

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 05 октября 2023 г. № 10.

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 03.08.2023 г. протокол № 2 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 Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), фармацевтический факультет, присуждена квалификация «Провизор».

С 2019 г. и по 2023 г. обучался 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 по специальности 1.5.6. – Биотехнология (диплом об окончании аспирантуры № 107724 0514906 от 8 июня 2023 года). 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:** **Красильников Игорь Викторович**, доктор биологических наук (03.00.23 – биотехнология), Публичное Акционерное Общество «Артген биотех», директор по инновациям в биотехнологии; **Царев Виктор Николаевич** – Заслуженный работник высшей школы Российской Федерации, доктор медицинских наук (03.00.07 - микробиология), профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии, заведующий – дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук в своем положительном заключении, подписанном доктором биологических наук Тикуновой Ниной Викторовной, лаборатория молекулярной биологии, заведующая, указала, что диссертация является законченным научным исследованием, содержащим важные решения в области разработки технологии производства и состава новой лекарственной формы на основе рекомбинантных эндолизин с антимикробной направленностью на грамотрицательные микроорганизмы, актуальные возбудители раневой инфекции.

**Соискатель имеет** 13 печатных работ по теме диссертации, из них 4 статьи в рецензируемых изданиях, 7 публикаций в сборниках научных трудов и материалах конференций, получено 2 патента на изобретение РФ, общий объем работ составляет 108 страниц с авторским вкладом – 72 страницы.

**Основные работы:** 1) Воробьев, А.М. Определение спектра бактерицидной активности рекомбинантных эндолизин бактериофагов ECD7, Am24, Ap22, Si3 и St11 / А.М. Воробьев, М.Н. Анурова, А.В. Алешкин, В.А. Гущин, 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. Гущин



// 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) д.м.н., профессора Дроздовой О.М., профессора кафедры эпидемиологии, инфекционных болезней и дерматовенерологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России; 2) д.в.н. Сашниной Л.Ю., главного научного сотрудника ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»; 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 получены новые данные о спектре противомикробной активности рекомбинантных эндолизинов и их совместимости с различными вспомогательными веществами. Разработана готовая лекарственная форма рекомбинантных эндолизинов, технология ее получения и обоснованы подходы к контролю 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 технология изготовления и состав готовой лекарственной формы на основе трех рекомбинантных эндолизинов, а также иммуноферментная тест-система для определения наличия антител к рекомбинантным эндолизинам в сыворотке крови животных. Предложены аналитические методики контроля качества готовой лекарственной формы и проект нормативной документации. Доказана эффективность применения разработанной готовой лекарственной формы рекомбинантных эндолизинов *in vivo*, а также перспективность разработки препаратов на основе рекомбинантных эндолизинов для борьбы с бактериальными инфекциями. Введен лабораторный регламент производства геля бактерицидного с рекомбинантными эндолизинами.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказаны противомикробные свойства рекомбинантных эндолизинов бактериофагов, доказан широкий спектр действия данных веществ на грамотрицательные бактерии, что позволило обосновать перспективность применения рекомбинантных эндолизинов для создания противомикробных препаратов. Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс современных валидированных методов: микробиологических, иммунологических, биотехнологических, физико-химических, фармацевтических, аналитических и статистических. Изложены данные о спектре противомикробной активности рекомбинантных эндолизинов бактериофагов ECD7, AM24, AP22,



SI3 и ST11, Раскрыты различия в противомикробной активности рекомбинантных эндолизинов и бактериофагов. Изучена совместимость эндолизинов LysECD7, LysAm24 и LysAp22 с производными целлюлозы и полиэтиленгликолями различных молекулярных масс, что дополняет существующие знания о данных веществах. Проведена модернизация и валидация методики контроля качества 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.), разработана и внедрена модифицированная аналитическая методика контроля качества разработанного геля бактерицидного 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 при проведении доклинических испытаний данных ферментов для определения иммуногенности. Создана готовая лекарственная форма рекомбинантных эндолизинов для применения на раневой поверхности. 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, разработанной 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 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. Исследование влияния эндолизинов на представителей нормальной микрофлоры проведено на 11 штаммах микроорганизмов. В ходе разработки состава готовой лекарственной формы изготовлен 21 экспериментальный состав, изучены физико-химические свойства данных составов. Изучение профиля безопасности разработанной готовой лекарственной формы проведено на 96 мышах (48 самцов и 48 самок), изучение эффективности проведено на 15 кроликах. Изучение стабильности готовой лекарственной формы, разработка проекта нормативной документации, 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. 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 полученных в ходе исследования результатов. 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 05 октября 2023 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 17 человек, из них 5 докторов наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология, участвовавших в заседании, 12 докторов наук по специальности 1.5.11 – Микробиология, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовал за – 17, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель диссертационного совета,  
доктор биологических наук, профессор

  
Алешкин Владимир Андрианович

Ученый секретарь диссертационного совета,  
доктор медицинских наук, профессор  
05.10.2023 г.

  
Борисова Ольга Юрьевна

