 20.03.2021, № 1539 от 11.09.2021, с изменениями, внесенными Постановлением Правительства РФ № 751 от 26.05.2020 г.), предъявляемым к

диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а её автор, Боровкова Екатерина Андреевна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.11. – микробиология (биологические науки).

Отзыв на диссертационную работу Боровковой Екатерины Андреевны обсужден и утвержден на заседании Учёного совета ФБУН ННИИЭМ им.академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора (протокол № 7 от 30.09.2021).

Отзыв составил:

Заведующий лабораторией микробиома человека и средств его коррекции Федерального бюджетного учреждения 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 (603950, г. Нижний Новгород, ул.Малая Ямская, д.71, тел./факс: 8 (831) 469-79-24, 469-79-20, e-mail: micro@nniiem.ru)

Доктор биологических наук,
доцент



Соловьева Ирина Владленовна

Подпись Соловьевой И.В. заверяю:

Ученый секретарь Федерального бюджетного учреждения 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 (603950, г. Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, д.71, тел./факс: 8 (831) 469-79-24, 469-79-20, e-mail: micro@nniiem.ru)

Кандидат биологических наук



Снегирева Мария Сергеевна