

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Лушникова Алексея Валерьевича

«БАКТЕРИОСТАТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ В СОСТАВЕ МЕТАБИОТИКА
ДЛЯ КОРРЕКЦИИ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА»,

представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук по
специальности 1.5.6. Биотехнология

Актуальность исследования.

В последние годы в качестве новых приемов поддержания и восстановления микробной экологии человека начинают использовать метабиотики – низкомолекулярные микробные соединения, способные влиять на процессы, функции и реакции различных органов и тканей. Метабиотиками могут выступать как самостоятельные средства, так и полусинтетические, синтетические и гибридные производные структурные компоненты пробиотических микроорганизмов, и/или их метаболитов. На сегодняшний день в аптеках можно найти большое количество метабиотиков – лекарств и БАДов на основе метаболитов бактерий, которые за счет своего состава имеют возможность регуляторного действия в системе микробиоценоза для восстановления кишечной микрофлоры. Метабиотики широко используются не только для коррекции дисбиотических расстройств, но и для профилактики различных заболеваний. Большой научный интерес представляют препараты, основанные на комбинации микробных метаболитов, в особенности, полученные при культивировании микробных композиций. Актуальность данного направления не вызывает сомнений и подтверждается немалым количеством трудов, направленных на изыскание продуцентов, и изучению спектров биологически активных веществ и механизмов их действия.

Научная новизна.

Для *T. atrobrunneum* ВКПМ F-1434 разработаны оригинальная питательная среда и оптимальные условия культивирования. Установлен состав, природа и бактериостатическая активность, специфичность экстракта

культуральной жидкости *T. atrobrunneum* ВКПМ F-1434 и его компонентов. Разработана технология получения бактериостатической композиции и метабιοтика на ее основе. Впервые обосновано применение ветеринарного метабιοтика, содержащего в составе соединения гриба *T. atrobrunneum* ВКПМ F-1434 активные в отношении представителей кишечного микробиоценоза.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Штамм *Trichoderma harzianum* Rifai Б/л 14 депонирован в Биоресурсный Центр Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов (БРЦ ВКПМ) НИЦ «Курчатовский институт» - ГосНИИгенетика как *T. atrobrunneum* ВКПМ F-1434. Разработан комплект нормативной документации, включающий лабораторные регламенты, технические условия, технологические инструкции на производство бактериостатической композиции на основе экстракта культуральной жидкости *T. atrobrunneum* ВКПМ F-1434; экстракта биомассы консорциума *Lactobacillus paracasei* и *Lactobacillus acidophilus*; а так же комбинированного метабιοтика для коррекции микробиоценоза кишечника. Разработан метод определения массовой доли экстракта культуральной жидкости *T. atrobrunneum* ВКПМ F-1434 в составе биопродукции. Материалы диссертации используются в учебном процессе при чтении лекций по дисциплинам «Медицинская биотехнология», «Технология антибиотиков» студентам направления подготовки 19.03.01 – Биотехнология в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Орловский государственный аграрный университет имени Н.В. Парахина» Министерства науки и высшего образования РФ.

Результаты диссертационного исследования могут быть рекомендованы для ознакомления и внедрения в научных и образовательных организациях, а также на предприятиях, где ведутся исследования и разработки в области микробиологического синтеза биологически активных веществ медицинского и ветеринарного назначения.

Степень обоснованности и достоверность результатов работы.

Научные результаты экспериментальных данных обработаны методами математической статистики, на основании чего положения и выводы по

результатам следует считать аргументированными, обоснованными и достоверными.

Апробация работы.

Основные положения и результаты диссертационной работы были доложены на XIII Международной научно-практической конференции «Современные тенденции развития науки и технологий» (Белгород, 2016); Всероссийской научно-практической конференции «Продовольственная безопасность: от зависимости к самостоятельности» (Орёл, 2017); Всероссийской научно-практической конференции «Микробные технологии в птицеводстве и животноводстве» (Казань, 2018); Международной научно-практической конференции «Производство и переработка сельскохозяйственной продукции: менеджмент качества и безопасности» (Воронеж, 2018); Всероссийской научно-практической конференции «Современные аспекты биобезопасности продукции животноводства» (Орёл, 2018); Международной научно-практической конференции «Пищевая индустрия в современных условиях: тренды и инновации» (Орёл, 2023); на II Национальной научно-практической конференции «Передовые научно-технические проекты в биотехнологии» (Орёл, 2023); Международной научно-практической конференции «Научные исследования - сельскохозяйственному производству» (Орёл, 2023).

Соответствие паспорту научной специальности.

Работа соответствует паспорту научной специальности 1.5.6. Биотехнология по направлениям исследования 1. «Генетические, селекционные и иммунологические исследования в прикладной микробиологии, вирусологии и цитологии»; 3. «Изучение и разработка технологических режимов выращивания микроорганизмов-продуцентов, культур тканей и клеток растений и животных для получения биомассы, ее компонентов, продуктов метаболизма, направленного биосинтеза биологически активных соединений и других продуктов, изучение их состава и методов анализа, технико-экономических критериев оценки, создание эффективных композиций биопрепаратов и разработка способов их применения».

Публикации.

По материалам диссертации опубликовано 21 печатная работа, из них 8 публикаций в журналах, рекомендованных к изданию ВАК, 9 – в материалах конференций различного уровня, 1 патентное депонирование штамма, 3 патента.

Структура и объем диссертации.

Диссертационная работа изложена на 166 страницах машинописного текста, состоит из введения, 4 глав, выводов, списка литературных источников, включающего 268 наименований, в том числе 105 иностранных, 36 таблиц, 32 рисунка, 14 приложений. Работа выполнена при поддержке гранта Фонда содействия развития малых форм предприятий в научно-технической среде – программы «У.М.Н.И.К.» 2014-2016 гг.

Выводы, сделанные автором, логически следуют из анализа экспериментальных данных, имеют новизну. Содержание автореферата находится в соответствии с диссертацией и отражает ее основные положения.

Оценивая диссертационную работу А.В. Лушникова, следует отметить, что она не лишена недостатков:

1. Текст диссертации содержит стилистически неудачные обороты, лексические, грамматические ошибки, несогласованные члены предложений, а так же некорректные выражения, например: «Путем математического моделирования и оптимизации получен экстракт...» (с. 7 диссертации) и т.д.
2. Диаграммы выполнены в черно-белых тонах с разной штриховкой, что затрудняет восприятие (рис. 3, 12, 32). Рисунки и таблицы имеют разное форматирование по всей диссертации, иногда подписи трудночитаемы, так как выполнены очень мелким шрифтом (рис. 7, 32).
3. В разделе 3.5.4 «Анализ состава экстракта культуральной жидкости *T. atrobrunneum* ВКПМ F-1434» автор очевидно хотел применить метод главных компонент для выбора элюентов. Однако метод был реализован частично, завершен на этапе определения собственных чисел корреляционной матрицы.
4. В таблице 23 «Расчет теоретической молекулярной массы фракций»

приводятся показатели m/z . Непонятно каким образом автор получил эти значения.

5. В разделе 4.2.1 «Обоснование выбора компонентов метабиотика» впервые упомянуты штаммы *Lactobacillus paracasei* и *Lactobacillus acidophilus*, полученные из микробиоты ЖКТ поросят-отъемышей, в качестве источника БАВ для метабиотика. Однако, в теме диссертации говорится о метабиотике, содержащем бактериостатическую композицию, которой посвящена вся экспериментальная часть. Следовало бы внести ясность, каким образом в метабиотик попали БАВ лактобацилл.

6. *Lactobacillus paracasei* – устаревшее наименование штамма. С апреля 2020 г. переклассифицирован как *Lacticaseibacillus paracasei subsp. paracasei* (Zheng J. et al., 2020. Int.J.Syst.Evol.Microbiol, 70(4): 2782-2858. DOI: 10.1099/ijsem.0.004107).

7. В разделе 4.2.2 (указан с опечаткой как 4.2.1) «Технология получения метабиотика для коррекции микробиоценоза кишечника» стадия III «Получение энтеросорбента», непонятно с какой целью автор проводит ферментативный гидролиз.

8. В разделе 4.4 «Экспериментальное подтверждение коррекции микробиоценоза кишечника в опыте *in vivo*» автор заявляет о коррекции микробиоценоза кишечника предлагаемым метабиотиком, однако, по результатам количественного анализа микробиома испражнений лабораторных животных наблюдается незначительное изменение состава в пределах ΔlgC 1–2. Нельзя назвать удачным выбор методики подсчета КОЕ на чашках по Коху, когда доступны более точные молекулярные диагностикумы.

9. Выводы написаны излишне подробно и представляют собой скорее краткое изложение содержания диссертационной работы соискателя, однако соответствие поставленным целям соблюдено.

Сделанные замечания не снижают положительной оценки диссертации и носят рекомендательный характер.

Заключение

Поставленная автором цель достигнута, задачи полностью решены.

Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации. Диссертационная работа Лушников Алексея Валерьевича представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой на основании выполненных автором исследований предложены новые научно обоснованные технические и технологические решения по получению метабитиков и препаратов на их основе, имеющие существенное значение для медицинской и ветеринарной биотехнологии. Материалы, изложенные в диссертации, соответствуют направлениям исследований паспорта специальности 1.5.6. Биотехнология.

На основании выше изложенного и с учетом новизны, теоретической и практической значимости считаю, что диссертационная работа на тему: «Бактериостатическая композиция в составе метабитика для коррекции микробиоценоза кишечника», полностью отвечает требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в текущей редакции), а ее автор Лушников Алексей Валерьевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

« 20 » мая 2024 г.

Заместитель директора по научной работе Всероссийского научно-исследовательского института пищевых добавок – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем имени В.М. Горбатова» Российской академии наук. 191014, Санкт-Петербург, Литейный проспект, 55. +7 (812) 273-75-24. vniiipakk55@mail.ru

доктор технических наук
профессор Российской академии наук
n.sharova@fncps.ru



Наталья Юрьевна Шарова

Подпись Шаровой Натальи Юрьевны удостоверяю

*Секретарем по кафедре
Александр Александрович Н.С.
20.05.2024*