

УТВЕРЖДАЮ

Директор
ФГБНУ НИИ вакцин и
сывороток им. И.И. Мечникова,
д.м.н., профессор,
член-корр. РАН,



Свитич О.А. Свитич О.А.

17.05.2023 17.05.2023 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»

на основании решения заседания Отдела микробиологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»

Диссертация «Антимикробная активность и микробиом грудного молока на разных сроках лактации» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук выполнена на базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова».

Колыганова Татьяна Игоревна, 1995 года рождения, гражданство РФ, окончила ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) в 2019 году по специальности «Врач по общей гигиене, по эпидемиологии».

В 2021 году прикреплена к учреждению Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова" в качестве соискателя на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Справка о сдаче кандидатских экзаменов № 3/2023 от 29.05.2023 года выдана в ФГБНУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова.

С 2019 года по настоящее время работает в должности ассистента кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ИОЗ им. акад. А. А. Воробьева ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Минздрава России. С 2020 года по настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника лаборатории физиологии

грибов и бактерий ФГБНУ "Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова".

Научный руководитель:

Арзуманян Вера Георгиевна, д.б.н., профессор, заведующий лабораторией физиологии грибов и бактерий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»

Текст диссертации был проверен в системе «Антиплагиат» и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

По итогам обсуждения диссертационного исследования «Антимикробная активность и микробиом грудного молока на разных сроках лактации», представленного на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. Микробиология, принято следующее заключение:

- **Оценка выполненной соискателем работы**

Диссертация представляет собой законченное, самостоятельное исследование указанной темы.

- **Актуальность темы диссертационного исследования**

Грудное молоко представляет собой не только уникальный источник полноценного питания младенца, но и является многокомпонентным субстратом, защищающим ребенка от болезнетворных микроорганизмов. До сих пор различные исследования касались лишь отдельных антимикробных факторов или нормального микробиоценоза грудного молока, тогда как комплексное изучение антимикробных свойств во взаимосвязи с нормобиотой является важной характеристикой этой биожидкости. В этом отношении применение спектрофотометрического метода оценки антимикробной активности молока и его фракций является полезным инструментом. Соотнесение общей антимикробной активности сыворотки грудного молока с содержанием его основных антимикробных полипептидов, разнообразием и обилием различных видов микроорганизмов дает представление об иммунологической состоятельности этого уникального питательного субстрата на разных сроках лактации.

- **Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации**

Автору принадлежит ведущая роль в обобщении данных литературы, формулировании темы диссертации, сборе биоматериалов, проведении экспериментов, обработке полученных результатов и написании публикаций.

- **Степень достоверности результатов проведенных исследований**

Результаты проведенных исследований получены с помощью валидированных микробиологических, биохимических, биофизических и статистических методик. Использованное в работе оборудование сертифицировано.

- **Научная новизна результатов проведенных исследований**

Обнаружена обратная взаимосвязь между периодом лактации и антимикробной активностью цельной сыворотки, концентрацией лактоферрина, секреторного иммуноглобулина класса А и сывороточного альбумина.

Впервые установлено антимикробное действие лактопероксидазы на клетки микроорганизмов вне связи с лактопероксидазной системой. Впервые показан фунгицидный эффект очищенного препарата IgA по отношению к *C. albicans*, обусловленный разрушением мембран и клеточных стенок. Установлено, что снижение общей обсемененности грудного молока условно-патогенными бактериями по мере увеличения срока лактации наступает раньше снижения антимикробной активности сыворотки. Пептиды, содержащиеся во фракции сыворотки грудного молока ниже 3 кДа, не являются результатом метаболизма организма человека. Сопоставление антимикробной активности сыворотки молока шести млекопитающих разных видов выявило, что наибольшим уровнем противомикробной защиты молока обладают мыши.

• **Теоретическая и практическая значимость проведенных исследований**

Адаптированный к сыворотке грудного молока и его фракций спектрофотометрический метод позволяет в течение нескольких часов определить антимикробную активность по отношению к бактериям и микромицетам. Установлено, что через 12 месяцев ввиду увеличения объема потребляемого молока младенец получает не меньше антимикробных компонентов, чем при кормлении молозивом, а больше. Пастеризация и замораживание сроком до 3 месяцев могут быть рекомендованы в качестве методов обработки молока, позволяющих сохранить его антимикробную активность. Наиболее часто встречающимися микроорганизмами грудного молока являются стафилококки - *S. epidermidis* и *S. aureus*, и стрептококки - *S. mitis* и *S. oralis*. Общая обсемененность имеет высокую обратную корреляцию с периодом лактации и высокую прямую корреляцию с антимикробной активностью сыворотки. Снижение общей обсемененности грудного молока условно-патогенными бактериями по мере увеличения срока лактации первично по отношению к снижению антимикробной активности сыворотки. В Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур (ГКПМ-Оболensk) депонирован полученный автором штамм *Paenibacillus amylolyticus* 22069 – кандидатный штамм-продуцент антимикробных и биологически активных веществ.

• **Ценность научных работ соискателя ученой степени**

Адаптация спектрофотометрического метода по отношению к сыворотке грудного молока позволит использовать наработанный опыт в целях количественной характеристики гуморальной иммунной защиты как образцов грудного молока человека, так и образцов молока сельскохозяйственных животных.

• **Внедрение результатов диссертационного исследования в практику**

По результатам работы депонирован авторский штамм *Paenibacillus amylolyticus* 22069 в государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболensk» Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» (ФБУН ГНЦ ПМБ). Получены паспорта штаммов *Paenibacillus*

amylolyticus, *Lactococcus lactis*, *Corynebacterium argentoratense* на базе ЦКП ГУ НИИВС им.И.И. Мечникова. Результаты исследования внедрены в учебный процесс на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии ИОЗ им.академика А.А. Воробьева ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Полученные результаты внедрены в лечебный процесс ГБУЗ «Оренбургский клинический перинатальный центр».

• **Этическая экспертиза научного исследования в Локальном этическом комитете (по медицинским и фармацевтическим наукам)**

Проводимое исследование в рамках диссертационной работы «Антимикробная активность и микробиом грудного молока на разных сроках лактации» обосновано и одобрено Локальным советом по этике ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» от 30.05.2023.

• **Научная специальность, которой соответствует диссертация**

1.5.11. Микробиология

• **Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем**

По результатам исследования автором опубликовано 15 работ, в том числе 6 научных статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, PubMed, MathSciNet, zbMATH, Chemical Abstracts, Springer), 9 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 1 зарубежной конференции).

Оригинальные научные статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Университета/ВАК при Минобрнауки России:

1. Различия гуморальных факторов иммунной защиты грудного молока и молозива / Т. И. Колыганова, В. Г. Арзуманян, Н. В. Хорошко, В. В. Зверев // Вопросы детской диетологии. – 2021. – Т. 19, № 2. – С. 33-40.
2. Альтернативные методы оценки противомикробной активности сыворотки грудного молока / Т. И. Колыганова, В. Г. Арзуманян, Е. А. Богданова, В. В. Зверев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2021. – Т. 171, № 4. – С. 525-528.
3. Activity of breast milk antimicrobial peptides in experiments in vitro / T. Kolyganova, V. Arzumanian, O. Svitich [et al.] // Current Topics in Peptide and Protein Research. 2021. – Vol. 22. – P. 77-83.
4. Вклад лактоферрина, сывороточного альбумина и секреторного иммуноглобулина класса А в антимикробную активность сыворотки грудного молока / В. Г. Арзуманян, Т. И. Колыганова, О. А. Свитич [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2022. – Т. 12, № 3. – С. 519-526.

5. Условно-патогенная микробиота грудного молока и антимикробная активность сыворотки на разных сроках лактации / В. Г. Арзуманян, Т. И. Колыганова, Н. О. Варганова [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2023. – Т. 100, № 1. – С. 74-83.

6. Антимикробная активность сыворотки молока млекопитающих / Т. И. Колыганова, В. Г. Арзуманян, М. А. Матвиенко [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2023. – Т. 175, № 3. – С. 340-344.

Оригинальные научные статьи в научных изданиях, включенных в международные, индексируемые базы данных Web of Science, Scopus, PubMed, MathSciNet, zbMATH, Chemical Abstracts, Springer:

1. Различия гуморальных факторов иммунной защиты грудного молока и молозива / Т. И. Колыганова, В. Г. Арзуманян, Н. В. Хорошко, В. В. Зверев // Вопросы детской диетологии. – 2021. – Т. 19, № 2. – С. 33-40.

2. Альтернативные методы оценки противомикробной активности сыворотки грудного молока / Т. И. Колыганова, В. Г. Арзуманян, Е. А. Богданова, В. В. Зверев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2021. – Т. 171, № 4. – С. 525-528.

3. Activity of breast milk antimicrobial peptides in experiments in vitro / T. Kolyganova, V. Arzumanian, O. Svitich [et al.] // Current Topics in Peptide and Protein Research. 2021. – Vol. 22. – P. 77-83.

4. Вклад лактоферрина, сывороточного альбумина и секреторного иммуноглобулина класса А в антимикробную активность сыворотки грудного молока / В. Г. Арзуманян, Т. И. Колыганова, О. А. Свитич [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2022. – Т. 12, № 3. – С. 519-526.

5. Условно-патогенная микробиота грудного молока и антимикробная активность сыворотки на разных сроках лактации / В. Г. Арзуманян, Т. И. Колыганова, Н. О. Варганова [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2023. – Т. 100, № 1. – С. 74-83.

6. Антимикробная активность сыворотки молока млекопитающих / Т. И. Колыганова, В. Г. Арзуманян, М. А. Матвиенко [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2023. – Т. 175, № 3. – С. 340-344.

Материалы конференций по теме диссертационного исследования:

1. Колыганова, Т. И. Перспективы применения методов микроскопии и спектрофотометрии для оценки антимикробной активности молока / Т. И. Колыганова, В. Г. Арзуманян, В. В. Зверев // Медико-биологические и нутрициологические аспекты здоровьесберегающих технологий : материалы I Международной научно-практической конференции, Кемерово, 27 ноября 2020 года. – Кемерово: КемГМУ, 2020. – С. 61-63.

2. Колыганова, Т. И. Полипептиды сыворотки грудного молока: антимикробное действие in vitro / Т. И. Колыганова, В. Г. Арзуманян // Проблемы медицинской микологии. 2021. – Т. 23. – № 2. – С. 93.

3. Колыганова, Т. И. Лактоферрин сыворотки грудного молока как фактор антимикробной активности в различные периоды лактации / Т. И. Колыганова // Ломоносов - 2021 : материалы Международного молодежного научного форума, Москва, 12–23 апреля 2021 года. – Москва: ООО "МАКС Пресс", 2021.

4. Лактоферрин и противомикробная активность сыворотки грудного молока в различные периоды лактации / Т. И. Колыганова, В. Г. Арзуманян, С. Ю. Конаныхина, П. В. Самойликов // *New Approaches in the Field of Microbiology, Virology and Immunology* : Сборник тезисов молодых ученых в рамках международной конференции, посвященной 300-летию РАН, Москва, 30–31 марта 2021 года / Под ред. В.В. Зверева. – Москва: "Перо", 2021. – С. 20.
5. Антимикробная активность сыворотки молока / Т. И. Колыганова, В. Г. Арзуманян, М. А. Матвиенко [и др.] // *New Approaches in the Field of Microbiology, Virology, Epidemiology and Immunology*: Сборник тезисов молодых ученых в рамках международной конференции, посвященной 300-летию РАН, Москва, 03–04 июня 2022 года / Под ред. В.В. Зверева.– Москва: "Перо", 2022.– С. 17.
6. Колыганова Т.И. Сравнительная характеристика антимикробной активности сыворотки грудного молока и ряда биологических жидкостей человека /Т. И. Колыганова // Ломоносов - 2022: материалы Международного молодежного научного форума, Москва, 11–22 апреля 2022 года. – Москва: ООО "МАКС Пресс", 2021.
7. Микробиом грудного молока в различные периоды лактации как предиктор инфекционно-воспалительных заболеваний молочной железы/ Колыганова Т. И., Арзуманян В.Г., Вартанова Н. О., Левадная А.В. //Международная научно-практическая конференция «Современные технологии диагностики, лечения, профилактики инфекционных и паразитарных болезней» (Бухара, 21–22 апреля 2022 г.): сборник материалов. – Бухара: 2022. – С. 75.
8. Колыганова Т. И. Влияние физических факторов на противомикробную активность грудного молока /Т. И. Колыганова, В. Г. Арзуманян, А. М. Иксанова // *New Approaches in the Field of Microbiology, Virology, Immunology and Epidemiology* : сборник тезисов молодых ученых в рамках международной конференции, посвященной 300-летию РАН, Москва, 20–21 апреля 2023 года / ФГБНУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова. – Москва: "Перо", 2023. – С. 26.
9. Взаимосвязь микробиома грудного молока с антимикробной активностью сыворотки / Т. И. Колыганова, В. Г. Арзуманян, Н. О. Вартанова, И. М. Ожован // Проблемы медицинской микологии. – 2023. – Т. 25, № 2. – С. 129.

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на научных конференциях:

- 1) I международная научно-практическая конференция "Медико-биологические и нутрициологические аспекты здоровьесберегающих технологий" (Россия, Кемерово, 2020);
- 2) Всероссийский конгресс по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии (XXIV Кашкинские чтения) (Россия, Санкт-Петербург, 2021);
- 3) *New approaches in the field of Microbiology, Virology and Immunology*. Международная конференция, посвященная 300-летию РАН (Россия, Москва, 2021);

- 4) XXVIII Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Россия, Москва, 2021);
- 5) International Conference and Exhibition on The Future of Pharmaceuticals and Novel Drug Delivery Systems (France, Paris, 2022);
- 6) New approaches in the field of Microbiology, Virology, Epidemiology and Immunology. Международная конференция, посвященная 300-летию РАН (Россия, Москва, 2022);
- 7) XXIX Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Россия, Москва, 2022);
- 8) Международная научно – практическая конференция «Актуальные проблемы инфектологии, эпидемиологии и паразитологии» (Узбекистан, Бухара, 2022)

Заключение

Диссертация соответствует требованиям п. 21 Положения о присуждении ученых степеней в ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом от 06.06.2022 г. № 0692/Р, и не содержит заимствованного материала без ссылки на автора(ов).

Первичная документация проверена и соответствует материалам, включенным в диссертацию.

Диссертационная работа Колыгановой Татьяны Игоревны «Антимикробная активность и микробиом грудного молока на разных сроках лактации» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11.– микробиология.

Заключение принято на совместном заседании Отдела микробиологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» и Кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ИОЗ им. акад. А. А. Воробьева ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Минздрава России.

Присутствовало на заседании 22 чел.

Результаты голосования: «за» – 22 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось» – 0 чел., протокол № 1 от 14.06.2023 г.

Председательствующий на заседании

Зав. Отделом микробиологии
ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток
им. И.И. Мечникова,
доктор мед. наук,
профессор



Михайлова Н.А.
Михайлова Н.А.