

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального казенного
учреждения здравоохранения
Российского научно-исследовательского
противочумного института «Микроб»
Федеральной службы по надзору в сфере
защиты прав потребителей и
благополучия человека
академик РАН, д.м.н., профессор

В.В. Кутырев

«20.12» 2021 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

**Федерального казенного учреждения здравоохранения
Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и
благополучия человека
(ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора)**

Диссертация «Разработка новых методических приемов культивирования, концентрирования, лиофилизации и методов оценки качества вакцинного штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 03.02.03 – микробиология, выполнена в лаборатории холерных вакцин отдела профилактических препаратов и отделе экспериментальных фармацевтических форм ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора.

В период подготовки диссертации соискатель Бибиков Дмитрий Николаевич работал в ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора в должности научного сотрудника отдела экспериментальных фармацевтических форм.

В 2007 г. Бибиков Д.Н. окончил Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский государственный открытый технический университет путей сообщения» с присуждением квалификации инженер по специальности «Вычислительные машины, комплексы, системы и сети». В 2016 г. прошел профессиональную переподготовку по специальности «Бактериология. Основы безопасной работы с патогенными биологическими агентами (ПБА) I-II групп». В апреле 2018 г. был прикреплен в качестве соискателя для выполнения диссертационной работы ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора.

Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2019 г. Федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего профессионального образования «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова».

Научные руководители: Комиссаров Александр Владимирович, доктор биологических наук, кандидат технических наук, профессор, главный научный сотрудник отдела экспериментальных фармацевтических форм ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора,

Волох Оксана Александровна, кандидат биологических наук, заведующая отделом профилактических препаратов ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора

утверждены Ученым советом ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, протокол № 4 от 6 апреля 2018 г.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертационная работа Бибикова Дмитрия Николаевича является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой представлены новые данные о возможности применения новых методических приемов культивирования, концентрирования, лиофилизации и методов оценки качества вакцинного штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ в производстве живой туляремийной вакцины. Работа соответствует всем требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям. Диссертационная работа Бибикова Д.Н. соответствует отрасли науки «Биологические науки», паспорту научной специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) в областях исследований по пунктам 3 – «Изучение и разработка технологических режимов выращивания микроорганизмов-продуцентов, культур тканей и клеток растений и животных для получения биомассы, ее компонентов, продуктов метаболизма, направленного биосинтеза биологически активных соединений и других продуктов, изучение их состава и методов анализа, технико-экономических критериев оценки, создание эффективных композиций биопрепаратов и разработка способов их применения», 4 – «Изучение и разработка процессов и аппаратов микробиологического синтеза, включая физико-химическую кинетику, гидродинамику, массо- и теплообмены в аппаратах для ферментации, сгущение биомассы, разделения клеточных суспензий, сушки, грануляции, экстракции, выделения, фракционирования, очистки, контроля и хранения конечных целевых продуктов. Разработка теории моделирования, оптимизации и масштабирования процессов и аппаратов микробиологического синтеза»; паспорту научной специальности 03.02.03 – микробиология в областях исследований по пунктам 2 – «Выделение, культивирование, идентификация микроорганизмов», 3 – «Морфология, физиология, биохимия и генетика

микроорганизмов», 10 – «Использование микроорганизмов в народном хозяйстве, ветеринарии и медицине».

Совместно с руководителями д.б.н., профессором Комиссаровым А.В. и к.б.н. Волох О.А. соискатель определил цели и задачи работы, методику экспериментов, а также подготовил материалы к публикации. Личное участие автора заключалось в непосредственном участии в нахождении эффективных решений поставленных задач, постановке экспериментов и интерпретации результатов, оформлении научных статей, патента на изобретение, разработке нормативных и методических документов. Некоторые экспериментальные исследования проведены вместе с к.б.н. Кузнецовой Е.М., к.б.н. Уткиным Д.В., к.ф.-м.н. Ерохиным П.Н., к.б.н. Ульяновым А.Ю., Мироновой Н.П., Авдеевой Н.Г., Борисовой С.В., Холматовым К.И.

Достоверность результатов проведенных исследований базируется на достаточном количестве полученных опытных результатов, их согласованности с теоретическими данными, статистическом анализе итогов экспериментов и проведении измерений на оборудовании прошедшем метрологическую поверку и калибровку. Выводы диссертации теоретически и экспериментально обоснованы и согласуются с целью и задачами работы.

Новизна проведенных исследований состоит в следующем. Экспериментально обоснованы качественный и количественный состав жидкой питательной среды на основе гидролизата фибрина для глубинного аппаратного культивирования вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ (сухой гидролизат фибрина 5%, глюкоза 1%, пантотенат кальция 0,005 %, хлорид натрия 0,5%, цистеин 0,1%, рН (7,2±0,1), а также технологические параметры (температура, продолжительность, степень аэрации и скорость перемешивания) реализации данного процесса, дающие возможность обеспечивать увеличение биомассы в 17-24 раза. Впервые для производства живой туляремийной вакцины разработана технологическая процедура концентрирования клеток вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ методом тангенциальной микрофльтрации. Разработана технология сублимационного высушивания вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ во флаконах, защищенная патентом на изобретение РФ № 2716505 «Способ получения лиофилизата вакцины туляремийной живой». Экспериментально обоснован новый биофармацевтический состав живой туляремийной вакцины (состав приведен на 1 мл): клетки штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ – (10±5) млрд клеток; и вспомогательные вещества: трегалоза – 0,1 г; декстран – 0,01 г; хитозан – 0,02 г. Впервые показана применимость электрооптического метода для определения показателя «жизнеспособность» вакцинного штамма туляремийного микроба. Выявлено, что метод электрооптического анализа раньше детектирует изменения жизненных показателей культуры клеток в процессе выращивания, чем показатели концентрации биомассы, а динамика показателя «анизотропия поляризуемости» соответствует изменению показателя «жизнеспособность». Для определения показателя «подлинность» показана применимость иммунохимических и молекулярно-генетических методов контроля.

Практическая значимость работы заключается в том, что разработаны состав жидкой питательной среды и технологические параметры глубинного аппаратного культивирования штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ, а также методические приемы концентрирования туляремийного микроба тангенциальной микрофльтрацией. Обоснованы и внедрены в практику лабораторного производства состав среды высушивания и технологические характеристики лиофилизации туляремийного микроба вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ во флаконах. Показана оперативность оценки показателя «жизнеспособность» штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ при использовании электрооптического метода. Время, затраченное на проведение микробиологического анализа, составляет 5-6 сут, электрооптического мониторинга – 30-60 мин. Предложен алгоритм использования молекулярно-генетических и иммунохимических методов для определения показателя «подлинность» в образцах экспериментальной живой туляремийной вакцины и на стадиях ее получения. Выявлена информативность методов – полимеразная цепная реакция с электрофоретическим учетом результатов и дот-иммуноанализ с белком А, конъюгированным с золотыми наночастицами. Основным практически значимым итогом диссертации является создание лабораторной технологической линии по выпуску вакцины туляремийной живой сухой. Предложенные решения нашли свое отражение в лабораторном регламенте на производство «Вакцина туляремийная живая сухая, лиофилизат для приготовления суспензии для внутрикожного введения и накожного скарификационного нанесения», утвержденном директором ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» 17 января 2019 г.

Материалы диссертации достаточно полно отражены в 15 опубликованных работах, из них 4 статьи из «Перечня изданий, которые входят в международные реферативные базы данных и системы цитирования и в соответствии с пунктом 5 правил формирования перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук», 4 статьи в журналах из «Перечня ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук», 6 публикаций в сборниках и материалах конференций, патент на изобретение РФ № 2716505 «Способ получения лиофилизата вакцины туляремийной живой».

Диссертация «Разработка новых методических приемов культивирования, концентрирования, лиофилизации и методов оценки качества вакцинного штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ» Бибикова Дмитрия Николаевича рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научным специальностям 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 03.02.03 – микробиология.

Заключение принято на заседании отдела профилактических препаратов совместно с сотрудниками отдела диагностических препаратов, отдела экспериментальных фармацевтических форм, отдела питательных сред, отдела

биологического и технологического контроля, отдела стандартизации, качества и метрологии ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора. Присутствовало на заседании 30 чел. Результаты голосования: «за» – 30 чел., «против» – нет чел., «воздержалось» – нет чел., протокол № 1 от 14 мая 2021 г.



доктор биологических наук
Абрамова Елена Геннадьевна, главный
научный сотрудник лаборатории
профилактических иммуноглобулинов
ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»
Роспотребнадзора

«14» 05 2021 г.