

УТВЕРЖДАЮ

Ректор ФГБОУ ВО «Кемеровский



Государственный университет», доктор

биологических наук, член-корр. РАН

Просеков А.Ю.

2024 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Кемеровский государственный университет»
на диссертационную работу Лушникова Алексея Валерьевича
«Бактериостатическая композиция в составе метабиотика для коррекции
микробиоценоза кишечника», представленную к защите на соискание учёной
степени кандидата технических наук по специальности 1.5.6 Биотехнология

Актуальность темы диссертационного исследования

Диссертационная работа Лушникова А.В. посвящена разработке бактериостатической композиции, входящей в состав метабиотика для коррекции микробиоценоза кишечника.

Мероприятия, направленные на лечение и профилактику дисбиотических расстройств желудочно-кишечного тракта, включают применение препаратов, направленных на восстановление нормальной микробиоты: пробиотики, преобиотики, синбиотики и т.д. Метабиотики – это разновидность пробиотиков метаболитного типа, в основу которых входят биологически активные вещества одного или нескольких продуцентов. Обычно такие метаболиты легки в получении, стабильны при хранении, устойчивы к воздействию кислоты и ферментативной системы проксимальных отделов ЖКТ, имеют высокую биологическую активность. Одним из преимуществ метабиотиков является

возможность применения с антибиотиками. Положительное воздействие на микробиоту кишечника проявляется подавлением роста патогенных микроорганизмов, восстановлением числа симбиотического биотопа, производящего собственные полезные метаболиты.

С этой точки зрения постановка проблемы диссертационного исследования является **актуальной**.

Общая характеристика диссертационной работы

Работа выполнена при поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической среде – программы «У.М.Н.И.К.» 2014-2016 гг.

Структура и объём диссертационной работы

Научно-квалификационная работа, отражающая результаты научных исследований автора, и представленная на соискание ученой степени в виде рукописи, и автограферат оформлены в соответствии с ГОСТ Р 7.0.11-2011. Диссертационная работа Лушникова А.В. изложена на 166 страницах машинописного текста, состоит из введения, 4 глав, выводов, списка литературных источников, 36 таблиц, 32 рисунка, 14 приложений.

Во введении диссертации изложено обоснование актуальности темы, сформулированы цели и задачи работы, отражена научная новизна, теоретическая и практическая значимость, положения, выносимые на защиту, обоснована достоверность результатов, представлены данные об апробации работы, указано соответствие диссертации паспорту специальностей ВАК – 1.5.6 Биотехнология.

В первой главе автор рассматривает понятия эубиоза и дисбиоз кишечника; источник БАВ: облигатную микробиоту и грибы рода *Trichoderma*; пробиотики для коррекции микробиоценоза кишечника; применение пробиотиков в ветеринарной медицине. Список использованной литературы включает 268 наименований отечественных и зарубежных источников, из которых 105 – зарубежных (39,1 %) и 84 – опубликованных за последние 10 лет (31,4 %).

Во второй главе описываются объекты исследования; перечислены использованные реагенты, расходные материалы и оборудование с указанием названия/модели, каталожного номера/нормативного документа, производителя. Подробно изложены методы культивирования микроорганизмов, микробиологического, физико-химического анализа, планирования эксперимента, статистической обработки и оптимизации.

В третьей главе проанализированы результаты собственных исследований. Осуществлен поиск перспективного штамма-продуцента БАВ, обладающих бактериостатической активностью в отношении патогенных микроорганизмов. Проведена идентификация, изучение физиологобиохимических свойств, подбор питательной среды и условий культивирования штамма-продуцента *Trichoderma atrobrunneum* ВКПМ F-1434. Определен способ экстракции БАВ с бактериостатической активностью, изучен состав, физико-химические и биологические свойства.

В четвертой главе предложена технология получения бактериостатической композиции на основе экстракта культуральной жидкости *T. atrobrunneum* ВКПМ F-1434 и технология получения метабиотика для коррекции микробиоценоза кишечника, а так же приводятся результаты их испытаний.

В методологической основе исследования решение поставленных задач осуществлялось на базе применения сравнительного, системного и структурного подходов, статистического анализа и синтеза, графического моделирования. Положения теории основываются на известных фундаментальных и прикладных научных достижениях, сопряженных с предметом исследования.

В целом, основные **выводы и результаты** диссертационной работы представляются **научно обоснованными и достоверными**. Их обоснованность и достоверность определяется использованием взаимно дополняющих методов теоретических и экспериментальных исследований и подтверждается соответствием полученных результатов известным теоретическим

представлениям.

Апробация исследований в научной печати и на международных и всероссийских конференциях подтверждает правильность результатов и корректность выводов.

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).

Степень обоснованности и достоверности

Степень достоверности подтверждается достаточно большим количеством экспериментов как стандартных, общепринятых, так и специальных биохимических, физико-химических, биотехнологических, микробиологических методов исследования с детальным описанием методик постановки, что обеспечивает возможность воспроизведения полученных результатов и подтверждения их достоверности. Научные результаты экспериментальных данных обработаны методами математической статистики, на основании чего положения и выводы по результатам следует считать

аргументированными, обоснованными и достоверными.

Научная новизна полученных результатов работы определяется следующим:

- впервые обосновано применение биологически активных соединений гриба *T. atrobrunneum* ВКПМ F-1434 в отношении представителей кишечного микробиоценоза в составе ветеринарного метабиотика;
- разработаны оригинальная питательная среда и оптимальные условия для культивирования продуцента;
- получен экстракт культуральной жидкости *T. atrobrunneum* ВКПМ F-1434, установлен состав, природа и бактериостатическая активность, специфичность экстракта и его компонентов;
- разработана технология получения бактериостатической композиции и метабиотика на ее основе.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы Лушникова А.В. не вызывает сомнений. Полученные результаты отвечают потребностям важного направления в области биотехнологии – вопросам получения биопродукции лечебно-профилактического действия, и имеют большое практическое значение для разработки пробиотических препаратов для коррекции микробиоценоза кишечника. Значимость для науки и производства подтверждается созданием при непосредственном участии автора технической документации, патентами на изобретения.

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 лабораторный регламент на производство бактериостатической композиции на основе экстракта культуральной жидкости *T. atrobrunneum* ВКПМ F-1434.

Разработан лабораторный регламент на производство экстракта биомассы консорциума *Lactobacillus paracasei* и *Lactobacillus acidophilus*.

Разработан комплект документации на производство комбинированного метабиотика для коррекции микробиоценоза кишечника.

Разработан метод определения массовой доли экстракта культуральной жидкости *T. atrobrunneum* ВКПМ F-1434 в составе биопродукции.

Полученные результаты исследования подтверждают перспективность использования бактериостатических соединений *T. atrobrunneum* ВКПМ F-1434 в создании средств коррекции микробиоценоза животных.

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. Парамахина» Министерства науки и высшего образования РФ.

Автореферат полностью отражает содержание диссертационной работы.

По теме диссертации опубликовано 21 научная работа, из них 8 в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ для публикации результатов диссертационных работ, 9 – в материалах конференций различного уровня, 1 патентное депонирование штамма, 3 патента РФ.

В целом диссертация Лушникова А.В. заслуживает высокой оценки. Работа структурирована логично, изложена последовательно, с представлением по каждому разделу коротких промежуточных заключений, являющихся обоснованием перехода к следующему этапу исследований. Рисунки, таблицы и схемы наглядно отражают полученные экспериментальные данные, а сопровождающая их текстовая часть содержит анализ и обсуждение полученных результатов. Достоверность результатов, полученных на основании большого объема тщательно спланированных экспериментов, подтверждена статистическим анализом и не вызывает сомнений.

Вместе с тем имеются следующие **замечания и рекомендации**:

1. Восприятие диссертационной работы осложнено большим объемом выполненных исследований, в связи с этим, в диссертации следовало бы представить общую схему эксперимента.
2. Чем обоснован выбор микробного продуцента в отношении представителей кишечного микробиоценоза из рода *Trichoderma* spp.? Эти грибы-антагонисты используются в основном в биологической защите растений.
3. В диссертационном исследовании представляется целесообразным рассмотреть не только специфичность биологической активности предлагаемого метабиотика в отношении представителей микробиоценоза кишечника, но и влияние данной биопродукции на организм экспериментальных животных и на показатели клеточного иммунитета.
4. В работе отражен разработанный диссидентом метод определения массовой доли экстракта культуральной жидкости *T. atrobrunneum* ВКПМ F-1434 в биопродукции. Следует пояснить, для достоверной оценки какого состава биопродукции этот метод может быть использован?

Указанные замечания и рекомендации не снижают научной ценности и практической значимости выполненной диссертационной работы.

Содержание диссертации позволяет заключить, что она соответствует паспорту научной специальности ВАК 1.5.6. Биотехнология: п. 3 «Микробная и клеточная биотехнология»; п. 9 «Медицинские биотехнологии. Создание лекарственных форм, комбинированных препаратов и биологически активных препаратов. Технологии производства вакцин. Средства диагностики вирусных, бактериальных и грибных болезней»; п. 25 «Технологии биологически активных соединений и биопрепаратов»; п. 29 «Оценка безопасности, качества и функционального потенциала биотехнологических штаммов-продуцентов. Молекулярно-генетическое маркирование штаммов – продуцентов. Методы контроля подлинности биотехнологических продуктов».

Заключение

Диссертационная работа Лушникова Алексея Валерьевича «Бактериостатическая композиция в составе метабиотика для коррекции микробиоценоза кишечника» является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной задачи – создание биопродукции лечебно-профилактического направленности на принципах биотехнологии, и удовлетворяет требованиям п. 9-11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в текущей редакции). Автор, Лушников Алексей Валерьевич, заслуживает присуждения учёной степени кандидата технических наук по специальности 1.5.6 Биотехнология.

Отзыв обсужден на заседании кафедры бионанотехнологии, протокол №11 от 03.05.2024 г. Присутствовало на заседании 11 человек, в обсуждении приняли участие 3 человека. Результаты голосования: «за» – единогласно, «против» – нет, «воздержалось» – нет.

Отзыв подготовил:

Доктор технических наук, доцент,
профессор кафедры бионанотехнологии
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
образования «Кемеровский государственный

университет»

Асякина Людмила Константиновна



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный университет».

Адрес: 650000, г. Кемерово, ул. Красная, 6.

E-mail: rector@kemsu.ru, +7 (3842) 58-12-26