

ФМБА РОССИИ

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток
и предприятие по производству бактериальных препаратов» Федерального медико-
биологического агентства
(ФГУП СПбНИИВС ФМБА России)

198320, Санкт-Петербург, г. Красное Село, ул. Свободы, д.52. Тел: (812) 741-19-78, 660-06-11,

факс: (812) 741-28-95. E-mail: reception@niiivs.ru, www.spbniivs.ru
ОКПО 01895016, ОГРН 1027804601945, ИНН/КПП 7807021918/780701001

№ _____

УТВЕРЖДАЮ



Директор

В.П. Трухин

20 ____ г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической ценности диссертационной работы **Кириленко Марины Александровны** на тему **«Оценка свойств пробиотических и аутопробиотических штаммов лактобацилл разными методами»**, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Актуальность темы

Разнообразные биопрепараты, содержащие концентрат живых пробиотических микроорганизмов давно применяют для профилактики и лечения дисбиотических состояний разного генеза. Однако пробиотики имеют один существенный изъян – входящие в их состав штаммы элиминируются из кишечного тракта или из другого биотопа вскоре после прекращения их приема. Причина известна: эти микробы не приживляются в макроорганизме поскольку являются ксенобиотиками. Полагают, что в составе микробиоты здорового человека вегетируют только штаммы-резиденты, имеющие тесное сродство с эпителиальными клетками хозяина. Это определяется генами макро- и микроорганизмов, которые детерминируют экспрессию взаимно комплементарных рецепторов и лиганд.

Биотехнологическая эксплуатация производственных штаммов включает многократные пассажи на питательных средах, лиофилизацию и другие процедуры, экстремальные для бывших нежных обитателей кишечного тракта. Результат - необратимые изменения их состава и селекция только особей оптимально адаптированных к жестким условиям биотехнологических операций.

Поэтому усилия ученых и надежды врачей издавна устремлены к аутопробиотикам, которые, несмотря на сложность их изготовления и дороговизну, в идеале кажутся самым эффективным персонализированным инструментом восстановления поврежденной микробиоты.

Диссертант сосредоточила свои усилия на этом направлении, положив в основу рецептуры создаваемого биопрепарата аутоштаммы лактобацилл из кишечника потенциальных пользователей.

Лактобациллы, наряду с бифидобактериями включены в состав многих коммерческих пробиотических средств – от фармакопейных пробиотиков и БАДов до продуктов функционального питания. Помимо уже доказанной лечебно-профилактической эффективности, лактобациллы проще культивировать, чем бифидобактерии или иные пробиотические микроорганизмы кишечного тракта.

Вместе с тем, для отбора кандидатных штаммов всегда требуется использование не только известных, но и разработка новых методических решений. Их реализация должна обеспечить не только пробиотический эффект в организме пациента, но и сохранность банка персональных аутоштаммов на протяжении достаточно длительного времени. Судя по всему, такие задачи ставились в исследовании Марины Александровны Кириленко.

Все вышесказанное позволяет сделать вывод о несомненной актуальности темы диссертации.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научная новизна или её реальные элементы содержатся в следующих результатах диссертационного исследования:

- в данных о динамике физиологического состояния разных поколений клеток лактобацилл и популяции в целом при различных условиях культивирования;
- в научном обосновании применения для подбора персонализированных штаммов лактобацилл своеобразного фильтра, основанного на

разнонаправленной реакции бактерий при воздействии на них специальным образом обработанной слюны конкретного индивидуума;

- в оригинальных приемах изоляции различных аутоштаммов лактобацилл, накопления биомассы этого комплекса, пригодного к длительным срокам выживанию (до 2х лет);
- в научном обосновании эффективности и методической разработке способа оптимизации биологической активности комплекса лактобацилл и повышения их устойчивости к неблагоприятным факторам, основанного на воздействия неких веществ из «японского лесного гриба шиитаке» (*Lentinula edodes*).
- в предложении метода быстрого определения с помощью MALDI TOF специфической микробной чистоты аутопробиотического комплекса.

Значимость результатов, выводов и практических рекомендаций для развития соответствующей области науки

Диссертация не имеет выраженного прикладного характера. Однако можно рекомендовать автору продолжить исследования ближе к медицинской практике. В частности, вместе с медицинскими специалистами проверить лечебно-профилактическую эффективность своих аутопробиотиков на пациентах с дисбиозом 3-4 степени.

Определенное значение для использования в практической микробиологии могут иметь следующие результаты исследования:

- определение межвидовой биосовместимости штаммов лактобацилл, а также их устойчивости к антимикробным факторам слюны (при отборе штаммов, пригодных для конструирования аутопробиотиков);
- комплекс методических приемов получения аутопробиотического комплекса, включая использование гриба шиитаке, может быть применен в процессе приготовления молочнокислых продуктов индивидуального потребления;
- данные о сохранении жизнеспособных лактобацилл при замораживании открывают возможность создания персонального криобанка лактобацилл для неоднократного получения аутопробиотика при необходимости.

Содержание работы, ее завершенность, оформление

Основная цель работы состояла в разносторонней оценке многих фенотипических свойств лактобацилл разного происхождения. Это было сделано не только с моноштаммами (до приготовления пробиотического

комплекса), но и в его составе. По ходу исследования диссертант предложила несколько оригинальных экспериментальных решений, они защищены авторскими свидетельствами и патентами. Многие из использованных в работе методов были весьма трудоемкими, требующими от экспериментатора ювелирности манипуляций (микрокультивирование и др.), скрупулезности и огромного терпения. Каждый экспериментатор оценит это по достоинству.

Выполнен сравнительный анализ биосовместимости лактобацилл из состава различных пробиотических препаратов и молочнокислых продуктов, показана важность учета этих показателей при конструировании пробиотических препаратов. Впервые экспериментально доказано, что биологически активные вещества гриба шиитакэ стимулируют рост и устойчивость лактобацилл.

При микрокультивировании выявлено значение времени генерации клеток лактобацилл первого и второго поколений для характеристики физиологического состояния популяции на клеточном уровне. Интересные данные получены при изучении антилизоцимной активности некоторых штаммов лактобацилл. Помимо полезности данного феномена, на что указывает диссертант, у рецензента возникает смутная мысль о корреляции этого свойства с потенциальной вирулентностью (наличие плазмид и пр.).

Диссертация написана на 182 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, четырёх глав собственных исследований, содержащих описание объектов и методов исследования, а также заключения, выводов и списка сокращений. На 10 последних страницах есть Приложение с изложением некоторых экспериментальных манипуляций и таблицами.

Список использованной литературы включает 80 работ отечественных и 75 работ зарубежных источников. Работа иллюстрирована 17 рисунками и 17 таблицами, они уместны и хорошо дополняют текст. Автореферат оформлен в соответствии с требованиями ВАК и полностью отражает содержание диссертации.

Достоверность полученных результатов, выводов, практических рекомендаций

Достоверность научных положений и выводов, представленных в работе, подтверждается применением широкого спектра сертифицированных микробиологических методов, характеризующихся высокой воспроизводимостью, чувствительностью и специфичностью, а также адекватным статистическим анализом полученных данных. Все результаты

подсчитаны статистически корректно. Основные положения и выводы диссертации полностью вытекают из результатов исследования.

По материалам диссертации опубликована 31 научная работа, из них 7 в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, получено 2 патента РФ, издано учебно-методическое пособие для студентов. Результаты проведенных исследований доложены на нескольких научных конференциях.

Замечания и вопросы по работе

В тексте присутствуют отдельные опечатки и стилистические погрешности, однако они не влияют на положительную в целом оценку диссертационной работы. Это научный труд, основу которого составляет солидное микробиологическое исследование, которое при продолжении может иметь интересную прикладную перспективу.

Поскольку в работе нет данных об испытании на людях эффективности аутопробиотического комплекса индивидуального назначения, то было бы нелишним в названии темы в скобках добавить слова «экспериментальное исследование». Было уместно, на наш взгляд, в главе «Обзор литературы» представить развернутую информацию по проблеме аутопробиотиков. Также неожиданно только в главе «Материалы и методы» появляются грибы шиитаке, тут подробно излагается методика получения плодовых тел и сока из этого объекта. Остается гадать, откуда автору пришло озарение использовать данный гриб в своих экспериментах?

Просим диссертанта ответить в ходе публичной защиты на следующие вопросы:

1. На стр. 115 написано, что «полученный нами аутопробиотик содержит большое видовое разнообразие лактобацилл». Вероятно так, однако из текста и таблиц нельзя заключить, был ли определен видовой состав жизнеспособных лактобацилл в полученных образцах аутопробиотиков. Или метод MALDI TOF годится только для контроля контаминации препарата?

2. Какие, по Вашему мнению, вещества из гриба шиитаке (полисахариды или иное) могут оказывать стимулирующее действие на лактобациллы в аутопробиотическом комплексе? Есть ли какие-то сведения в литературе?

3. Каково официальное отношение нашей и зарубежной медицины к практическому применению аутопробиотиков? Имеются ли в нашей стране на этот счет регламентирующие документы?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Диссертация Марины Александровны Кириленко «Оценка свойств пробиотических и аутопробиотических штаммов лактобацилл разными методами», выполненная под руководством доктора биологических наук, профессора Кузнецова Олега Ювенальевича, является законченной научно-квалификационной работой. Совокупность полученных автором результатов содержит новое решение актуальной научной задачи отбора на основе углубленного изучения наиболее значимых биологических свойств лактобацилл для конструирования аутопробиотиков и классических пробиотиков.

Диссертационная работа Кириленко Марины Александровны по актуальности, научной новизне и значимости результатов, объему проведенных исследований соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года № 335, от 02 августа 2016 года № 748, от 29 мая 2017 года № 650, от 28 августа 2017 года № 1024, от 01 октября 2018 года № 1168), предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а её автор Кириленко Марина Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Отзыв был рассмотрен и утвержден на заседании Ученого совета ФГУП СПбНИИВС ФМБА России, протокол № 1 от 23 марта 2022 г.

Советник Аппарата советников ФГУП СПбНИИВС ФМБА России,
лауреат Государственной премии СССР,
д.м.н., профессор

А.М. Королук

Первый заместитель директора
ФГУП СПбНИИВС ФМБА России

А.Э. Евтушенко

*Подписи Королук АМ и Евтушенко АЭ
удостоверено.
Начальник отдела кадров
Н.В. Дмитриева СВ
11.04.2022*

