

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 64.1.004.01 НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО ОБРАЗОВАНИЯ 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 10 апреля 2025 г., протокол №3.

О присуждении Сенягину Александру Николаевичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Исследование антагонистического действия L-лизин- α -оксидазы продуцента *Trichoderma harzianum* Rifai на условно – патогенные и непатогенные микроорганизмы» по специальности 1.5.11 – микробиология принята к защите 06.02.2025г. 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 № 1040/нк от 13.10.2021г. част. изм., приказ №214/нк от 12.03.2024 г. част.изм.

Соискатель Сенягин Александр Николаевич, 1994 года рождения. В 2018 году окончил Медицинский институт Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, по специальности 31.05.01 Лечебное дело (диплом № 107704 0195528 регистрационный номер 864/М от 21 июня 2018 года).

В период 2018 – 2022 гг. проходил обучение в аспирантуре в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации на кафедре микробиологии им. В. С. Киктенко по специальности 1.5.11 Микробиология (диплом № 107724 6101276 регистрационный номер 0141 от 30 июня 2022 года).

Для завершения диссертационной работы, апробации и получения заключения организации Сенягин Александр Николаевич был прикреплен в качестве соискателя к кафедре микробиологии имени В. С. Киктенко Медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (протокол заседания Ученого Совета медицинского института ФГАОУ ВО РУДН им. Патриса Лумумбы № 0301-08/09 от 16 мая 2024 г.)

Справка об обучении № 0803 от 03 декабря 2024 г. выдана Федеральным государственным автономным образовательным учреждением высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

С 2018 года по настоящий момент Сениягин А.Н. работает в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, в настоящее время в должности старшего преподавателя кафедры микробиологии им. В.С. Киктенко Медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Диссертация выполнена на кафедре микробиологии им. В.С. Киктенко Медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Научный руководитель: Подопригора Ирина Викторовна – кандидат медицинских наук (03.02.03 – микробиология), доцент, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, кафедра микробиологии имени В.С. Киктенко Медицинского института, заведующий кафедрой.

Официальные оппоненты:

Краева Людмила Александровна - доктор медицинских наук (03.02.03 – Микробиология), доцент, Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, лаборатория медицинской бактериологии, заведующий лабораторией;

Червинец Юлия Вячеславовна - доктор медицинских наук (03.02.03 – Микробиология), профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии, заведующий кафедрой.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации в своем положительном заключении, подписанном Царевым Виктором Николаевичем, доктором медицинских наук, профессором, заведующим кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии, указал, что диссертация является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной задачи – альтернативное классической антибиотикотерапии решение вопроса преодоления антибиотикорезистентности у инфекционных агентов бактериальной природы.

Соискатель имеет 9 печатных работ, из них 4 – статьи в рецензируемых научных

изданиях, 5 – в материалах конференций. Общий объем работ составляет 40 страницы с авторским вкладом 36 страницы.

Основные работы: 1) Senyagin, A. N. A Novel Express Method to Determine Activity of Antitumor Enzyme L-Lysine- α -Oxidase of *Trichoderma harzianum* Rifai F-180 / A. N. Senyagin, A. F. Larichev, I. P. Smirnova, I. V. Podoprighora // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. — 2020. — Vol. 169, № 1. — P. 119-121. 2) Smirnova, I. P. Characterization of L-Lysine- α -Oxidase, A New Antitumor and Antiviral Drug Substance Synthesized by *Trichoderma* / I. P. Smirnova, V. I. Kuznetsov, I. V. Podoprighora, T. I. Mansur, A. N. Senyagin, I. G. Bashkirova // International Journal of Life Science and Pharma Research. — 2022.- Vol.12, № SP23. — P. 15-20. 3) Senyagin, A. The Effects of L-Lysine- α -oxidase Enzyme and *Trichoderma harzianum* Rifai Culture Liquid on the Formation of Biofilms by Uropathogenic Multiresistant *E. coli* / A. Senyagin, N. Sachivkina, M. Das, V. Semenova, O. Kuznetsova, A. Ibragimova // Fermentation. — 2023. — Vol. 9, № 8. — P. 710. 4) Senyagin, A. The Influence of L-Lysine-Alpha-Oxidase on the Biofilm Formation of Opportunistic Microorganisms Associated with Inflammatory Diseases of the Urinary Tract / A. Senyagin, N. Sachivkina, M. Das, A. Arsenyuk, R. Mannapova, A. Mannapov, T. Kubatbelov, D. Svistunov, O. Petrkhina, A. Zharov, N. Zhabo // Pathogens. — 2024. — Vol. 13, № 3. — P. 252.

На диссертацию и автореферат поступило 5 отзывов. Из них поступило 4 положительных отзыва без замечаний от: 1) д.м.н., доцента Левановой Л.А., заведующего кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России; 2) д.б.н., профессора РАН Кюрегяна К.К., заведующего кафедры молекулярной эпидемиологии вирусных гепатитов ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора; 3) д.т.н., профессора Белова А.А., профессора кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО РХТУ им. Д.И. Менделеева; 4) к.м.н., Забненковой В.В., заведующего Центром коллективного пользования «Геном» ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова». В отзывах отмечено, что в ходе диссертационного исследования модифицирован метод определения активности фермента L-лизин- α -оксидазы и содержит новое решение актуальной задачи медицинской микробиологии – изучение альтернативных путей преодоления антибиотикорезистентности микроорганизмов. Получен 1 отрицательный отзыв (письмо не имело подписи и было прислано по электронной почте) от д.б.н. Смирновой И.П., профессора кафедры биохимии, заслуженного профессора ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования РФ. В письме было отмечено, что работа не может быть представлена на присуждение звания кандидата медицинских наук; 4 статьи сделаны во время аспирантуры; при выращивании штамма триходермы на среде с пшеничными отрубями невозможно получить такое количество используемого фермента в лабораторных условиях; ею был предоставлен штамм, концентрат, гомогенный фермент; получение гомогенного препарата сделала группа исследователей; лабораторное выращивание триходермы давно отработано.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тематикой научных исследований, компетентностью в вопросах, рассмотренных в диссертации, большим опытом работы в области разработки, изучения свойств и методов контроля биологических лекарственных средств.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований разработаны схемы экспериментального изучения антагонистических свойств фермента L-лизин- α -оксидазы продуцента *Trichoderma harzianum* Rifai в отношении условно – патогенных и непатогенных микроорганизмов. Предложены условия, позволяющие культивировать продуцента в лабораторных условиях, способы выделения и очистки фермента, а также предложен модифицированный и безопасный метод определения активности фермента L-лизин- α -оксидазы; условия пробоподготовки испытуемых образцов, стандарты сравнения. Доказана возможность применения фермента L-лизин- α -оксидазы для подавления биопленкообразования микроорганизмами. Введены в лабораторную практику схема лабораторного получения фермента L-лизин- α -оксидазы с последующим фракционированием культуральной жидкости продуцента *Trichoderma harzianum* Rifai, модифицированный метод определения активности фермента L-лизин- α -оксидазы, схема комплексного многоступенчатого подхода по изучению антагонистического действия на процесс биопленкообразования условно-патогенными микроорганизмами.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказана возможность применения фермента L-лизин- α -оксидазы для подавления роста и размножения условно-патогенных и непатогенных микроорганизмов, а также способность фермента ингибировать процесс биопленкообразования. Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс бактериологических, микроскопических, молекулярно-генетических, культуромных, иммунологических и статистических методов. Изложены принципы, этапы и результаты процесса разработки, валидации и стандартизации аналитических методик, предназначенных для определения активности фермента L-лизин- α -оксидазы и изучения его свойств. Раскрыты теоретические аспекты воздействия фермента L-лизин- α -оксидазы на микроорганизмы, а также степень ингибирования процессов роста, размножения, формирования биопленок, закономерности подходов при подборе методов для изучения характеристик фермента L-лизин- α -оксидазы и способов обработки результатов при разработке аналитических методик. Изучена сопоставимость результатов при изучении подавления процесса биопленкообразования с помощью микропланшетного метода и сканирующей электронной микроскопии. Проведена модернизация метода определения активности L-лизин- α -оксидазы, которая может быть использована с целью изучения активности других ферментов.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработаны и внедрены: полученные данные об антагонистической активности фермента L-лизин- α -оксидазы в преподавательскую практику и в учебно-методические материалы кафедры микробиологии им. В.С. Киктенко Медицинского института ФГАОУ ВО РУДН им. Патриса Лумумбы для обучения студентов по специальности «Лечебное дело», «Стоматология», «Фармация» в рамках дисциплин: «Микробиология, вирусология», «Микробиология, вирусология – полости рта», «Микробиология» и в учебнометодических материалах кафедры микробиологии и вирусологии Института профилактической медицины им. З. П. Соловьева ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России при подготовке студентов по специальности «Лечебное дело», «Стоматология», «Педиатрия», «Фармация» (акт внедрения от 26 сентября 2024 года ФГАОУ

ВО РУДН им. Патриса Лумумбы и акт внедрения от 3 октября 2024 года ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России). **Определены** перспективы дальнейшего изучения фермента L-лизин- α -оксидазы с целью создания противомикробного препарата, обладающего ингибирующим действием на процесс формирования биопленок. **Созданы** модификации метода определения активности фермента L-лизин- α -оксидазы в культуральной жидкости продуцента *Trichoderma harzianum* Rifai, которые могут быть применены для определения активности схожих по биохимическим показателям ферментов иных продуцентов, с использованием планшетного и кюветного спектрофотометра. **Представлены** данные о биологических свойствах фермента L-лизин- α -оксидазы продуцента *Trichoderma harzianum* Rifai: антагонистическом воздействии на условно-патогенные и непатогенные бактерии, способности ингибировать процесс биопленкообразования, иммунологических свойствах и отсутствия цитотоксического действие в отношении исследуемых биологических моделей клеточной линии и млекопитающих.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что объем полученных экспериментальных данных является достаточным, методы статистической обработки подобраны адекватно, эксперименты проведены на высоком научно-методическом уровне с использованием сертифицированного оборудования. Подтверждена воспроизводимость результатов исследования при смене экспериментальных условий. **Теория исследования** построена на известных данных и согласуется с опубликованными научными публикациями, посвященными ранее изученным свойствам фермента L-лизин- α -оксидазы и других химически схожих субстанций. **Идея базируется** на анализе возможности применения фермента L-лизин- α -оксидазы в качестве противомикробного препарата с дополнительным ингибированием процесса биопленкообразования. **Использовано** сравнение литературных данных и рекомендаций авторов по разработке и валидации методик исследования свойств фермента L-лизин- α -оксидазы. **Установлена** эффективность индивидуального подхода к разработке аналитических методик на основе химических свойств исследуемого фермента и выборе биологических моделей исследования с учетом литературных данных и предыдущего опыта авторов в части порядка подбора методических условий и валидации методик. **Использованы** современные микробиологические, иммунологические, молекулярно-генетические, статистические методы.

Личный вклад соискателя состоит в выборе темы исследования, формулировке цели и задач исследования. Соискателем выполнены микробиологические методы культивирования микроорганизмов и подготовка культуры к проведению исследований, описанных в диссертационной работе. Произведены исследования образования культурами микроорганизмов биопленок и их подавления. Проведена генетическая идентификация микроорганизмов и математически – статистический анализ полученных данных. Совместно с ведущим научным сотрудником лаборатории биологии и индикации арбовирусов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ д.м.н. В. Ф. Ларичевым и заслуженным профессором РУДН кафедры биохимии имени академика Т. Т. Берёзова медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» д.б.н. И. П. Смирновой разработан новый и безопасный метод определения активности фермента L-лизин- α -оксидазы. Совместно с ассистентом кафедры общей патологии имени В. М. Коропова

Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии имени К. И. Скрябина к.б.н. А. Ю. Арсенюк проведено исследование изменения структуры биопленки микроорганизмов под воздействием L-лизин- α -оксидазы и подготовлены микрофотографии электронной микроскопии. Совместно с профессором РУДН кафедры биохимии имени академика Т. Т. Берёзова медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» д.б.н. И. П. Смирновой проведены иммунологические исследования фермента. Соискатель обобщил полученные результаты исследования, научно обосновал выводы и представил результаты работы на научно-практических конференциях.

На заседании 10 апреля 2025 года диссертационный совет принял решение присудить Сенягину Александру Николаевичу ученую степень кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11 – Микробиология

- за исследование антагонистического действия фермента L-лизин- α -оксидазы продуцента *Trichoderma harzianum* Rifai в отношении непатогенных и условно-патогенных микроорганизмов, разработку модифицированного метода определения активности фермента, изучение способности ингибирования ферментом L-лизин- α -оксидазы процесса биопленкообразования, имеющего существенное значение для развития страны в области лечения и профилактики заболеваний вызванных лекарственно устойчивыми возбудителями инфекционных болезней.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 11 докторов наук по специальности 1.5.11 – Микробиология, участвовавших в заседании, из 22 человек, входящих в состав совета, проголосовал: за – 15, против – 0, недействительных бюллетеней – 2.

Зам.председателя диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор



А. Афанасьев

Афанасьев Станислав Степанович

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

О. Борисова

Борисова Ольга Юрьевна

11.04.2025 г.