

Отзыв официального оппонента

на диссертационную работу Лушников 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 темы диссертации. Метабиотики являются естественной эволюцией концепции пробиотиков и считаются на шаг впереди живых пробиотиков, благодаря их четко определенной химической структуре, дозировке, безопасности, специфичности, метаболическим аспектам и длительному сроку хранения. Метабиотики характеризуются высокой биодоступностью, не вступают в конфликт с собственной микробиотой, начинают работать, как только попадают в желудочно-кишечный тракт, а так же лучше всасываются, метаболизируются, и выделяются. Нарушения кишечной микрофлоры является функциональным расстройством, способным привести к нарушению работы желудочно-кишечного тракта и других органов и систем. Применение метабиотиков обеспечивает коррекцию дисбиотических изменений микрофлоры ЖКТ за счет подавления условно-патогенных микроорганизмов и стимуляции функциональной активности нормальной микрофлоры, позволяет создать управляемый микробиоценоз кишечника. Использование сорбентов в качестве средства доставки обеспечивают большую сохранность и пролонгируют эффект от биологически активных веществ (БАВ) за счет их постепенного высвобождения. Поиск продуцентов БАВ, способных подавлять рост патогенных микроорганизмов, и разработка препаратов на их основе представляет значительный интерес и говорит об актуальности выполненной работы диссертантом Лушниковым Алексеем Валерьевичем.

Научная новизна. Впервые обосновано применение биологически активных соединений гриба *T. atrobrunneum* ВКПМ F-1434 в отношении представителей кишечного микробиоценоза в составе ветеринарного метабиотика. Для продуцента разработаны оригинальная питательная среда и оптимальные условия культивирования. Путем математического моделирования и оптимизации 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 работы. Полученные результаты исследования подтверждают перспективность использования бактериостатических соединений *T. atrobrunneum* ВКПМ F-1434 в создании средств коррекции микробиоценоза кишечника животных. 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.

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.

Полученные автором диссертации научные результаты могут быть рекомендованы для ознакомления и внедрения в организациях и на предприятиях, где ведутся исследования в области микробиологического синтеза БАВ и разработки препаратов медицинского и ветеринарного назначения на их основе.

Оценка содержания работы. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, характеристики объектов и методов исследований, четырех экспериментальных глав, выводов, библиографического списка и приложений. Работа содержит 166 страницы машинописного текста, 36 таблиц и 32 рисунка, 14 приложений. Библиография включает 268 наименований, из них 105 зарубежных источника

Во «Введении» диссертантом обоснована актуальность темы, определены цель и задачи исследования, отражена научная новизна работы, практическая значимость и апробация результатов.

В первой главе проведен обзор литературы, раскрывающий современное состояние на рынке пробиотических препаратов. Собраны сведения по источникам биологически активных веществ, способам их применения для коррекции состава кишечного микробиома. Рассмотрены основные причины, механизмы развития дисбиотических расстройств и способы их коррекции.

Во второй главе представлены объекты и методы исследований. Автором использовано большое количество аналитических методик с детальным описанием постановки, включающие физико-химические и микробиологические. Биотехнологический эксперимент заложен с помощью методов планирования. Первичные данные получены в

трехкратной повторности, обработаны и обоснованы статистическими методами.

В третьей главе представлены результаты исследований, отражающие выбор продуцента биологически активных метаболитов, и оптимизацию условий его культивирования, а так же подбор условий выделения БАВ.

В четвертой главе представлена технология получения бактериостатической композиции на основе биологически активных соединений *T. atrobrunneum* ВКПМ F-1434, обладающих антибактериальной и активностью. Изложены результаты испытаний на лабораторных животных, Разработан метод оценки качества и количества действующего вещества в метабиотике для коррекции микробиоценоза кишечника.

Выводы, сделанные автором, логически следуют из анализа экспериментальных данных, имеют новизну и отражают основное содержание диссертационной работы соискателя.

Основные материалы диссертационного исследования опубликованы в 28 печатных изданиях, в том числе – 9 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ. Содержание автореферата находится в соответствии с диссертацией и отражает ее основные положения.

Общие замечания:

1. В работе представлены результаты испытаний бактериостатической композиции по ГОСТ 31647-2012 «Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения общей токсичности» и ГОСТ 31926-2013 «Средства лекарственные ветеринарного применения. Методы определения безвредности». Стоит отметить, что диссертантом реализованы не все тесты, содержащиеся в перечисленных документах.

2. Не указано в каких условиях производился эксперимент с участием лабораторных животных, имеется ли разрешение на содержание животных и выполнение данных исследований.

3. Диссертантом предлагается ряд комбинаций бактериостатической композиции с бета-лактамными антибиотиками. Не понятно, чем обоснован выбор именно Амоксициллина, Меропенема и Цефазолина.

4. Пункт 4.1.4. Критерии подлинности экстракта культуральной жидкости *T. atrobrunneum* ВКПМ F-1434 дублирует пункт 3.5 Получение, изучение свойств и состава экстракта культуральной жидкости *T. atrobrunneum* ВКПМ F-1434.

5. Автор проводит сравнение предлагаемого метабиотика с коммерческим препаратом «Симбиолакт». Как можно объяснить, что лабораторный образец метабиотика оказался более эффективен чем препарат фабричного производства, при этом изменения количественных показателей микробиома в обоих случаях имеют несущественную разницу.

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

Заключение. Диссертационная работа А.В. Лушниковой представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, в которой на основании выполненных автором исследований предложены новые научно обоснованные технические и технологические решения по микробиологическому синтезу биологически активных веществ, имеющие важное значение для пищевой и фармацевтической биотехнологии, соответствует паспорту научной специальности 1.5.6. Биотехнология по направлению исследования 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».

Диссертационная работа А.В. Лушников «Бактериостатическая композиция в составе метабитока для коррекции микробиоценоза кишечника» соответствует требованиям п. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней» (утв. постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 в действующей редакции), а её автор Лушников Алексей Валерьевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

20 / 05 / 2024 г.

Заведующий отделением биотехнологии, ведущий научный сотрудник лаборатории ветеринарной биотехнологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»). 420075, Российская Федерация, Республика Татарстан, г. Казань, Научный городок-2.

+7 (843) 239-53-20. vnivi@mail.ru

доктор биологических наук по специальностям: 06.02.03 – Ветеринарная фармакология с токсикологией; 06.02.02 – Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

anuta.tremasova@yandex.ru

Анна Михайловна Тремасова

