

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 64.1.004.01 НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «МОСКОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМ. Г.Н. ГАБРИЧЕВСКОГО» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 15 декабря 2022 г. № 5.

О присуждении Воробьеву Алексею Максимовичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Разработка лекарственной формы рекомбинантных эндолизинов для профилактики и лечения раневой инфекции» по специальностям 1.5.6. – Биотехнология; 1.5.11. – Микробиология принята к защите 13.10.2022 г. протокол № 5 диссертационным советом 64.1.004.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 10). Диссертационный совет утвержден Приказом Министерства образования и науки РФ № 714/нк «О советах по защите докторских и кандидатских диссертаций» от 2 ноября 2012 г., приказ № 791/нк от 09.12.2020 г. част. изм., приказ № 1040/нк от 13.10.2021 г. част. изм.

Соискатель Воробьев Алексей Максимович, 1997 года рождения. В 2019 году окончил Первый Московский Государственный Медицинский Университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), фармацевтический факультет, присуждена квалификация «Провизор».

С 2019 г. и по настоящее время обучается в аспирантуре при Федеральном бюджетном учреждении науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (приказ № 62-ОНД-2019 от 27.08.2019г.) по специальности 1.5.6. - Биотехнология. Справка об обучении № 431 выдана 24.06.2022 года Федеральным бюджетным учреждением науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

С 2019 г. и по настоящее время Воробьев А.М. работает в должности младшего научного сотрудника в лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Диссертация выполнена на базе лаборатории клинической микробиологии и

биотехнологии бактериофагов Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Научные руководители: **Анурова Мария Николаевна** – кандидат фармацевтических наук, доцент, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), кафедра фармацевтической технологии, доцент; **Гущин Владимир Алексеевич** – кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лаборатория механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов, ведущий научный сотрудник, заведующий.

Официальные оппоненты: **Пименов Николай Васильевич**, доктор биологических наук (03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнология), 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология), профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», кафедра иммунологии и биотехнологии, заведующий; **Сухина Марина Алексеевна** - кандидат биологических наук (03.00.07 – микробиология), Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отдел микробиологических и иммунологических исследований, руководитель – дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в своем положительном заключении, подписанном доктором медицинских наук, доцентом Захаровой Юлией Александровной, отдел эпидемиологии вирусных инфекций, руководитель, заместитель руководителя по научной работе, указала, что диссертация является законченным научным исследованием, содержащим важные вопросы и решения, касающиеся разработки состава и технологии готовой лекарственной формы рекомбинантных эндолизинов.

Соискатель имеет 11 печатных работ по теме диссертации, из них 4 статьи в рецензируемых изданиях, 7 публикаций в сборниках научных трудов и материалах конференций, общий объем работ составляет 66 страниц с авторским вкладом – 44 страницы.

Наиболее значимые работы: 1) Воробьев, А.М. Определение спектра бактерицидной активности рекомбинантных эндолизинов бактериофагов ECD7, Am24, Ap22, Si3 и St11 / А.М. Воробьев, М.Н. Анурова, А.В. Алешкин, В.А. Гушин, Д.В. Васина, Н.П. Антонова, И.А. Киселева, Е.О. Рубальский, Э.Р. Зулкарнеев, А.И. Лаишевцев, Э.Р. Мехтиев, В.В. Каминский, Е.О. Бахрушина, С.С. Бочкарева, А.В. Караулов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2020. – Т. 170, №11. – С. 597-601; 2) Воробьев, А.М. Эндолизины и перспективы их применения для лечения инфекций, вызванных полирезистентными бактериями / А.М. Воробьев, М.Н. Анурова, А.В. Алешкин, И.А. Киселева, К.М. Багандова, Т.Э. Мизаева, Д.В. Васина, Н.П. Антонова, В.А. Гушин // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2021. – Т. 24, № 10. – С. 13-22; 3) Vasina, D.V. Efficacy of the Endolysin-Based Antibacterial Gel for Treatment of Anaerobic Infection Caused by *Fusobacterium necrophorum* / D.V. Vasina, N.P. Antonova, A.M. Vorobev, A.I. Laishevtsev, A.V. Kapustin, E.R. Zulkarneev, S.S. Bochkareva, I.A. Kiseleva, M.N. Anurova, A.V. Aleshkin, A.P. Tkachuk, V.A. Gushchin // *Antibiotics*. – 2021. – Vol. 10, № 10. – e1260.

На диссертацию и автореферат поступило 4 положительных отзыва без замечаний от: 1) к.б.н. Шиловой В.Ю., научного сотрудника лаборатории молекулярных механизмов биологической адаптации ФГБУ «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН; 2) д.в.н., профессора, заслуженного деятеля науки РФ, заслуженного изобретателя РФ Неустроева М.П., заведующего лабораторией ветеринарной биотехнологии ЯНИИСХ; 3) д.б.н. Фоминой Е.Г., заведующей лабораторией иммунологии и клеточной биотехнологии ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии»; 4) д.м.н., член-корр. РАН Тутельяна А.В., заведующего лабораторией инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора. В отзывах отмечено, что в ходе диссертационного исследования представлены новые данные о спектре противомикробной активности рекомбинантных эндолизинов, их совместимости с различными вспомогательными веществами, используемыми для разработки биотехнологических препаратов. Разработан состав и технология изготовления готовой лекарственной формы на основе рекомбинантных эндолизинов, предложены аналитические методики контроля качества.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тематикой научных исследований, компетентностью в вопросах, рассмотренных в диссертации, большим опытом работы в изучении значимых для здоровья человека микроорганизмов и разработки противомикробных средств.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований разработана новая готовая лекарственная форма рекомбинантных эндолизинов для терапии и профилактики раневых инфекций и технология ее изготовления. Предложены аналитические методики контроля качества готовой лекарственной формы и тест-штампы для проведения анализа. Доказана перспективность

применения рекомбинантных эндолизинов для разработки противомикробных препаратов ввиду их широкого спектра действия и низкой токсичности, эффективность применения готовой лекарственной формы *in vivo*. Введен лабораторный регламент производства бактерицидного геля с рекомбинантными эндолизинами и проект нормативной документации.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказаны особенности противомикробной активности рекомбинантных эндолизинов, безопасность и эффективность применения готовой лекарственной формы на их основе. Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс современных валидированных методов: микробиологических, иммунологических, биотехнологических, физико-химических, фармацевтических, аналитических и статистических. Изложены данные о широком спектре противомикробной активности рекомбинантных эндолизинов в отношении ведущих возбудителей инфекций, их совместимости с различными вспомогательными веществами, стабильности в составе готовой лекарственной формы, влиянии на представителей нормофлоры, эффективности применения *in vivo*. Раскрыты различия противомикробной активности эндолизинов и бактериофагов. Изучены особенности фармацевтической разработки противомикробного препарата в форме геля на основе рекомбинантных эндолизинов. Проведена модернизация существующей аналитической методики контроля качества субстанций и препаратов на основе эндолизинов по показателю «Специфическая активность».

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработана и внедрена технология производства готовой лекарственной формы рекомбинантных эндолизинов в работу предприятия АО «Биннофарм» (акт внедрения от 27 июня 2022 г.), а также модифицированная аналитическая методика контроля качества разработанного бактерицидного геля с рекомбинантными эндолизинами по показателю «Специфическая активность» в работу Научно-методического центра по изучению и идентификации бактериофагов на базе ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора (акт внедрения от 12 июля 2022 г.). Определены особенности влияния рекомбинантных эндолизинов на представителей нормофлоры, что может быть использовано при разработке препаратов эндолизинов для энтерального применения. Создана иммуноферментная тест-система для определения содержания иммуноглобулинов класса G в сыворотке крови животных, которая может применяться для определения иммуногенности при доклинических испытаниях данных ферментов. Представлены практические рекомендации по применению полученных в ходе исследования результатов: разработанной готовой лекарственной формы рекомбинантных эндолизинов, алгоритма разработки иммуноферментной тест-системы для определения содержания IgG к эндолизинам в сыворотке крови животных, методики контроля подлинности препаратов эндолизинов методом иммуноэлектрофореза.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что для экспериментальных работ объем фактического материала является достаточным. методы

статистической обработки подобраны адекватно, эксперименты проведены на высоком научно-методическом уровне с применением современных методов и сертифицированного оборудования. Теория исследования построена на известных научно-теоретических данных и согласуется с опубликованными экспериментальными данными, посвященными изучению противомикробных свойств эндолизинов и разработке препаратов на их основе. В ходе подготовки диссертационной работы исследован значительный объем материала: изучена чувствительность 120 штаммов микроорганизмов к действию 5 рекомбинантных эндолизинов, исследовано влияние эндолизинов на представителей нормальной микрофлоры. В ходе разработки состава готовой лекарственной формы изготовлен 21 экспериментальный состав и изучены физико-химические свойства. Изучение профиля безопасности готовой лекарственной формы проведено на 96 мышах (48 самцов и 48 самок). Изучение стабильности готовой лекарственной формы, разработка проекта спецификации, а также валидация аналитических методик проведена согласно требованиям Государственной Фармакопеи Российской Федерации XIV издания. Идея исследования базируется на известных теоретических и практических материалах и согласуется с опубликованными экспериментальными данными, посвященными противомикробным свойствам эндолизинов и разработке препаратов на их основе. Использовано сравнение полученных автором результатов с существующими литературными данными и разработками других авторов, в том числе и зарубежных. Установлено, что большинство результатов проведенных автором исследований согласуется с результатами других авторов, представленных в независимых источниках, и дополняет их. Используются классические и современные методы исследования: микробиологические, биотехнологические, физико-химические, фармацевтические, иммунологические, аналитические и статистические.

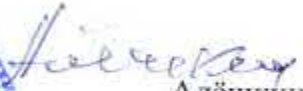
Личное участие соискателя заключалось в разработке дизайна научного исследования, сборе и аналитическом обзоре данных литературы, разработке плана валидации аналитических методик контроля качества, проведении статистической обработки результатов, полученных в ходе исследования. Автором принято непосредственное участие в выполнении всех этапов исследования, написании научных статей и докладах о полученных в ходе работы результатах на научных конференциях. Автор самостоятельно сформулировал выводы, практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы. Изучение влияния рекомбинантных эндолизинов на представителей нормофлоры проводилось совместно с сотрудниками лаборатории биологии бифидобактерий ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора (рук. лаборатории, к.б.н. Жиленкова О.Г.). Иммунологические исследования (контроль подлинности готовой лекарственной формы, изучение ее иммуногенности) проводились совместно с сотрудниками лаборатории иммунобиологических препаратов ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора (рук. лаборатории, к.м.н. Новикова Л.И.). Изучение острой, субхронической токсичности и местнораздражающего действия, а также эффективности разработанной готовой лекарственной формы на инфекционной

модели некробактериоза у кроликов проводилось на базе Лаборатории диагностики и контроля антибиотикорезистентности возбудителей наиболее клинически значимых инфекционных болезней животных ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (зав. лабораторией, к.б.н. Лаишевцев А.И.).

На заседании 15 декабря 2022 года диссертационный совет принял решение присудить Воробьеву Алексею Максимовичу ученую степень кандидата биологических наук по специальностям: 1.5.6. – Биотехнология; 1.5.11. – Микробиология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 6 докторов наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология и 12 докторов наук по специальности 1.5.11 – Микробиология, участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовал за – 18, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель диссертационного совета,
доктор биологических наук, профессор


Алешкин Владимир Андрианович

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор


Борисова Ольга Юрьевна

16.12.2022 г

