



Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
Федеральное бюджетное учреждение науки

**«НИЖЕГОРОДСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ
им.академика И.Н.Блохиной»
(ФБУН ННИИЭМ им.академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора)**

Малая Ямская ул., д. 71, г. Нижний Новгород, 603950

тел. (831) 469-79-01, факс (831) 469-79-20
E-mail: niiem@yandex.ru

17.12.2024 № 152-50-02/07-1432-2024

на № _____ от _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН ННИИЭМ
им. академика И.Н. Блохиной
Роспотребнадзора

доктор медицинских наук
Наталья Николаевна Зайцева



[Handwritten signature]

_____ 2024 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации
Шеблаевой Анны Сергеевны

«Экспериментальное обоснование применения аутопробиотика для
восстановления микробиоценоза полости рта человека в условиях
искусственной среды обитания», представленной на соискание ученой
степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.7 –
Авиационная, космическая и морская медицина (медицинские науки)

Актуальность темы диссертационного исследования

Вопросы диагностики и профилактики изменений микробиоценоза
организма человека традиционно относятся к числу наиболее актуальных,
сложных и во многом нерешённых проблем медицины в целом и
авиационно-космической медицины в частности. При освоении космоса,

ИМБП ВХ. № 08/4155
от «28» 12 2024 г.

океана и земных недр создаются биоизолированные искусственные антропоэкосистемы с модифицированными параметрами среды обитания, длительное пребывание в которой накладывает определенные риски на здоровье человека. Условия изолируемого, сравнительно небольшого помещения с постоянно кондиционируемым воздухом, наличие радиационного излучения, перераспределение жидкостных сред организма в условиях невесомости и много другое, приводит к изменению работы всего организма, в том числе и экосистемы человек-микробиота.

Ранее проведенные исследования показали, что нахождение в условиях измененной среды обитания резко повышает уровень микробной обсемененности ротовой полости, обуславливает рост условно патогенных микроорганизмов и снижает протективную активность микробиоты, что в свою очередь приводит к развитию воспалительных реакций слизистой полости рта и десен. Как известно, одним из методов стимуляции иммунной системы и нормализации микробиоценоза являются пробиотики. Доказано, что прием пробиотиков в период подготовки космонавтов в условиях искусственной среды обитания содействует снижению воспалительных реакций в пародонте.

В настоящее время в качестве источника пробиотических микроорганизмов при различных заболеваниях также рассматриваются аутопробиотики. В частности, представляется актуальным изучение эффективности использования аутопробиотиков на основе протективной микрофлоры пародонта для поддержания гомеостаза в условиях длительных пилотируемых полетов.

Следует также отметить необходимость внедрения и адаптации культурально-независимых методов для диагностики микробиоценоза в условиях космического полета, его имитации и нахождения в искусственной среде обитания, поскольку использование традиционных методов связано со значительными организационно-методическими и техническими трудностями, основными из которых являются техническая

невозможность использования (большой объем расходных материалов и трудозатратность преаналитического этапа при классическом бактериологическом методе, сложность реализации в условиях ограниченного пространства при молекулярно-генетических исследованиях), высокие требования к квалификации персонала, а также стоимость соответствующей аппаратуры.

В связи с вышеизложенным диссертационное исследование Шеблаевой А.С., посвящённое вопросам выбора оптимального метода оценки микробиоты пародонта и экспериментального обоснования применения аутопробиотиков для восстановления микробиоценоза полости рта человека в условиях искусственной среды обитания, представляет несомненный научно-практический интерес и может быть признано актуальным.

Научная новизна и практическая значимость полученных результатов

Впервые была проведена сравнительная оценка бактериологического метода и метода масс-спектрометрии микробных маркеров (МСММ) при оценке микробиоценоза пародонта у лиц, находящихся в искусственно изменённой среде обитания.

Впервые методом масс-спектрометрии микробных маркеров при длительной изоляции в гермообъекте изучался качественный и количественный состав условно-патогенной микрофлоры полости рта у испытуемых. Расширенный высокочувствительный анализ показал динамику изменений её количества в зависимости от длительности нахождения в герметично замкнутом объекте, воспроизводящим условия изоляции, специфичные для космического корабля, а также рост таких патогенных и условно-патогенных представителей микробиоты ротовой полости как: *Streptococcus mutans*, *Fusobacterium spp.*, *Prevotella spp.*, *Porphyromonas spp.*, *Porphyromonas gingivalis*, *Candida spp.*, *Actinomyces*

spp., *Peptostreptococcus anaerobius*, *Corynebacterium spp.*, *Veilonella spp.*, *Enterococcus faecalis*, *Actinomyces viscosus*, *Klebsiella spp.*

Впервые была проведена сравнительная оценка эффективности коммерческого пробиотика на основе штамма *S.salivarius M-18* и аутопробиотиков на основе аутоштаммов *S.salivarius* в условиях искусственно измененной среды обитания. Показана более высокая эффективность аутопробиотиков в отношении патогенной и условно-патогенной микробиоты полости рта: *S.aureus*, *Prevotella spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Klebsiella spp.*

Научно-практическая и теоретическая значимость работы

Теоретически доказана и экспериментально обоснована целесообразность применения пробиотиков на основе аутоштаммов для коррекции микрофлоры полости рта у лиц, длительное время находящихся в биоизолированных искусственных антропоэкосистемах.

Получены экспериментальные данные, свидетельствующие о перспективности создания и применения аутопробиотиков на основе *S.salivarius* для лиц, длительное время находящихся в измененной среде обитания.

Метод масс-спектрометрии микробных маркеров позволяет контролировать и проводить периодический мониторинг условно-патогенной микробиоты полости рта в условиях измененной среды обитания, а также в обстоятельствах, связанных с трудностью отбора материала, его хранения и транспортировки.

Показано, что результаты исследования микробиоты пародонта и слюны, полученные методом масс-спектрометрии микробных маркеров, сопоставимы по количественной и видовой составляющей с результатами, полученными бактериологическим и ПЦР методами исследования.

Практическое применение метода масс-спектрометрии микробных маркеров в условиях измененной среды обитания, а также в

обстоятельствах, связанных с трудностью отбора материала, его хранения и транспортировки позволяет врачам-исследователям и врачам-клиницистам проводить обширное (57 микроорганизмов в одной пробе) исследование и назначить персонализированную профилактику и терапию.

Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и заключения

Для экспериментального обоснования применения аутопробиотика для восстановления микробиоценоза полости рта человека в условиях искусственной среды обитания использован экспериментальный подход.

Всего было выполнено 5 экспериментальных серий, из них 4 моделирующих различные специфические условия космического полёта:

– «Эскиз» – 14-ти суточный изоляционный эксперимент, имитирующий космический корабль, целью которого было исследование влияния стресса на организм в условиях изоляции, в частности, изучался начальный период адаптации нервной системы человека к изоляции и иммунитет членов экипажа на молекулярно-клеточном уровне.

– «Sirius 2021-22» – 240-дневный изоляционный эксперимент, имитирующий условия полета за пределы низкой околоземной орбиты, включая длительную изоляцию, отрыв от привычных условий обитания, выполнение научной и профессиональной деятельности, в том числе работ «на поверхности Луны», целью которого было обеспечение возможности освоения космоса за пределами низкой околоземной орбиты, позволяющее снизить риски для здоровья и работоспособности человека, в том числе за счет использования аутопробиотиков.

– «Immersion-7» – 7-дневный эксперимент пребывания в сухой иммерсионной ванне, имитирующей невесомость, целью которого было исследование опорной разгрузки на механизмы реализации опорных сигналов и состояние центральных механизмов систем управления движением.

– «Гипобария» – в данном эксперименте изучалась эффективность пробиотической (коммерческий пробиотик «ДентоБЛИС») и аутопробиотической терапии на условно-патогенную микробиоту полости рта в условиях измененной среды обитания (в условиях высокогорья – 3–5 тысяч метров над уровнем моря) с целью коррекции дисбиозов и поддержания местного иммунного статуса организма.

В описанных экспериментах функциональное состояние микробиома пародонта испытуемых оценивалось с помощью методов МСММ, ПЦР и классического бактериологического в различных сочетаниях.

Результаты экспериментов в достаточной степени документированы, иллюстративный материал обширен и свидетельствует о высоком качестве организации экспериментальных исследований. Все выводы диссертационного исследования основаны на большом объеме фактических материалов и применении современных методов их обработки на основе статистического анализа. Методы статистической обработки данных применены адекватно решаемым задачам.

Результаты исследований отражены в 3 статьях, опубликованных в рецензируемых журналах из перечня ВАК РФ и баз данных Scopus/Web of Science (RSCI), 4 тезисах докладов, представлены на 5 научных конференциях, получено 1 свидетельство о регистрации базы данных.

Учитывая обширный экспериментальный материал, современный уровень проведенных исследований и анализа результатов, апробации работы на международных, всероссийских и ведомственных научно-практических конференциях, достоверность научных положений и выводов сомнений не вызывает.

Структура и объём диссертационного исследования

Диссертационная работа построена по традиционному принципу, изложена на 182 страницах текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, главы, посвящённой

результатам проведённых исследований, обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, а также списка использованной литературы. Библиографический указатель включает 252 наименования, из них 136 отечественных и 112 иностранных авторов. Диссертация иллюстрирована 30 таблицами и 9 рисунками.

Во «Введении» диссертации приведены данные об актуальности работы, сформулированы её цель, задачи, научные положения, выносимые на защиту, научная новизна и практическая значимость исследования, а также сведения об апробации результатов.

Глава, посвящённая обзору литературы, содержит анализ современных подходов к применению пробиотиков и аутопробиотиков для восстановления микробиоценоза полости рта человека в условиях искусственной среды обитания, а также информационно-аналитический обзор методов анализа микробиома человека, доступных к использованию в течение космического полета и в экспериментах, имитирующих различные факторы космического полета.

Данная часть работы позволила соискателю не только охарактеризовать актуальность сформулированной темы в целом, но и определить основные направления дальнейших исследований.

Во второй главе представлены дизайн исследования, материалы, методы и объём выполненной работы.

Третья глава посвящена результатам исследований и содержит значительный объём материалов, на основании которых соискатель в сравнительных экспериментах обосновывает целесообразность использования метода МСММ для исследования микробиоты слюны и пародонта в условиях измененной среды обитания, а также доказывает эффективность применения аутопробиотиков для восстановления микробиоценоза полости рта человека в условиях космических полетов, гипобарии и холодового стресса.

Заключение подводит итог проделанной работы, в нём обобщены и проанализированы полученные данные. Выводы, представленные автором, полностью отражают полученные результаты диссертационного исследования и соответствуют поставленным задачам. Текст диссертации достаточно хорошо иллюстрирован, что облегчает восприятие материала. Разработанные методические подходы, представляют практический интерес для совершенствования лабораторной диагностики в экстремальных условиях.

Автореферат, достаточно полно отражает материалы диссертации и полностью соответствует её основным положениям.

По итогам ознакомления с текстом диссертации, возник ряд вопросов и замечаний:

1. Некорректно сформулирована третья задача, потому что нельзя методом масс-спектрометрии изучить «возможность и состоятельность работы».

2. Методика изготовления аутопробиотиков *S. salivarius*. Как подтверждали, что выбранные для приготовления аутопробиотиков штаммы *S. salivarius* являются резидентными, а не транзиторными для реципиентов?

3. В материалах и методах не указано, что в эксперименте «Гипобария» использовали «ДентоБЛИС» – коммерческую пробиотическую БАД к пище на основе штамма *S. salivarius M18*, производства MEDICO DOMUS, d.d.o. (Сербия).

4. Стр. 10, Практическая значимость – врач-клиницист не проводит исследования методом масс-спектрометрии. Это делает врач клинической лабораторной диагностики или врач-бактериолог. А вот по результатам исследования врач-клиницист назначает лечение.

5. В обзоре литературы (в таблице 3) приведены неполные данные по видовому составу микрофлоры пародонтальных карманов.

6. Рис. 14. Питательные среды обозначены буквами, в подписи к рисунку нет наименования сред, скрывающихся за буквенными обозначениями.

7. Раздел 3.4, рисунок 61 а, б — нет подписи к рисункам. Части рисунков не обозначены, не расшифрованы. Если сравнивается метод ПЦР и МСММ, почему они объединены в один цвет в легенде и в диаграмме?

8. В работе имеются опечатки и ошибки.

Отмеченные замечания не изменяют общей положительной оценки диссертационной работы и не снижают ее научной и практической ценности.

Заключение

Диссертация Шеблаевой Анны Сергеевны на тему «Экспериментальное обоснование применения аутопробиотика для восстановления микробиоценоза полости рта человека в условиях искусственной среды обитания», представленная на соискание учёной степени кандидата медицинских наук, является актуальной, законченной, выполненной с использованием современных методов, научно-квалификационной работой, в которой на основании проведенных автором исследований решена актуальная научно-практическая задача.

По своей актуальности, научной новизне и практической значимости диссертационная работа Шеблаевой А.С. соответствует пунктам 2, 5, 8, 9 паспорта научной специальности 3.3.7 — «Авиационная, космическая и морская медицина» и требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата медицинских наук (пп. 9–14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 с изменениями в соответствии с Постановлениями Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168,

от 26.05.2020 № 751, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539, от 26.09.2022 № 1690, от 26.01.2023 № 101, от 18.03.2023 № 415, от 26.10.2023 №1786, № 62 от 25.01.2024 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), а её автор, Шеблаева Анна Сергеевна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.7 – «Авиационная, космическая и морская медицина».

Диссертационная работа обсуждена на заседании лаборатории микробиома человека и средств его коррекции, отзыв одобрен на заседании Ученого совета ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, протокол № 11 от 16 декабря 2024 года.

Отзыв составлен:

В.н.с.– заведующий лабораторией микробиома
человека и средств его коррекции
ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной
Роспотребнадзора, д.б.н., доцент

 И.В. Соловьева

Подпись Соловьевой И.В. заверяю
Ученый секретарь, к.б.н.



 М.С. Снегирева