

Федеральное бюджетное учреждение науки  
**«ОМСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫХ ИНФЕКЦИЙ»**

Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека  
(ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора)  
проспект Мира, 7, г. Омск, 644080, телефон (3812) 65-16-33, факс 65-16-33, 65-06-33, 65-14-18  
<http://www.oniipi.org/> E-mail: [mail@oniipi.org](mailto:mail@oniipi.org)

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Рудакова Николая Викторовича на диссертационную работу Катаевой Любови Владимировны на тему «Микробиологические аспекты микропаразитоценоза при инфекционно-инвазионном процессе», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 03.02.03 - микробиология, 03.02.11 – паразитология

### ***Актуальность темы исследования***

Изучение взаимосвязи паразитарных систем с другими компонентами биоценоза необходимо для успешной разработки программ профилактики и борьбы с паразитарными инвазиями. Присутствие гельминтов в организме окончательного хозяина повышает восприимчивость его к различным микроорганизмам, что реализуется в высоком риске заболеваемости острыми кишечными инфекциями на фоне кишечных паразитов. В результате синергизма патогенов разных систематических групп могут возникать микст инфекции. Доказано, что гельминтозы отягощают возникновение и течение брюшного тифа, вирусного гепатита, туберкулеза.

Известно антагонистическое воздействие нормальной микробиоты на рост и развитие паразитических организмов, в результате чего происходит угнетение их роста и гибель. В других случаях может превалировать воздействие паразитов, которое проявляется угнетением бактерий, составляющих нормобиоценоз, вплоть до развития дисбиоза. Исследование паразитоценозов представляет одно из направлений современной микробиологии и паразитологии. Взаимодействие паразита с организмом хозяина и, в частности, с его микробиотой является сложным процессом, исследование которого в данной работе предложено, в том числе и на молекулярно-генетическом уровне.

В настоящее время не изученными остаются взаимоотношения условно-патогенных бактерий и гельминтов в организме окончательного хозяина при

определенных паразитозах, что актуализирует необходимость изучения влияния микропаразитоценоза на формирование дисбиоза толстого кишечника при инфекционно-инвазионном процессе.

Охрана окружающей среды от паразитарных загрязнений является в настоящее время одной из важных проблем в осуществлении профилактики и снижения риска заражения окончательных и промежуточных хозяев возбудителями биогельминтозов, среди которых описторхоз имеет наиболее существенное значение на эндемичных территориях. В Российской Федерации ежегодно регистрируется около 20 тыс. случаев описторхоза. Однако феномен отрицательного воздействия суперинвазионного описторхоза на отдельные системы организма остается недостаточно изученным, не выяснены особенности взаимоотношений в системе «паразит-хозяин» при описторхозе, требуют уточнения и дополнения сведения о его роли в воздействии на организм человека.

Таким образом, работа, выполненная Катаевой Любовью Владимировной, является масштабным исследованием, направленным на совершенствование исследований микропаразитоценоза при инфекционно-инвазионном процессе, и представляется весьма актуальной и своевременной.

### **Научная новизна**

Результаты многолетних исследований большого количества проб клинического материала от пациентов с паразитозами, нарушениями кишечного микробиоценоза, свидетельствуют о том, что микробиологическая система кишечника имеет характерные особенности при различных паразитозах. Так, лямблиоз, токсоплазмоз, токсокароз и иксодовый клещевой боррелиоз сопровождаются выраженным дефицитом бактерий рода *Lactobacillus*, описторхоз - *Bifidobacterium spp.* Выявлены комплексы генов вирулентности и кластеры O- и H-антигенов штаммов *E. coli*, изолированных из содержимого толстой кишки пациентов при инфекционно-инвазионном процессе, в зависимости от нозоформы. Показано, что описторхозная инвазия в большей степени влияет на колонизацию организма человека штаммами *E. coli* - носителями кластеров генов, ассоциированных с вирулентностью, что возможно связано с нарушением иммунитета, и более выраженным влиянием метаболитов *O. felineus*.

Автором получены новые данные о взаимодействии условно- патогенных микроорганизмов *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* и продуктов жизнедеятельности марины *O. felineus* при сокультивировании их в искусственной среде (*in vitro*). Метаболиты марины *O. felineus* оказывают ингибирующее влияние на персистенцию бактерий *K. pneumoniae* и *S. aureus*, причем на последние в большей степени. При совместном культивировании условно-патогенные бактерии *K. pneumoniae* и *S. aureus* не оказывают угнетающего влияния на марины *O. felineus*.

В работе впервые представлена структура микробиоценоза моллюсков семейства *Bithyniidae*, рыб семейства *Cyprinidae* и объектов их обитания (вода водоемов, придонный грунт). Моллюски - первый промежуточный хозяин *O. felineus* имеет резидентную и транзитную микробиоту, обладающую агрессивными свойствами персистенции: антилизоцимной активностью, биоопленкообразованием и факторы патогенности. Микробиоценоз моллюсков характеризуется сезонностью и оказывает влияние на их защитные механизмы.

Установлено, что обнаружение бактерий рода *Aeromonas* в клиническом материале в различных локусах пациентов, их видовое разнообразие, выделение в монокультуре и ассоциациях, резистентность к антибиотикам подтверждает их этиологическую значимость в инфекционном процессе. Сравнительный анализ дендрограмм клинических штаммов *A. hydrophila*, *A. salmonicida* и *A. veronii* со штаммами, выделенными из воды и рыб, указывает на то, что воду и рыбу можно рассматривать как факторы передачи при аэромонадной инфекции. Бактерии рода *Aeromonas* предложены в качестве критерия микробиологической оценки водных объектов и рыбной продукции.

### ***Степень достоверности и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации***

Достоверность результатов диссертационной работы Катаевой Л.В. не вызывают сомнений и обеспечивается проведением исследовательских работ с использованием новейших методологических подходов, базирующихся на анализе современной научной литературы; использованием широкого спектра современных микробиологических (масс-спектрометрия) и молекулярных методов

исследования (полногеномное и мультилокусное секвенирование, филогенетический анализ), экспериментальных исследований на животных, паразитологических (ихтиопаразитологические, малакологические, неполное гельминтологическое вскрытие млекопитающих, сокультивирование бактерий с маридами *O. felineus*); объемом и репрезентативностью исследования. Фактический материал проанализирован с использованием адекватных методов статистической обработки количественных показателей, что подтверждает значимость и достоверность полученных результатов.

Автором были в полной мере решены поставленные задачи, соответствующие обозначенной цели, что отражено в обоснованных выводах исследования. Полученные результаты согласуются с современной научной литературой в данной области. Следовательно, изложенные научные положения, сформулированные выводы и практические рекомендации, логично вытекают из результатов исследований, проведенных автором.

### ***Теоретическая и практическая значимость работы***

В диссертационной работе впервые представлены теоретические основы для оценки состояния микропаразитоценозов в звеньях промежуточных и окончательного хозяев *O. felineus* путем внедрения новых подходов к их дифференциации. На основе комплексной оценки сходства и различия состава микробиоценоза толстого кишечника дана его характеристика при различных паразитарных заболеваниях.

Исследована структура микробиоценоза сочленов жизненного цикла *O. felineus* (моллюски, рыбы). Выявлены биологические свойства бактерий, составляющих микробиоценоз моллюсков семейства *Bithyniidae*: антилизоцимная активность, биопленкообразование, гемолитическая и лецитиназная активность, фосфатаза, протеаза, резистентность к антибиотикам и бактериофагам. Определена сезонная динамика микробиоценоза моллюсков.

Экспериментальными исследованиями микропаразитоценологических отношений в микропопуляциях бактерий и марида *O. felineus* установлено, что продукты жизнедеятельности марида *O. felineus* оказывают ингибирующее влияние на рост бактерий *K. pneumoniae* и *S. aureus*, в то время как бактерии не оказывают

угнетающего влияния на жизнеспособность паразит *O. felineus*. На основе микробиологических и паразитологических исследований рыб семейства *Cyprinidae* - второго промежуточного хозяина *O. felineus*, установлено, что рыбы, инвазированные метацеркариями *O. felineus*, чаще контаминированы бактериями рода *Aeromonas* и семейства *Enterobacteriaceae*.

Определена роль бактерий рода *Aeromonas*, населяющих водные объекты обитания промежуточных хозяев *O. felineus*, как этиологических агентов инфекционных заболеваний человека. Бактерии рода *Aeromonas* предложены в качестве критерия для микробиологической оценки водных объектов и рыбной продукции.

Из содержимого толстой кишки пациентов с паразитарными инвазиями и воспалительными заболеваниями желудочно-кишечного тракта, объектов окружающей среды, выделены штаммы микроорганизмов, отличающиеся кластерами генов вирулентности, которые депонированы в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ- Оболенск». Нуклеотидные последовательности штаммов размещены в GenBank accession NCBI SRA.

Сформирован банк клинических штаммов и компьютерная база данных, содержащая информацию о локусе выделения, составе и количественной характеристике микробиоты толстой кишки пациентов с паразитарными инвазиями. Оформлена рабочая коллекция штаммов, составляющих микробиоценоз первых и вторых промежуточных хозяев *O. felineus*, а также штаммов бактерий рода *Aeromonas*, установлена их клиническая значимость. Коллекции штаммов бактерий могут быть использованы для изучения механизмов резистентности и штаммового разнообразия возбудителей бактериальных инфекций, в том числе ИСМП.

Основные положения диссертационной работы используются в образовательном и научно-исследовательском процессе кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации в постдипломном обучении специалистов в системе дополнительного и непрерывного образования (акт

внедрения от 29.01.2020 г.).

***Апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях***

Апробация диссертации проведена на заседании Ученого совета ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора (протокол № 1 от 23.01.2020 г). Основные положения диссертации и материалы исследований доложены на 12 научно-практических конференциях международного, всероссийского и регионального уровней. Основное содержание работы достаточно полно отражено в 46 печатных работах, в том числе в 19 рецензируемых изданиях. Получены четыре патента РФ на изобретения. Материалы диссертации вошли в три научных отчета и два аналитических обзора.

***Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации***

Автор качественно оформил и проиллюстрировал свою диссертацию с учетом современных требований, работа содержит все необходимые разделы. Диссертационная работа Катаевой Л.В. изложена по традиционному плану на 256 страницах машинописного текста, включает введение, обзор литературы, 4 главы собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений, список литературы и 2 приложения. Диссертация содержит 28 таблиц и проиллюстрирована 46 рисунками. В списке литературы приведены 313 источников, из которых 120 иностранных.

В разделе **«Введение»** автором обоснована актуальность исследования и степень разработанности темы, сформулированы цель и задачи исследования, изложена научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, представлены положения, выносимые на защиту, описан личный вклад автора в выполнение исследования, обоснована достоверность результатов. В подразделе **«Материалы и методы»** подробно описаны использованные в работе методы проведенных исследований - микробиологические, молекулярно-генетические, паразитологические и статистические; использованы экспериментальные методы исследования на животных. Материалы диссертационной работы демонстрируют широкий диапазон современных методик, освоенных автором. **Обзор литературы**

включает анализ отечественных и иностранных научных публикаций, отражающих тему диссертационного исследования. Автор представил современные данные о структуре, свойствах и функции микробиоты толстой кишки, раскрыл этиологию нарушений микробиоценоза кишечника, подробно охарактеризовал патотипы и серотипы, комплексы генов вирулентности *Escherichia coli*. Представлена характеристика паразитоценоза и паразитарной системы, отмечены микробиологические аспекты паразитоценологии при инфекционно-инвазионном процессе. В качестве элемента паразитоценоза рассмотрен возбудитель описторхоза *O. felineus*. Обзор литературы основан на анализе научных публикаций в ведущих отечественных и зарубежных источниках.

**Результаты собственных исследований** представлены 4 главами.

**Глава 2** посвящена характеристике микробиоценоза толстой кишки при паразитарных инвазиях и инфекциях - описторхозе, лямблиозе, токсокарозе, токсоплазмозе и иксодовом клещевом боррелиозе. Показано, что при всех паразитарных инвазиях, зарегистрированы нарушения кишечного микробиоценоза, как по содержанию индигенной микрофлоры, так и УПМ. При лямблиозе, токсоплазмозе, токсокарозе и иксодовом клещевом боррелиозе выявлен выраженный дефицит бактерий рода *Lactobacillus*, при описторхозе - *Bifidobacterium spp.* Кроме того, приводится сравнительная характеристика микробиологической системы толстой кишки при паразитарных инвазиях и воспалительных заболеваниях желудочно-кишечного тракта. Во второй главе также приведен анализ патотипов, серотипов и комплексов генов, ассоциированных с вирулентностью, штаммов *E. coli*, изолированных из толстой кишки пациентов с паразитозами и воспалительными заболеваниями желудочно-кишечного тракта. Показано, что 38% от всего количества идентифицированных комплексов генов, ассоциированных с вирулентностью, пришлось на штаммы *E. coli*, изолированных при описторхозе и 39% - при воспалительных заболеваниях желудочно-кишечного тракта. По сравнению с лямблиозом, описторхозная инвазия в большей степени влияет на колонизацию организма человека штаммами *E. coli*, носителями кластеров генов патогенности и вирулентности.

**В третьей главе** представлены результаты экспериментального

исследования паразитоценоза в микропопуляциях условно патогенных бактерий и мариит *O. felineus*, свидетельствующие о том, что метаболиты мариит гельминта оказывают определенное ингибирующее влияние на рост бактерий *K. pneumoniae* и *S. aureus*, при сокультивировании *in vitro* бактерии *K. pneumoniae* и *S. aureus* не оказывают угнетающего влияния на марииты паразитов.

**В четвертой главе** автор приводит результаты изучения микробиоценоза моллюсков семейства *Bithyniidae* - первых промежуточных хозяев *O. felineus* - как основы формирования симбиотических отношений в системе «паразит-хозяин» при описторхозе. Показано, что структура микробиоценоза моллюсков и среды их обитания представлен широким спектром микробных популяций. Доминирующей микробиотой в биоценозе моллюсков являются бактерии рода *Aeromonas*, а также грамотрицательные, преимущественно неферментирующие бактерии. В микробиоценозе воды водоема и придонного грунта (мест обитания моллюсков) преобладали бактерии семейства *Enterobacteriaceae*. Результаты исследования микробных сообществ моллюсков и среды их обитания, указывают на то, что спектр популяций микробиоты моллюсков по видовому составу шире в сравнении с микробиоценозом придонного грунта и воды. Доля общих видов микроорганизмов для моллюска и водной среды составляет треть штаммов, в сравнении с микробиоценозом придонного грунта - шестую часть общих штаммов. Установлено, что персистентные свойства бактерий, составляющих структуру микробиоценоза - антилизоцимная активность и биопленкообразование - варьировали в зависимости от источника выделения штаммов и их видовой принадлежности. Сезонные колебания структуры микробиоценоза показали пик «активных» микроорганизмов в период, когда отмечается максимальная пораженность моллюсков. Это позволило обосновать гипотезу о влиянии микробиоценоза моллюсков на приживаемость яиц в их организме.

**В пятой главе** изложены результаты исследования, свидетельствующие о высокой контаминации бактериями рода *Aeromonas* объектов окружающей среды - воды водоемов, рыбы. Проведенный автором анализ случаев обнаружения бактерий рода *Aeromonas* в клиническом материале также свидетельствует об этиологической значимости этих микроорганизмов в инфекционном процессе.



Показано, что рыбы, инвазированные личинками возбудителя описторхоза, чаще контаминируются условно-патогенными бактериями, что влияет на качество пищевой рыбной продукции. Сравнительный корреляционный анализ дендрограмм клинических штаммов *A. hydrophila*, *A. salmonicida* и *A. veronii* со штаммами, выделенными из воды открытых водоемов и рыб, указывает на то, что воду и рыбу можно рассматривать как факторы передачи при аэромонадной инфекции.

В разделе «**Заключение**» автор продемонстрировал способность к вдумчивому и глубокому сравнительному анализу собственных результатов исследования и данных литературных источников. Структура и логика изложения материалов диссертации выглядят достаточно обоснованными в контексте раскрытия поставленной цели и задач исследования. Цели и задачи исследования, сформулированные автором, были вполне достигнуты. Работа написана логично, доказательно, ясным и строго научным языком. Выводы диссертационного исследования Катаевой Л.В. закономерно вытекают из результатов проведенного исследования и полностью соответствуют поставленной цели и задачам.

Таким образом, диссертация представляет определенный интерес не только для научного сообщества, но и для врачей-микробиологов, эпидемиологов и клиницистов.

В разделе «**Практические рекомендации**» даны следующие предложения: рекомендовано в схемы лечения паразитозов включать пробиотики на основе *Bifidobacterium spp.* при описторхозе, *Lactobacillus spp.* - лямблиозе, токсоплазмозе, токсокарозе и иксодовом клещевом боррелиозе; предложено применение метода масс-спектрометрии при идентификации бактерий рода *Aeromonas*; использование протеомного анализа для определения источника заражения при расшифровке вспышек бактериальных инфекций. Определены перспективы дальнейшей разработки темы.

Следовательно, диссертационная работа Катаевой Любови Владимировны является завершенным научным исследованием, обладающим научной новизной, теоретической и практической значимостью.

**Соответствие специальности**

По тематике, методам исследования, предложенным научным положениям и выводам диссертационная работа Катаевой Л.В. соответствует паспортам специальностей научных работников: 03.02.03 – микробиология (медицинские науки) и области исследования: пункты 1 – «Проблема эволюции микроорганизмов, установление их филогенетического положения», 2 – «Выделение, культивирование, идентификация микроорганизмов», 3 – «Морфология, физиология, биохимия и генетика микроорганизмов», 4 – «Исследование микроорганизмов на популяционном уровне», 6 – «Сапрофитизм, паразитизм, симбиоз микроорганизмов»; 03.02.11 – паразитология (медицинские науки) и области исследования: пункты 1 – «Всестороннее изучение явлений и сущности паразитизма, закономерностей жизни паразитов и взаимодействия их с живой средой хозяев», 5 – «Изучение взаимоотношений в системе: хозяин – паразит».

Указывая на высокую теоретическую и практическую значимость рецензируемой работы, вместе с тем хотелось бы получить пояснения на возникшие вопросы, а именно:

1. В положении 1, выносимом на защиту, говорится о том, что внедрение паразита в организм промежуточного хозяина вызывает изменение структуры кишечного микробиоценоза. О каких промежуточных хозяевах идет речь и изучался ли кишечный биоценоз моллюсков.

2. Изучалась ли нормофлора битиний и кишечника рыб?

Указанные вопросы носят дискуссионный характер и не снижают высокой научной и практической значимости диссертационной работы.

### **Заключение**

Диссертационная работа Любови Владимировны Катаевой на тему «Микробиологические аспекты микропаразитоценоза при инфекционно-инвазионном процессе» является законченным трудом, в котором на основании выполненных автором исследований и разработок осуществлено решение научной проблемы установления микробиологических закономерностей функционирования микропаразитоценоза при инфекционно-инвазионном процессе на модели изучения межпопуляционных взаимодействий условно-патогенных бактерий и сочленов

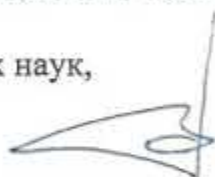
жизненного цикла *Opisthorchis felineus*, имеющих важное значение для лечения и реабилитации пациентов паразитарными инвазиями и инфекциями.

Диссертационная работа Катаевой Любови Владимировны «Микробиологические аспекты микропаразитоценоза при инфекционно-инвазионном процессе», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 03.02.03 – микробиология, 03.02.11 – паразитология по актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а ее автор Любовь Владимировна Катаева заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 03.02.03 – микробиология, 03.02.11 – паразитология.

#### Официальный оппонент

Директор Федерального бюджетного учреждения науки «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 644080, г. Омск, проспект Мира, дом 7, Тел. +7(381) 265-15-22, e-mail: mail@oniipi.org

доктор медицинских наук,  
профессор



Николай Викторович Рудаков

Подпись доктор медицинских наук, профессора Николая Викторовича Рудакова заверяю:

ученый секретарь ученого совета Федерального бюджетного учреждения науки «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

кандидат медицинских наук,  
старший научный сотрудник



Татьяна Александровна Решетникова