

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение  
высшего образования

«Кемеровский государственный  
медицинский университет»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации

ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России

650056, Кемерово, ул. Ворошилова, 22а  
тел./факс (8-3842) – 734856  
e-mail: kemsma@kemsma.ru  
ИНН 4206007720, КПП 420501001  
ОКПО 01963077, ОГРН 1024200713514



«УТВЕРЖДАЮ»  
И. о. ректора федерального  
государственного бюджетного  
образовательного учреждения  
высшего образования  
«Кемеровский государственный  
медицинский университет»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации  
доктор медицинских наук, доцент  
Сергей Людовикович Кан

Сергей Людовикович Кан

*августа* 2024 г

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения  
высшего образования «Кемеровский государственный медицинский  
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
(650056, Российская Федерация, Кемеровская область – Кузбасс,

г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22 А)

Диссертация Отдушкиной Ларисы Юрьевны «Биологические свойства  
энтерококков в кишечном микробиоме пациентов с туберкулезом легких» на  
соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности  
1.5.11. Микробиология выполнена на кафедре микробиологии и вирусологии  
федерального государственного бюджетного образовательного учреждения  
высшего образования «Кемеровский государственный медицинский  
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В период подготовки диссертации Отдушкина Лариса Юрьевна работала  
в должности ассистента, затем и по настоящее время в должности старшего  
преподавателя кафедры микробиологии и вирусологии федерального  
государственного бюджетного образовательного учреждения высшего  
образования «Кемеровский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Лариса Юрьевна Отдушкина в 2007 году окончила Государственное

образовательное учреждение высшего профессионального образования «Кемеровская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», медико-профилактический факультет по специальности «Медико-профилактическое дело».

Отдушкина Л. Ю. прикреплена в качестве соискателя в период подготовки диссертации по специальности 1.5.11. Микробиология к кафедре микробиологии и вирусологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедре микробиологии и вирусологии, протокол заседания Ученого совета № 5 от 28 января 2021г.

Справка об обучении № 27 от 11 октября 2021г. выдана федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель: Захарова Юлия Викторовна, доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра микробиологии и вирусологии, профессор кафедры.

По итогам обсуждения диссертации «Биологические свойства энтерококков в кишечном микробиоме пациентов с туберкулезом легких», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. Микробиология, принято следующее заключение:

Диссертация Отдушкиной Ларисы Юрьевны является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение научной задачи – определена роль кишечных энтерококков при микробиологических нарушениях, ассоциированных с противотуберкулезной терапией, что позволило повысить эффективность и оценку пробиотикотерапии при туберкулезе посредством исследования биологических свойств

энтерококков. В условиях снижения эффективности противотуберкулезного лечения подходы, связанные с использованием пробиотических препаратов и использование микробиологических критериев оценки их эффективности, являются актуальными и востребованными в клинической медицине.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации

Отдушкина Лариса Юрьевна подготовила литературный обзор на основе анализа отечественной и зарубежной литературы, самостоятельно разработала программу и план исследования, сформулировала цель и задачи, выбрала объекты, предмет, методы исследования, провела весь объем бактериологических исследований и опыты по изучению биологических свойств энтерококков и межмикробных взаимодействий с последующим анализом, интерпретировала полученные данные. Автор участвовала в пробоподготовке бактериальных образцов и экзометаболитов для хроматографических, спектральных и биологических исследований. Автором сформулированы положения, выносимые на защиту, выводы, написана научно-квалификационная работа, подготовлены основные публикации по теме диссертации, написаны методические рекомендации, сделаны доклады на научно-практических мероприятиях различного уровня.

Клинические исследования и проведение синбиотикотерапии осуществлялись с участием ассистента кафедры фтизиатрии Холодова А. А. на базе ГБУЗ «Кузбасского клинического фтизиопульмонологического медицинского центра им. И.Ф. Копыловой». Верификацию штаммов микобактерий с множественной лекарственной устойчивостью, как критерий отбора пациентов для исследования, осуществляли сотрудники лаборатории под руководством врача-бактериолога, заведующей клинической диагностической бактериологической лаборатории ГБУЗ «Кузбасского клинического фтизиопульмонологического медицинского центра им. И.Ф. Копыловой» Самоделкиной Е. В.

Физико-химические исследования (ГХ-МС, ВЭЖХ, АЭС-ИСП, ТСХ, УФ-спектроскопия) проведены совместно с заведующим лабораторией «Физико-химических исследований фармакологически активных и природных соединений» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный университет», к.ф.н., доцентом Сухих А. С.

Работа выполнена в соответствии с реализуемой в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России комплексной научно-исследовательской темы «Исследование микрофлоры населения Кузбасса в норме и при патологических состояниях» (номер государственной регистрации 01200902450).

#### Степень достоверности результатов проведенных исследований

Достоверность результатов обусловлена тщательным планированием дизайна исследования, на основе принципов доказательной медицины, значительным объемом исследований (выделен 491 кишечных изолят, поставлено 1188 опытов *in vitro* по исследованию биологических свойств бактерий), использованием общепринятых и современных методов исследования (бактериологический метод, метод эксперимента *in vitro*, а также хроматографические, спектральные методы), оборудования, имеющем сертификаты качества и свидетельства о поверке, а также соблюдением этических правил в отношении добровольцев, принявших участие в качестве субъекта исследования (протокол Этического комитета КемГМУ № 260/к от 20.02.2021). Использование компьютерного комплекса «IBM SPSS Statistics / PS IMAGO 5» («IBM/Predictive Solutions Sp z.o.o.», США) позволило обосновать результаты работы согласно принципам доказательной медицины.

#### Научная новизна

Научная новизна исследования заключается в том, что дана характеристика видовому составу и биологическим свойствам доминирующих видов энтерококков у впервые выявленных больных туберкулезом легких и при

микрoэкологическxх нарушениях, ассоциированных с противотуберкулезным лечением. Показано, что энтерококки у впервые выявленных пациентов с туберкулезом легких являются резидентными микросимбионтами, обеспечивающими колонизационную резистентность слизистой кишечника, обладающих низкой вирулентностью. Установлены непрямыe антагонистические отношения *E. faecalis* с грибами рода *Candida*, связанные с контролем энтерококками активности каталазы у *C. albicans*. Показаны метаболические взаимодействия бактерий рода *Enterococcus* с резидентами кишечного биотопа рода *Bifidobacterium*, обусловленные протеолитическими свойствами энтерококков. Обнаружены партнерские взаимодействия в форме протокооперации между *E. faecalis* и *E. faecium* при использовании глюкозы в качестве источника питания, направленные на выработку молочной кислоты и поддержание стабильного уровня кислотности среды.

Прием в среднем  $34,4 \pm 2$  доз противотуберкулезных препаратов второго ряда ведет к развитию декомпенсированных микрoэкологическxх нарушений, что сопровождается ростом числа биовариантов энтерококков с факторами вирулентности - продуцирующими цитолизин (гемолизин), липазу и цинк-зависимую протеазу.

Проведена оценка эффективности курса пробиотикотерапии у пациентов с диспептическим синдромом, ассоциированным с противотуберкулезной терапией. После приема синбиотика достоверно увеличивались титры лактобацилл и снижалась частота колонизации слизистой *C. albicans*, что сопровождалось нивелированием диареи, тошноты/рвоты, как проявлений диспепсии. Показано, что микроэлементный, жирнокислотный состав энтерококков, их лактатобразующая активность могут использоваться как индикаторы положительных эффектов пробиотикотерапии.

#### Теоретическая и практическая значимость результатов диссертационного исследования

Получены новые данные о межмикробных трофических и метаболомных взаимодействиях энтерококков разных видов с бифидобактериями, грибами

рода *Candida*, что расширяет представления о механизмах функционирования микробиома кишечника при различных заболеваниях и о вкладе отдельных симбионтов и их экзометаболитов в жизнедеятельность микробного сообщества.

На кафедре микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО КемГМУ сформирована коллекция энтерококков с разными биологическими свойствами от пациентов с туберкулезом легких, позволяющая осуществлять дальнейшие фундаментальные и прикладные исследования. Штаммы *Enterococcus faecalis* ККМЧ № 48, *Enterococcus faecium* ККМЧ № 84 используются в учебном процессе для проведения практических занятий по специальностям «Медико-профилактическое дело», «Лечебное дело», «Педиатрия» (акт внедрения от 29.09.2023). Разработаны методические рекомендации «Комплексная оценка функциональных свойств энтерококков в кишечном микробиоме», где предложены критерии и методика оценки их роли в кишечном микробиоме, утвержденные 16.11.2021 г. Министром здравоохранения Кемеровской области – Кузбасса, внедренные в работу лаборатории иммунохимии ФИЦ УУХ СО РАН «Институт экологии человека» (акт внедрения от 15.05.2023).

Для пациентов с туберкулезом легких рекомендованы мероприятия, снижающие развитие гастроинтестинального синдрома, как проявления декомпенсированного дисбиоза, заключающиеся в персонифицированном исследовании микробиома и назначении пробиотиков во время приема противотуберкулезных препаратов. Для оценки эффективности коррекции микрoэкологических нарушений кишечного микробиома пробиотическими препаратами рекомендовано исследование микроэлементного и жирнокислотного состава, функциональной активности энтерококков (акт внедрения от 24.04.2024).

Результаты исследования используются в образовательном процессе кафедры микробиологии, вирусологии ФГБОУ ВО КемГМУ Минздрава России (акт внедрения от 06.06.2023 г.).

Научная специальность, которой соответствует диссертация

Диссертационная работа Отдушкиной Ларисы Юрьевны «Биологические свойства энтерококков в кишечном микробиоме пациентов с туберкулезом легких» по тематике, методам исследования, научным положениям соответствует паспорту специальности 1.5.11. Микробиология. Результаты исследования не требуют присвоения пометки «Для служебного пользования».

Ценность научных работ соискателя, полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем

По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ, в том числе 8 публикаций в изданиях, включенных в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий ВАК, 5 - тезисы конференций, 1 - методические рекомендации. Наиболее значимые работы:

1. Захарова, Ю.В. Исследование *in vitro* механизмов взаимодействия грибов *Candida albicans* с *Klebsiella pneumoniae* и *Enterococcus faecalis*, выделенных из кишечного микробиома ВИЧ-инфицированных пациентов / Ю. В. Захарова, Л. Ю. Отдушкина, А. А. Марковская, Ю. В. Несвижский, С.С. Афанасьев, Л.А. Леванова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2022. - № 4 (99). – С. 420-427.
2. Холодов, А. А. Особенности структуры сообщества грибов рода *Candida* в кишечном биотопе больных туберкулезом / А. А. Холодов, Ю. В. Захарова, Л. Ю. Отдушкина, Е. О. Брюхачева, Т. В. Пьянзова // Инфекция и иммунитет. – 2022. - № 6 (12). – С. 1169-1174.
3. Брюхачева, Е. О. Характеристика кишечной микрофлоры у детей, получающих противотуберкулезную терапию / Е. О. Брюхачева, Ю. В. Захарова, Л. Ю. Отдушкина, Т. В. Пьянзова // Инфекция и иммунитет. – 2023. - № 1 (13). – С. 156-160.
4. **Отдушкина, Л. Ю.** Микробиологическая оценка результатов пробиотикотерапии у пациентов с туберкулезом легких / Л. Ю. Отдушкина, Ю. В. Захарова, А. А. Холодов, Т. В. Пьянзова // Инфекция и иммунитет. – 2023. - № 3 (13). – С. 517-525.

Основные положения диссертации доложены на 5 научно-практических

