

«УТВЕРЖДАЮ»

И.о. ректора
ФГБОУ ВО СтГМУ
Минздрава России
К.М.Н., доцент
В.Н. Мажаров
_____ 2021 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России)

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

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

В 2008 году Боровкова Е.А. окончила Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Южный федеральный университет», биолого-почвенный факультет с присвоением степени магистра биологии по направлению «Биология».

В период с 2012 по 2018 гг. Боровкова Е.А. проходила обучение в заочной аспирантуре Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по специальности: 03.02.03 – микробиология (биологические науки). С 01.05.2016 г. по 01.11.2017 г. находилась в академическом отпуске по уходу за ребёнком (приказ № 529-ДУ от 27.04.2016 г.). Справка

об обучении в заочной аспирантуре и сдаче кандидатских экзаменов № 1294 от 03.07.2018 г. Диплом об окончании аспирантуры № 034 от 31.08.2018 г.

Боровкова Е.А. продолжила работу над диссертацией в качестве соискателя кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом бактериологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 8 от 31 марта 2021 года заседания Учёного совета ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России).

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

Апробация диссертации Боровковой Е.А. «Использование аутопробиотикотерапии для коррекции микробиологических нарушений кишечника», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.11. – микробиология (биологические науки), проведена на расширенном заседании кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом бактериологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 4 от 29 апреля 2021 года).

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертация Боровковой Е.А. является законченной научно-квалификационной работой, посвященной решению **актуальной** задачи – коррекции дисбиотических нарушений кишечника, вызванных применением антибактериальных препаратов, с использованием безопасных и эффективных аутопробиотиков на основе индигенных штаммов *Lactobacillus spp.*

Личный вклад автора заключался в разработке дизайна исследования, проведении аналитического обзора литературы и выполнении всего объема микробиологических исследований, включавшего выделение, идентификацию, изучение биологических свойств и пробиотического потенциала кишечных лактобацилл, а также приготовление всех партий аутопробиотических кисломолочных заквасок индивидуально для каждого добровольца. Четырёхкратное микробиологическое исследование фекалий для каждого добровольца проведено 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 микробиологических 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. Автором самостоятельно проведены статистическая обработка и анализ результатов исследования, сформулированы выводы и перспективы дальнейшей разработки темы.

Степень достоверности полученных результатов обеспечивается репрезентативным объемом выборки выделенных и исследованных штаммов *Lactobacillus spp.*, большим объемом проведенных исследований микробиоценоза кишечника добровольцев и биологических свойств лактобацилл с использованием современных методов микробиологии и молекулярной генетики, комплексным анализом полученных результатов с привлечением методов статистической обработки данных и биоинформационного анализа.

Научная новизна исследования

Впервые определено видовое разнообразие индигенных штаммов *Lactobacillus spp.*, выделенных из кишечника жителей Северо-Кавказского федерального округа (СКФО). 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%). Продemonстрировано наличие значительного пробиотического потенциала *Lactobacillus spp.*, выразившегося в средней адгезивной активности 76,0% штаммов и высокой антагонистической активности к тест-культурам микроорганизмов большинства штаммов (от 59,0% в отношении *S.typhimurium* ATCC 14028 до 100% в отношении *P.aeruginosa* ATCC 27853).

В результате впервые проведённого 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.

Проведено культуральное исследование микробиоценоза кишечника 78 жителей СКФО в возрасте от 20 до 60 лет до начала антибактериальной терапии. Показано наличие нормобиоценоза у 31% лиц и дисбиотических нарушений 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 *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.* и *E.coli* более чем на два порядка, а также снижение количества *Clostridium spp.*, *K.pneumoniae* и *E.aerogenes* вплоть до элиминации *Staphylococcus spp.*, *Proteus spp.*, *E.coli lac-* и *E.coli hem+*.

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 *E.coli*.

Практическая значимость

Аннотированы и зарегистрированы в базе данных GenBank NCBI полногеномные нуклеотидные последовательности хромосомы и двух плазмид *L.paracasei* 347-16 (CP052065, CP052066, CP052067), хромосомы и четырех плазмид *L.plantarum* 123-17 (CP046656, CP046657, CP046658, CP046659, CP046660), хромосомы и восьми плазмид *L.plantarum* 83-18 (CP046661, CP046662, CP046663, CP046664, CP046665, CP046666, CP046667, CP046668, CP046669). Предложен алгоритм микробиологического мониторинга состава микрофлоры кишечника и коррекции дисбиотических нарушений с помощью аутопробиотиков на основе *Lactobacillus spp.*, который успешно применяется в лечебно-диагностической работе Пятигорской городской поликлиники № 1 города Пятигорска (акт внедрения от 17.05.2021 г.). Методологическая база диссертации используется в работе бактериологической лаборатории Кисловодской городской специализированной инфекционной больницы города Кисловодска при проведении исследований микробиоценоза кишечника (акт внедрения от 21.05.2021 г.).

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе 3 публикации в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ для опубликования основных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук. Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Боровкова, Е.А. Изучение биологических свойств и пробиотического потенциала кишечных лактобацилл / Е.А. Боровкова, Е.В. Алиева, Т.В. Фролова // Acta Biomedica Scientifica. – 2019. – Т. 4, № 1. – С. 124-132.
2. 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.
3. **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.
4. **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.
5. Боровкова, Е.А. Аннотация генома и поиск генов антибиотикорезистентности аутоштаммов лактобацилл кишечника / Е.А. Боровкова, Е.В. Алиева // Материалы Всероссийского конгресса по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии (XXIII Кашкинские чтения), Санкт-Петербург, 9-11 ноября 2020 г. - Проблемы медицинской микологии. – 2020. - Т. 22, № 3. – С. 54.

Соответствие научной специальности

Диссертационное исследование Е.А. Боровковой полностью соответствует научной специальности: 03.02.03 (1.5.11.) – микробиология (биологические науки), а именно пунктам паспорта специальности: 2. Выделение, культивирование, идентификация микроорганизмов; 3. Морфология, физиология, биохимия и генетика микроорганизмов; 8. Использование сапрофитных бактерий антагонистов, продуцентов биологически активных веществ для оптимизации микробиоценозов; 10. Использование микроорганизмов в народном хозяйстве, ветеринарии и медицине.

РЕШЕНИЕ:

Диссертация Боровковой Екатерины Андреевны «Использование аутопробиотикотерапии для коррекции микробиологических нарушений кишечника» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.11. – микробиология (биологические науки).

Заключение принято на расширенном заседании кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом бактериологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации «28» мая 2021 г. (протокол № 4). На заседании присутствовало 9 человек. Результаты голосования: за – 9, против – 0, воздержались – 0.

Председатель заседания

заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом бактериологии
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Ставропольский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,

к.м.н., профессор

Первущин Юрий Владиславович

И.о. проректора по научной и инновационной работе

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
355017, Ставрополь, ул. Мира, 310
+78652352331; e-mail: postmaster@stgmu.ru

д.м.н., профессор

Щетинин Евгений Вячеславович

Ученый секретарь ученого совета

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
355017, Ставрополь, ул. Мира, 310
+78652352331; e-mail: postmaster@stgmu.ru

к.м.н., профессор



Первущин Юрий Владиславович