

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 208.046.01 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 04 июня 2015 г. № 4

О присуждении Киселевой Ирине Анатольевне, гражданке Российской Федерации ученой степени кандидата биологических наук.

**Диссертация** «Специализированный продукт диетического профилактического питания на основе коктейля бактериофагов: конструирование, технология производства, оценка безопасности и эффективности применения» по специальностям: 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 03.02.03 – микробиология принята к защите 01 апреля 2015 г., протокол № 4 диссертационным советом Д.208.046.01 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, Москва, ул. Адмирала Макарова, 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. к приказу № 219 от 05.03.15 г. част. изм.

**Соискатель** Киселева Ирина Анатольевна 1968 года рождения. В 1991 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Московский государственный университет пищевых производств" по специальности "Технология микробиологических производств". Работает в должности научного сотрудника лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов в 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.

**Диссертация выполнена** 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.

**Научные руководители:**

- доктор биологических наук (03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 03.02.03 – микробиология) Алешкин Андрей Владимирович, Федеральное бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский

институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, лаборатория клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов, главный научный сотрудник;

- кандидат биологических наук (03.00.07 – микробиология) Воложанцев Николай Валентинович, Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, лаборатория молекулярной диагностики и генно-инженерных препаратов, заведующий.

**Официальные оппоненты:** Блинкова Лариса Петровна, доктор биологических наук (03.02.03 – микробиология), профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», лаборатория микробиологических питательных сред, заведующий; Куликов Евгений Евгеньевич, кандидат биологических наук (03.01.03 – молекулярная биология), Федеральное государственное бюджетное учреждение «Институт микробиологии им С.Н. Виноградского» Российской академии наук, лаборатория вирусов микроорганизмов, старший научный сотрудник - дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация:** Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России), г. Москва, в своем положительном заключении, подписанном Быковым Анатолием Сергеевичем, доктором медицинских наук, профессором, кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии, профессор кафедры, указала, что в работе содержится актуальное решение по созданию нового специализированного продукта диетического профилактического питания на основе бактериофагов, технологии производства и процедуры контроля, обеспечивающие его безопасность и эффективность в качестве средства профилактики инфекций, передающихся пищевым путем.

**Соискатель имеет** 21 опубликованную работу, все по теме диссертации, в том числе 3 – в рецензируемых научных изданиях, 18 – в сборниках материалов конференций и 2 патента РФ на изобретения, общим объемом 50 страниц и авторским вкладом – 18 страниц.

**Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:** 1. Алешкин, А.В. Бактериофаги как пробиотики и средства деконтаминации пищевых продуктов / А.В. Алешкин, Н.В. Воложанцев, Э.А. Светоч, В.А. Алешкин, С.С. Афанасьев, А.И. Борзилов, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, А.В. Караулов, Х.М. Галимзянов, Ю.Ф. Космачев, И.А. Киселева, М.С. Афанасьев, Е.О. Рубальский, М.О. Рубальский // Астраханский медицинский журнал. – 2012. – № 3. – С. 31 – 39; 2. Алешкин, А.В. Бактериофаги в условиях длительного космического полета / А.В. Алешкин, Е.О. Рубальский, А.В. Попова, А.Г. Богун, В.И. Евстигнеев, С.Ю. Пчелинцев, С.С.

Афанасьев, Э.А. Светоч, Н.В. Воложанцев, В.В. Веревкин, И.А. Киселева, С.С. Бочкарева // Астраханский медицинский журнал. – 2014. – Т.9. – №3 – С. 62 – 71; 3. Борисова, О.Ю. Микробиота кожи подмышечных впадин у лиц с микрoэкологическими изменениями / О.Ю. Борисова, А.В. Алешкин, Н.Т. Гауда, С.С. Бочкарева, Б.А. Ефимов, В.А. Чернова, В.А. Алешкин, Л.И. Кафарская, С.С. Афанасьев, И.А. Киселева // Лечение и профилактика. – 2014. – №4(12). – С.33 – 38.

На диссертацию и автореферат поступило 3 положительных отзыва без замечаний от: 1) д.х.н. Мирошникова К.А., заведующего лабораторией молекулярной биоинженерии ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН; 2) д.м.н., доцента Кудряшевой И.А., декана медико-биологического факультета, заведующей кафедры гигиены медико-профилактического факультета с курсом последипломного образования ГБОУ ВПО «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; 3) к.б.н. Ковалевой Е.Н. и к.б.н. Феоктистовой Н.А., доцентов кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии ВСЭ ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им П.А. Столыпина» Министерства сельского хозяйства РФ. В отзывах отмечено, что задачи, поставленные по конструированию диетического профилактического фагобиотика, решены с использованием оригинального коктейля бактериофагов и разработан комплекс методов по оценке безопасности применения выделенных фагов.

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации** обосновывается тематикой научных исследований, компетентностью в вопросах, рассмотренных в диссертации, большим опытом работы в области микробиологии, вирусологии и проведения молекулярно-генетических исследований.

**Диссертационный совет** отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований **разработан** специализированный продукт диетического профилактического питания «Фудфаг» (свидетельство о государственной регистрации № RU.77.99.19.004.E.002820.02.15 от 10.02.2015 г), содержащий коктейль бактериофагов, активных в отношении энтерогеморрагических штаммов *E. coli*, *S. Enteritidis*, *S. Infantis*, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, безопасен для человека и животных и может применяться в качестве средства фагопрофилактики декретированных контингентов работников предприятий различных отраслей с целью снижения риска развития спорадических случаев и вспышек инфекций, передающихся пищевым путем. **Предложены** оригинальная технология получения специализированного продукта диетического профилактического питания на основе коктейля бактериофагов и алгоритм клинического использования готовой формы «Фудфаг», подтвердивший его эффективность. **Доказано**, что разработанная технология культивирования производственных штаммов бактериофагов является оптимальной для получения фагового коктейля с высоким титром содержащихся в нем вирусных частиц и степенью очистки от эндо- и экзотоксинов. **Введено** понятие нового класса продуктов – фагобиотиков.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказано, что**

проведенные исследования и разработанная нормативно-техническая документация обеспечивают не только прохождение процедуры независимой экспертизы и государственной регистрации специализированного продукта, а также позволяют сформировать теоретические предпосылки для создания в Российской Федерации нового направления в использовании бактериофагов. **Применительно к проблематике диссертации** результативно использован комплекс микробиологических, иммунохимических, молекулярно-генетических, масс-спектрометрических, электронно-микроскопических методов исследования. **Изложены** особенности разработки рецептуры, технологии получения, процедур оценки безопасности и эффективности специализированного продукта диетического профилактического питания на основе коктейля бактериофагов. **Раскрыты** этапы по изучению и отбору штаммов бактериофагов молекулярно-генетическими методами, подтверждающими их вирулентность, оригинальность и безопасность. **Изучены** производственно-перспективные штаммы бактериофагов, активных в отношении бактерий: *S. enterica* (сероваров Enteritidis, Typhimurium и Infantis), *E. coli O157:H7*, *E. coli O104:H4*, *E. coli* других серогрупп, *S. sonnei*, *S. flexneri*, *S. aureus* и *L. monocytogenes*. **Проведена модернизация** существующих критериев отбора производственно-перспективных штаммов бактериофагов. **Значение полученных соискателем результатов** исследования для практики подтверждается тем, что **разработан** новый специализированный продукт диетического профилактического питания, дающий возможность снизить риск развития спорадических случаев и вспышек инфекций, передающихся пищевым путем, за счет фагопрофилактики декретированных слоев населения. Результаты работы **внедрены в** практику биофармацевтических компаний. На данное изобретение (патент на изобретение РФ №2518303) заключено лицензионное соглашение с биотехнологической компанией «БиФаг», технология оптимизированного процесса получения фаголизата (патент на изобретение РФ № 2525141) применяется ФБУН ГНЦ ПМБ (Оболensk) в процессе контрактного производства специализированного продукта «Фудфаг». **Определены** перспективы использования результатов диссертации по отбору вирулентных бактериофагов для фагосодержащих продуктов и уменьшения вероятности формирования в окружающей среде и организме человека фагорезистентных штаммов патогенных бактерий. **Создана** схема получения фаговой биомассы, рецептуры и технологии производства готовой формы продуктов диетического профилактического питания на основе бактериофагов. **Представлены** рекомендации по применению специализированного продукта для декретированных контингентов и внедрению в практику биофармацевтических компаний апробированной процедуры оценки безопасности и эффективности производственно-перспективных штаммов фагов.

**Оценка достоверности результатов** исследования **выявила**, что работа проведена на высоком научно-методическом уровне с использованием классических, современных молекулярно-генетических методов исследования и сертифицированного поверенного оборудования. **Теория** построена на анализе данных литературы и

опирается на обширный мировой и отечественный опыт, накопленный по изучению лечебных и профилактических свойств бактериофагов. Идея базируется на необходимости создания новых форм и методов профилактики спорадических случаев и вспышек инфекций, передающихся пищевым путем, как альтернативы классическим антибактериальным средствам. В работе использовано сравнение авторских данных с данными, полученными ранее по выбранной тематике. Установлено, что вирулентные штаммы бактериофагов, использованные в работе, оригинальны и безопасны, а разработанный в рамках диссертационного исследования способ культивирования бактериофагов является новым. Используются современные высокотехнологичные методы исследования.

Личный вклад: соискателя состоит в том, что им составлен план исследования, проведен аналитический обзор литературы, идентифицированы бактерии-мишени, изучены биологические свойства штаммов бактериофагов. Отработана оригинальная методика культивирования бактериофагов на плотной питательной среде, отработан алгоритм проверки степени его очистки от эндо- и экзотоксинов. Разработаны рецептура и пилотная технология получения готовой формы специализированного продукта диетического профилактического питания, алгоритмы оценки его безопасности и эффективности в доклинических и ограниченных клинических испытаниях (на базе ГБОУ ВПО АГМА, протоколы заседаний Этического комитета № 5, 2012 г., № 8, 2013 г.).

Изолирование бактериофагов осуществлялось в сотрудничестве с к.б.н. Веревкиным В.В. и к.б.н. Красильниковой В.М. (ФБУН ГНЦ ПМБ). Молекулярно-генетическая характеристика штаммов бактериофагов проводилась при участии к.б.н. Поповой А.В., Рубальского Е.О. (ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского) и к.б.н. Богуна А.Г. (ФБУН ГНЦ ПМБ). Масс-спектрометрию бактериальных штаммов проводили вместе с д.м.н., профессором Ефимовым Б.А. (ГОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ) и д.м.н. Борисовой О.Ю. (ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского). Электронная микроскопия нативных фаговых частиц была проведена на базе ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» РАМН.

На заседании 04 июня 2015 г. диссертационный совет принял решение присудить Киселевой И.А. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 7 докторов наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 11 докторов наук по специальности 03.02.03. - микробиология, участвовавших в заседании, из 26 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 17, против - 0, недействительных бюллетеней - 1.

Председатель диссертационного совета,  
Заслуженный деятель науки РФ,  
доктор медицинских наук, профессор  
Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук  
04.06.2015 г.



Афанасьев Станислав Степанович

Борисова Ольга Юрьевна