

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 208.046.01 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 10 декабря 2020 г. № 3.

О присуждении Цапиевой Анне Николаевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Микробиологический и молекулярно-генетический анализ молочнокислых бактерий как перспективных пробиотиков» по специальности 03.02.03 – микробиология принята к защите 02.10.2020г. протокол № 1 диссертационным советом Д 208.046.01 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 № 1577 / нк от 16.12.2016 част. изм.

Соискатель Цапиева Анна Николаевна, 1985 года рождения. В 2008 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)», факультет тонкого органического и микробиологического синтеза по специальности «Биотехнология».

С 2008 по 2011 год проходила обучение в аспирантуре по специальности микробиология в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Институт экспериментальной медицины» (ранее - Научно-исследовательский Институт экспериментальной медицины Северо-западного отделения Российской академии медицинских наук). Прикреплена к отделу молекулярной микробиологии ФГБНУ «ИЭМ» для подготовки диссертации на соискание ученой степени кандидата наук по специальности 03.02.03 - микробиология без освоения программы подготовки научно-педагогических кадров, приказ №136а от 24.10.2013.

В период подготовки диссертации работала в должности младшего научного сотрудника, затем научного сотрудника; в настоящее время работает в должности научного сотрудника в лаборатории генетики патогенных микроорганизмов отдела молекулярной микробиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины».

Диссертация выполнена в лаборатории генетики патогенных микроорганизмов отдела молекулярной микробиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины».

Научный руководитель: Суворов Александр Николаевич – доктор медицинских наук

(03.00.07 – микробиология), член-корреспондент РАН, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», отдел молекулярной микробиологии, руководитель.

Официальные оппоненты:

Сидоренко Сергей Владимирович – доктор медицинских наук (03.00.07 – микробиология), профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней федерального медико-биологического агентства», Отдел медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии, заведующий; Нетрусов Александр Иванович - доктор биологических наук (03.00.07 – микробиология), профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Биологический факультет, кафедра микробиологии, профессор – дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (г. Санкт-Петербург) в своем положительном заключении, подписанным д.м.н. Краевой Людмилой Александровной, лаборатория медицинской бактериологии, заведующая, указала, что диссертация является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научно-практической задачи: совершенствование методологических подходов при исследовании лактобактерий, их лабораторной диагностике и конструированию пробиотических препаратов.

Соискатель имеет 33 работы, опубликованные по теме диссертации, из них 6 работ опубликованы в рецензируемых научных изданиях, 2 публикации в других изданиях, 5 патентов РФ на изобретения, 20 публикаций в материалах конференций, общим объемом 81 страница и авторским вкладом – 55 страниц. Наиболее значимые работы:

1) Симаненков, В.И. Постинфекционный синдром раздраженного кишечника: есть ли место в терапии пробиотикам? / В.И. Симаненков, А.Н. Суворов, С.М. Захаренко, А.Н. Бочкарева, З.Р. Сундукова // Инфекционные болезни. - 2009. - Т. 7, №3. - С. 3-9; 2) Цапиева, А.Н. Исследование антагонистических свойств лактобацилл, выделенных из молочнокислых продуктов и пробиотиков / А.Н. Цапиева, А.Н. Суворов // Профилактическая и клиническая медицина. - 2010. - №3-4. - С. 156-161; 3) 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; 4) 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. - №07. - С. 14-19; 5) Tarasova, E. The influence of probiotic enterococci on the microbiota and cytokines expression in rats with dysbiosis induced by antibiotics / E. Tarasova, E. Yermolenko, V. Donets, Z. Sundukova, A. Bochkareva, Y. Borshev, M. Suvorova, Y. Plyasov, V. Simanenkov, A. Suvorov // Beneficial Microbes. - 2010. - V. 1, №3. - P. 265-270; 6) Tsapieva, A. Structure of plantaricin locus of *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 / A. Tsapieva, N. Duplik, A. Suvorov

На диссертацию и автореферат поступило 5 положительных отзывов без замечаний от: 1) д.б.н. Калининой О.В., декана факультета биомедицинских наук, профессора кафедры лабораторной медицины и генетики Института медицинского образования Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 2) д.м.н. Ильина В.К., заведующего отделом санитарно-гигиенической безопасности человека в искусственной среде обитания, заведующего лабораторией микробной экологии человека Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации Института медико-биологических проблем Российской академии наук; 3) д.м.н. Аржановой О.Н., ведущего научного сотрудника отдела Акушерства и перинатологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта»; 4) д.м.н. Успенского Ю.П., заведующего кафедрой факультетской терапии им. Проф. В.А. Вальдмана Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 5) д.м.н. Кафтыревой Л.А., заведующей лабораторией кишечных инфекций Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. В отзывах отмечено, что в ходе диссертационного исследования разработан алгоритм получения аутопробиотиков на основе собственных штаммов молочнокислых микроорганизмов человека, разработана схема идентификации штаммов лактобацилл на основе мультиплексной ПЦР, впервые выявлены гены бактериоцинов в геноме коммерческого штамма *L. plantarum* 8P-A3, проведено полногеномное секвенирование генома штамма *L. plantarum* 8P-A3.

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 разработан новый подход для создания индивидуальных пробиотических продуктов на основе молочнокислых микроорганизмов родов *Lactobacillus* и *Enterococcus*, изолированных из кишечника человека, включающий микробиологический и генетический анализ перспективных штаммов. Предложена модификация протокола проведения мультиплексной полимеразной цепной реакции с детекцией в агарозном геле, основанная на использовании трёх комбинаций оригинальных праймеров, обеспечивающая точную идентификацию 12 видов лактобацилл. Доказана способность симбиотической молочнокислой закваски на основе *L. delbrueckii* TS1-06 и *L. fermentum* TS3-06 восстанавливать микробный баланс на фоне дисбиоза, вызванного приемом антибиотиков, на модели лабораторных животных. Введены новые представления о природе высокой антимикробной активности

пробиотического штамма *L. plantarum* 8P-A3, полученные на основании данных о строении генома штамма, кодирующего три антимикробных пептида - плантарицины А, ЕF и NC8.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказана эффективность комплексного анализа штаммов молочнокислых микроорганизмов, включающего изучение адаптационных, физиологических и генетических свойств, вносящего вклад в расширение представлений о свойствах перспективных пробиотических штаммов и расширяющие границы применимости молочнокислых микроорганизмов в качестве пробиотиков. Применительно к проблематике диссертации результативно использован разработанный метод получения аутопробиотиков на основе собственных штаммов микробиоты человека с получением обладающих новизной результатов исследования влияния приема аутопробиотиков на самочувствие пациентов с синдромом раздраженного кишечника. Изложены актуальные данные о строении генома пробиотического штамма *L. plantarum* 8P-A3, кодирующего несколько антимикробных пептидов. Раскрыты возможности применения симбиотической молочнокислой закваски на основе *L. delbrueckii* TS1-06 и *L. fermentum* TS3-06 для восстановления микробного баланса на фоне дисбиоза, вызванного приемом антибиотиков. Изучены антимикробные свойства исследуемых штаммов молочнокислых микроорганизмов по отношению к панели патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, включая *S. agalactiae*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*. Проведена модернизация протокола забора и доставки биоматериала для получения собственных штаммов кишечной микробиоты человека пригодных для создания аутопробиотика.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработан метод создания аутопробиотиков на основе индигенных штаммов молочнокислых микроорганизмов который внедрен для выполнения поисковых научных исследований в рамках Государственного задания «Молекулярно-генетические и клеточные основы патогенеза, диагностики и лечения социально значимых заболеваний инфекционной и неинфекционной природы» (шифр: 0557-2016-0001) (акт внедрения от 15.02.2019), а также для проведения исследований сотрудниками Кафедры терапии и клинической фармакологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова на базе Городской больницы №26 г. Санкт-Петербурга (акт внедрения от 14.03.2019). Определены перспективы практического использования отдельных штаммов молочнокислых микроорганизмов - *L. delbrueckii* TS1-06 и *L. fermentum* TS3-06, отобранных на основании совокупности полученных данных изучения пробиотического потенциала, индивидуального спектра антимикробной активности, исследований на модели лабораторных животных (патент РФ на изобретение № 2391395 от 10.06.2010, патент РФ на изобретение № 2391393 от 10.06.2010). Создана рабочая коллекция штаммов индигенных молочнокислых бактерий которая может быть использована для создания персонализированных аутопробиотиков при повторном обращении пациентов. Представлены предложения по дальнейшему совершенствованию метода получения аутопробиотиков, в том числе на основании комбинации нескольких штаммов собственных бактерий.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что для экспериментальных работ объем выборки изученных штаммов микроорганизмов является достаточным, методы статистической обработки подобраны адекватно, эксперименты проведены на высоком научно-

методическом уровне с применением современных методов и использованием сертифицированного оборудования, показана воспроизводимость результатов исследования в различных условиях. В ходе выполнения диссертационной работы изучено более 60 штаммов молочнокислых микроорганизмов выделенных из пробиотических препаратов, домашних молочнокислых продуктов и кишечника человека. Теория исследования построена на известных данных и согласуется с опубликованными экспериментальными данными, посвященными изучению пробиотиков. Идея базируется на отечественных и мировых данных в области изучения свойств пробиотических молочнокислых микроорганизмов. Использовано сравнение авторских данных и данных, полученных ранее по проблеме изучения новых пробиотических штаммов, их генетических особенностей, механизмов действия пробиотиков и перспектив их практического применения. Установлено, что большинство результатов исследования согласуется с результатами других авторов, представленными в независимых источниках. Используются классические и современные методы исследования, методы описательной статистики, специализированные компьютерные программы и международные базы данных.

Личный вклад соискателя состоит в составлении плана исследования, проведении аналитического обзора литературы, выполнении микробиологических и молекулярно-генетических исследований, анализе полученных данных, статистической обработке и обобщении полученных результатов. Разработка метода идентификации лактобацилл с помощью мультиплексных ПЦР проводилась самостоятельно автором диссертации. Разработка метода получения аутопробиотиков и работа с лабораторными животными выполнялась совместно с д.м.н. Ермоленко Е.И. Исследование влияния аутопробиотиков, полученных с использованием метода, разработанного автором, на самочувствие пациентов с СРК, проводились сотрудниками Кафедры терапии и клинической фармакологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И.Мечникова к.м.н. Соловьевой О.И и к.м.н. Сундуковой З.Р. под руководством д.м.н., проф. Симаненкова В.И. на базе Городской больницы №26 г. Санкт-Петербурга.

На заседании 10 декабря 2020 года диссертационный совет принял решение присудить Цапиевой Анне Николаевне ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 12 докторов наук по специальности 03.02.03 – микробиология, участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 17, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета,
доктор биологических наук, профессор



Алешкин Алёшкин Владимир Андрианович

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Борисова

Борисова Ольга Юрьевна

11.12.2020