

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, заслуженного деятеля науки РФ Бычкова Виталия Григорьевича на диссертационную работу Катаевой Любови Владимировны «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

Паразитирование гельминтов в организме хозяина вызывает патологические изменения тканей и органов, которые проявляются, прежде всего, воспалительной реакцией и как следствие - нарушением микробиоценоза. Роль микробиоценоза в патогенезе гельминтозов изучена недостаточно, хотя имеет большое значение на этапе дегельминтации и реабилитации пациентов после лечения. Поэтому вопросы исследования взаимодействия паразита с условно-патогенными бактериями в организме хозяина остаются актуальными.

Инвазирование окончательного и промежуточных хозяев личинками *Opisthorchis felineus* происходит параллельно с контаминацией микробиотой, циркулирующей в их среде обитания. При этом микробиоценоз этих хозяев практически не исследовался. Сведения о количестве и распределении некоторых групп бактерий в пищеварительном тракте моллюсков, среди которых могут быть возбудители заболеваний человека и животных, не многочисленны. Поэтому изучение закономерностей функционирования микропаразитоценоза позволило объяснить патогенетические механизмы воздействия паразита на организм хозяина. Кроме того, исследование современного состояния микропаразитоценоза с позиций молекулярно-генетических исследований важно для рациональной профилактики гельминтозов и представляет чрезвычайно актуальную проблему.

Тематическая направленность диссертационного исследования способствует раскрытию механизмов межмикробного взаимодействия

представителей нормобиоценоза с условно-патогенными бактериями кишечника при паразитарных инвазиях и изысканию новых подходов для дальнейших исследований по устранению возникновения осложнений воспалительного характера после дегельминтизации. В связи с этим, диссертация Катаевой Любови Владимировны своевременна, актуальна и отражает потребности практического здравоохранения и фундаментальной науки в области медицинской микробиологии и паразитологии, в том числе, развивающегося направления - микропаразитологии.

Научная новизна

Новизна диссертационной работы Катаевой Любови Владимировны обусловлена комплексным подходом в оценке микробиоценоза толстой кишки пациентов с паразитарными инвазиями и инфекциями (описторхоз, лямблиоз, токсокароз, токсоплазмоз, иксодовый клещевой боррелиоз), проявляющиеся снижением уровня индигенной микробиоты и увеличением частоты обнаружения условно-патогенной. Так, лямблиоз, токсоплазмоз, токсокароз и иксодовый клещевой боррелиоз сопровождаются выраженным дефицитом бактерий рода *Lactobacillus*, описторхоз – *Bifidobacterium spp.* Определены условно-патогенные бактерии, вызывающие снижение функции колонизационной резистентности микробиоты кишечника при инфекционно-инвазионном процессе: бактерии рода *Klebsiella* - при лямблиозе и тканевых паразитозах (токсоплазмозе и токсокарозе); бактерии рода *Proteus* большей частью высевались при иксодовом клещевом боррелиозе. Выявлены комплексы генов вирулентности и кластеры О- и Н-антигенов штаммов *E. coli*, изолированные из содержимого толстой кишки пациентов при инфекционно-инвазионном процессе. Показано, что описторхозная инвазия в большей степени влияет на колонизацию организма человека штаммами *E. coli*, носителями кластеров генов, ассоциированных с вирулентностью.

Установлено взаимовлияние условно-патогенных микроорганизмов *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* и продуктов жизнедеятельности мари *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*. В свою очередь эти условно-патогенные бактерии не оказывают угнетающего влияния на марины *O. felineus*.

Получены новые данные о структуре микробиоценоза моллюсков семейства *Bithyniidae*, рыбы семейства *Cyprinidae* и объектов их обитания (вода, придонный грунт). Моллюск – первый промежуточный хозяин *O. felineus* имеет резидентную и транзитную микробиоту, которая характеризуется сезонностью и оказывает влияние на его защитные механизмы, вместе с тем, обладает агрессивными свойствами персистенции: антилизоцимной активностью, биопленкообразованием и факторами патогенности.

Установлено, что обнаружение бактерий рода *Aeromonas* в клиническом материале, их видовое разнообразие, выделение в монокультуре и ассоциациях, резистентность к антибиотикам свидетельствуют об этиологической значимости их в инфекционном процессе. Показано, что контаминированная аэромонадами рыбная продукция представляет опасность заражения человека возбудителями бактериальных инфекций. Сравнительный анализ дендрограмм *A. hydrophila*, *A. salmonicida* и *A. veronii*, выделенных из клинического материала, воды и рыб, свидетельствует о том, что воду и рыбу можно рассматривать как факторы передачи при аэромонадной инфекции, это позволило предложить их в качестве критерия микробиологической оценки воды водных объектов и рыбной продукции.

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

Достоверность полученных результатов, представленных в диссертации Л. В. Катаевой, обеспечивается большим объемом выборки, использованием обоснованных экспериментальных (в том числе на животных) и клинических бактериологических, масс-спектрометрических,

молекулярно-генетических, паразитологических исследований, исследований объектов окружающей среды, корректным анализом и интерпретацией полученных результатов. Фактический материал проанализирован с использованием адекватных методов статистической обработки количественных показателей, что подтверждает значимость и достоверность полученных результатов. Результатом исследования проб биоматериала и объектов окружающей среды явились выделенные штаммы бактерий, обладающие особыми свойствами, которые депонированы в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск», нуклеотидные последовательности штаммов размещены в GenBank accession NCBI SRA.

Автором 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. Таким образом, изложенные научные положения, сформулированные выводы и практические рекомендации, основаны на результатах проведенных автором исследований и логично вытекают из результатов исследований, проведенных автором.

Теоретическая и практическая значимость работы

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

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

семейства *Bithyniidae* первых промежуточных хозяев *O. felineus*. Определена сезонная динамика микробиоценоза моллюсков.

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*.

Экспериментальными исследованиями микропаразитоценологических отношений бактерий и марит *O. felineus* установлено, что продукты жизнедеятельности (метаболиты) марит *O. felineus* оказывают ингибирующее влияние на рост бактерий *K. pneumoniae* и *S. aureus*, а бактерии не влияют на жизнеспособность марит *O. felineus*.

Определена роль бактерий рода *Aeromonas*, населяющих водные объекты обитания промежуточных хозяев *O. felineus*, как этиологических агентов инфекционных заболеваний человека. Эти бактерии предложены в качестве критерия оценки воды водных объектов и рыбной продукции по микробиологическим показателям.

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 промежуточных хозяев *O. felineus* и штаммов бактерий рода *Aeromonas*. Коллекции штаммов бактерий могут быть использованы для изучения механизмов резистентности и штаммового разнообразия возбудителей бактериальных инфекций, в том числе инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

Практическая значимость работы Катаевой Л. В. определяется предложенным и запатентованным способом расшифровки вспышек бактериальных инфекций и определения источника заражения (патент на изобретение № 2696101 РФ от 24.07.2018). Способ апробирован и

применяется учреждениями Роспотребнадзора по Тюменской области в эпидемиологическом расследовании вспышек инфекций бактериальной этиологии (акт внедрения от 14.01.2020 г.); используется в учебном процессе ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора в рамках программы дополнительного профессионального образования «Бактериология» в образовательном центре института. Результаты научного исследования включены в разделы учебной программы кафедры микробиологии ФГБОУ ВО ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России «Экология микроорганизмов» и «Частная бактериология» (акт внедрения от 21.01.2020 г.).

Апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях

Основные положения диссертации и материалы исследований доложены на 12-ти научно-практических конференциях международного, всероссийского и регионального уровней. Результаты исследования отражены в 46 печатных работах, в том числе в 19 публикациях в изданиях, включенных в перечень рецензируемых научных журналов, 23 – в материалах конференций и прочих изданиях. Автором получены 4 патента РФ на изобретение.

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 Любови Владимировны написана по традиционному плану с логическим изложением результатов собственных исследований. Работа изложена на 256 страницах, иллюстрирована 28 таблицами и 46 рисунками, содержит 2 приложения. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, 4 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений, списка литературы и приложений.

Последовательность глав соответствует порядку поставленных задач, сформулированным положениям, выносимым на защиту и выводам. Содержание диссертации полностью отражено в автореферате.

Во введении представлены актуальность темы исследования, степень ее разработанности, цель, задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Диссертантом подробно изложена методология и методы исследования, использованные для достижения цели, определен предмет изучения и дана характеристика материалов исследования, сформулированы основные положения, выносимые на защиту, обоснована достоверность полученных результатов.

Обзор литературы основан на 313 литературных источниках, из которых 193 - отечественные и 120 – зарубежные. Обзор литературы включает 2 раздела. В первом разделе проанализированы структура, свойства, функции микробиоты толстой кишки человека, этиологические факторы нарушений микробиоценоза. Второй раздел посвящён анализу паразитоценоза в паразитарной системе. Представлены данные о паразитоценологических взаимоотношениях при инфекционно-инвазионном процессе. Проведённый Катаевой Л. В. анализ литературных источников, позволяет осмыслить актуальность темы исследования и составить представление о нерешенных вопросах этого научного направления.

Во второй главе «Видовой состав и структура микробиоценоза толстой кишки при паразитарных инвазиях» представлены материалы о состоянии микробиоценоза толстой кишки пациентов при различных паразитарных инвазиях и приведены сравнительные характеристики микрoэкологической системы толстой кишки при воспалительных заболеваниях желудочно-кишечного тракта. Исследования комплексов генов вирулентности и сиквенс серогрупп *E. coli* свидетельствуют о том, что описторхозная инвазия в большей степени влияет на колонизацию организма человека штаммами *E. coli*, носителями кластеров генов патогенности и вирулентности, что возможно связано с нарушением иммунитета, либо более выраженным

влиянием метаболитов *O. felineus*. Показано, что нарушения микробиоценоза толстого кишечника у пациентов при инфекционно-инвазионном процессе регистрируются в 60,0 % случаев. Это позволяет обосновать необходимость ранней коррекции кишечного микробиоценоза у пациентов с диагнозом паразитарной инвазии.

Глава 3 «Межпопуляционные взаимодействия сочленов микропаразитоценоза» посвящена изучению паразитоценотических отношений в микропопуляциях условно патогенных бактерий и марит *O. felineus*. Показано, что метаболиты марит *O. felineus* оказывают некоторое ингибирующее влияние на рост бактерий *K. pneumoniae* и *S. aureus*, причем последних в большей степени. При совместном культивировании *in vitro* *K. pneumoniae* и *S. aureus* не оказывают угнетающего влияния на мариты *O. felineus*. Возможно, это связано на первоначальном этапе с конкуренцией за питание и воздействием продуктов обмена марит на жизнедеятельность бактерий.

В четвертой главе автор представляет результаты исследования микробиоценоза моллюсков семейства *Bithyniidae* (первых промежуточных хозяев *O. felineus*) и среды их обитания. Полученные данные свидетельствуют о широком спектре микробных популяций моллюсков и позволяют сделать вывод о том, что моллюски имеют автохтонную и аллохтонную микробиоту, которая, безусловно, оказывает влияние на его защитные механизмы. Автором сделан вывод о влиянии микробиоценоза моллюсков на приживаемость яиц в его организме. Диссертант выдвигает научную гипотезу о том, что микробиота, формируя колонизационную резистентность, препятствует физиологической адаптации яиц в организме моллюсков, и как следствие – запуску цикла развития *O. felineus*.

Поскольку доминирующей флорой в микробиоценозе моллюсков являются бактерии рода *Aeromonas*, обосновано изучение их распространенности в объектах окружающей среды и клиническом материале. Этим исследованиям посвящена пятая глава. Полученные данные

свидетельствуют об этиологической значимости аэромонад в инфекционном процессе. Сравнительный анализ дендрограмм *A. hydrophila*, *A. salmonicida* и *A. veronii* клинических штаммов со штаммами, выделенными из воды и рыб, высокая степень их подобия, указывают на то, что воду и рыбу можно рассматривать как факторы передачи при аэромонадной инфекции.

В разделе «Заключение» автор анализирует полученные результаты исследования, сопоставляя их с данными мировой литературы, определяя при этом, теоретическую и практическую значимость.

Сделанные выводы полностью соответствуют поставленным задачам.

Таким образом, диссертационная работа Катаевой Любови Владимировны может быть квалифицирована как завершённое диссертационное исследование, которое по научно-практической значимости, объёму исследований, новизне и ценности полученных результатов соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук. Результаты могут быть использованы для разработки схем коррекции нарушений микробиоценоза толстой кишки в процессе реабилитации пациентов после дегельминтизации; при санитарно-микробиологической оценке воды водных объектов и рыбной продукции; для расшифровки вспышек бактериальных инфекций и определения источника заражения, с помощью предложенного автором протеомного анализа дендрограмм штаммов бактерий.

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».

Принципиальные замечания по диссертации отсутствуют. Имеется лишь замечание, касающееся использования терминологии анатомии кишечника и других понятий.

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.

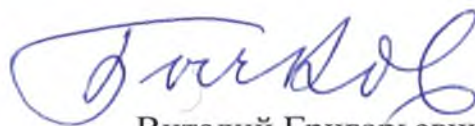
Диссертационная работа Катаевой Любови Владимировны «Микробиологические аспекты микропаразитоценоза при инфекционно-инвазионном процессе», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 03.02.03 – микробиология, 03.02.11 – паразитология по актуальности, научной 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

Профессор кафедры патологической анатомии и судебной медицины федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 625023, г. Тюмень, улица Одесская, дом 54, тел. +7 (3452) 20-21-97; e-mail: tgmu@tyumsmu.ru

доктор медицинских наук, профессор,
заслуженный деятель науки РФ



Виталий Григорьевич Бычков

Подпись доктора медицинских наук, профессора, заслуженного деятеля науки РФ Виталия Григорьевича Бычкова заверяю:

Ученый секретарь ученого совета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

кандидат медицинских наук

Светлана Владимировна Платицына

11. 02. 2021 г.