

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 350.002.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ
МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ
ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И
БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 26.12.2017 г. № 14

о присуждении Льву Игорю Олеговичу, гражданину РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Поиск новых бактериальных штаммов-антагонистов возбудителей кандидозов с целью разработки антимикотических препаратов» по специальностям 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 03.02.03 – микробиология принята к защите 25.10.2017 г., протокол № 9, диссертационным советом Д 350.002.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, Оболенск, приказ о создании №714/нк от 02.11.2012 г.

Соискатель Лев Игорь Олегович, 1990 г. рождения, в 2012 г. окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Челябинский государственный университет» по специальности «Биология». В 2016 г. окончил аспирантуру в Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации,

работает младшим научным сотрудником в Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации.

Диссертация выполнена в отделе биологических технологий Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации.

Научные руководители – доктор технических наук, старший научный сотрудник Похиленко Виктор Данилович, Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, отдел биологических технологий, ведущий научный сотрудник;

кандидат биологических наук Дунайцев Игорь Анатольевич, Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, отдел биологических технологий, ведущий научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

Вайнштейн Михаил Борисович, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г.К. Скрыбина» Российской академии наук, г. Пущино-на Оке, заместитель директора по научной работе;

Логинов Олег Николаевич, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Уфимский

Институт биологии» Российской академии наук, г. Уфа, заведующий лабораторией биотехнологий,

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация 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 Российской Федерации, г. Москва, в своем положительном Заключении, подписанном Афанасьевым Станиславом Степановичем, Заслуженным деятелем науки Российской Федерации, доктором медицинских наук, профессором, заместителем директора по биотехнологии, указала, что диссертация является законченной научно-квалифицированной работой, в которой содержится решение актуальной задачи по созданию новых бактериальных иммунобиологических препаратов с выраженной антагонистической активностью к кандидозам и грибам, имеющих существенное значение для теоретической и прикладной микробиологии и биотехнологии. Соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук по специальностям 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 03.02.03 – микробиология.

Соискатель имеет **14** опубликованных работ, в том числе по теме диссертации **14** работ, в том числе опубликованных в рецензируемых научных изданиях из Перечня ВАК- **2** статьи, **1** патент РФ, 4 статьи в других рецензируемых изданиях и 7 тезисов в материалах конференций. Объем опубликованных статей составляет 2,75 печатных листов, авторский вклад соискателя равен 75%.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Дунайцев, И.А. Эффективность использования штамма *Bacillus tojavensis* для повышения урожайности пшеницы. / И.А. Дунайцев, **И.О. Лев**, М.В. Клыкова, С.К. Жиглецова, О.А. Антошина, Л.В. Коломбет // *Агрехимия*. – 2017. - №4. – С. 76–82. Импакт - фактор РИНЦ 0,528;

2. Похиленко, В.Д. Иммобилизация антимикробных веществ бактериального происхождения в полимерные матриксы и оценка их свойств. / В.Д. Похиленко, И.А. Дунайцев, В.В. Перелыгин, **И.О. Лев**, Т.А. Калмантаев // *Современные проблемы науки и образования*. – 2016. – №6. - С. 537 DOI 10.17513/spno.25472. Импакт - фактор РИНЦ 0,402;

3. **Лев, И.О.** Поиск бацилл, активных в отношении грибных патогенов. / **И.О. Лев**, И.А. Дунайцев, М.В. Клыкова, Н.С. Ларина, С.К. Жиглецова // *Проблемы медицинской микологии*. - 2013. -Т.15.- №2. - С.97. Импакт - фактор РИНЦ 0,525;

4. Клыкова, М.В. Скрининг микроорганизмов-антагонистов, активных в отношении бактериальных и грибных патогенов. / М.В. Клыкова. И.А. Дунайцев, **И.О. Лев**, Н.С. Ларина, С.К. Жиглецова // *Проблемы медицинской микологии*. 2013. - Т. 15. - № 2. - С. 87. Импакт - фактор РИНЦ 0,525;

5. Патент РФ №2603281. Фосфатрастворяющий штамм *Pseudomonas chlororaphis* ssp. *chlororaphis* Vsk-26a3, обладающий фунгицидной и бактерицидной активностью. / М.В.Клыкова, И.А. Дунайцев, С.К. Жиглецова, Т.Н. Кондрашенко, **И.О. Лев**, И.М. Сосна, И.В. Торголина, Т.А. Варламова // 2016. - Бюл. №33.

На диссертацию и автореферат поступило 6 положительных отзывов от: (1) д-ра мед. наук, профессора **Бурмистровой Александры Леонидовны**, декана биологического факультета, заведующей кафедрой микробиологии, иммунологии и общей биологии Челябинского государственного университета, г. Челябинск. Содержит замечание о низком качестве приведенных в автореферате хроматограмм; (2) д-ра биол. наук, доцента **Никифорова Алексея Константиновича**, заместителя директора по экспериментальной и производственной работе Российского научно-исследовательский противочумного института «Микроб» и д-ра биол. наук, доцента **Комиссарова Александра Владимировича**, заведующего отделом

экспериментальных фармацевтических форм того же института, г. Саратов – без замечаний; (3) д-ра биол. наук **Александровой Алины Витальевны**, ведущего научного сотрудника кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва – без замечаний; (4) д-ра хим. наук, профессора **Штильмана Михаила Исаковича**, руководителя учебно-научного центра магистерской подготовки «Биоматериалы» Российского химико-технологического университета им. Д.И. Менделеева, г. Москва – без замечаний; (5) д-ра биол. наук **Михальчик Елены Владимировны**, ведущего научного сотрудника лаборатории физико-химических методов исследования и анализа Федерального научно-клинического центра физико-химической медицины ФМБА, г. Москва – без замечаний; (6) д-ра биол. наук, доцента **Неминушей Ларисы Анатольевны**, ведущего научного сотрудника отдела обеспечения качества лекарственных средств для ветеринарии и животноводства Всероссийского научно-исследовательского технологического института биологической промышленности, Московская обл. Содержит замечание: «Не указано, проводилась ли авторами паспортизация нового штамма для подтверждения отсутствия генов токсинообразования, поскольку показано, что при неблагоприятных условиях (применение антимикробных препаратов, сопутствующие инфекции, стрессы, изменение рациона и т.д.) использование препаратов с недостаточно полно охарактеризованными по безопасности спорообразующими бактериями чревато токсическими явлениями и осложнениями первичного патологического процесса».

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что:

доктор биологических наук, профессор Вайнштейн Михаил Борисович является признанным специалистом в сфере микробиологии и биотехнологии, имеет многочисленные научные публикации в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Льва И.О. (**Chem. Biol. Technol. Agric.- 2014.- Vol. 1 . - №1.- P. 1-18; J. Industr. Microbiol. Biotechnol.- 2014.- Vol. 41. - №4.- P. 657-663; Appl. Adh. Sci.-**

2015.- Vol. 3. - №1.- P.1- 18; **Appl. Biochem. Microbiol.**- 2015.- Vol. 51. - № 2.- P. 242-248; **Вестник Биотехнол. Физ.-Хим. Биол.**- 2016.- Т.12. - № 3.- С. 41-52; **Appl. Microbiol. Biotechnol.**- 2017.- Vol. 101 - №3.- P. 921-932;);

доктор биологических наук, профессор Логинов Олег Николаевич является компетентным специалистом в области микробиологии и биотехнологии и имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Льва И.О. (**Изв. Уфим. Науч. Центра РАН.**- 2013.- № 3.- С. 49-52; **Изв. Самар. Науч. Центра РАН.**- 2013.- Т.15, № 3-5.- С. 1649-1652; **Изв. Уфим. Науч. Центра РАН.**- 2014.- № 4.- С. 66-94.; **Изв. Уфим. Науч. Центра РАН.**- 2015.- № 4.- С. 120-123; **Прикл. Биохим. Микробиол.**- 2016.-№1(16).- С.93-99; **Микробиол.**- 2016.- Vol. 85.- №3.- P. 317-326; **Appl. Biochem. Microbiol.**- 2017.- Vol. 53.- № 2.- P. 201-208).

Назначение ведущей организации обосновано широкой известностью ее достижений в области разработки и испытаний новых средств, технологий и способов диагностики, лечения и профилактики инфекционных заболеваний, а также наличием публикаций в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Льва И.О. (**Клин. Лаб. Диагн.** - 2014.- Т. 59.- №9.- С. 83; **Инф. Иммунол.** - 2015.- Т. 5. - № 3.- С. 225-232; **Инфекц. Бол.** - 2014.- Т. 12.- № 1.- С. 171-174; **Иммунол.**- 2015.- Т. 36.- № 3.- С. 176-183; **Иммунол.**- 2015.- Т. 36.- № 5.- С. 290-295; **Инфекц. Бол.** - 2016.- Т. 14.- №1.- С. 158).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана технология получения антимикотического комплекса штамма *B. tojavensis* Lhv-97 для использования в медицине и ветеринарии, а также технология создания экспериментального образца биопрепарата для сельского хозяйства на основе живых клеток этого штамма – антагониста микробных патогенов;

предложено использование биопрепаратов на основе штамма *B. mojavensis* Lhv-97 против кандидозов человека и животных, а также против психрофильных грибных патогенов растений, в частности *Microdochium nivale* (снежная плесень);

доказана перспективность использования аминогликозидного антибиотика с молекулярной массой 678,51 Да, синтезируемого штаммом *B. mojavensis* Lhv-97, против кандидозов, вызванных *Candida albicans*;

введены новые представления о возможности синтеза бактериями рода *Bacillus* аминогликозидных антибиотиков с молекулярной массой выше 600 Да.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказана возможность синтеза бактериями вида *B. mojavensis* аминогликозидных антибиотиков и возможность их расширенного применения против грибных патогенов человека, животных и растений;

применительно к проблематике диссертации эффективно использованы микробиологические методы (культивирование микроорганизмов, видовая идентификация, определение антагонистической активности), биотехнологические методы (оптимизация состава питательных сред и условий культивирования, разделение, концентрирование и сушка целевых продуктов), биохимические методы (определение ферментативной активности штаммов, определение чувствительности препаратов к трипсину, тонкослойная хроматография, жидкостная хроматография, эксклюзионная и газовая хроматография), физико-химические методы (УФ-спектрометрия, хромато-масс-спектрометрия), биологические методы (оценка токсичности бактериального штамма для животных в экспериментах *in vivo*, оценка эффективности экспериментального образца против кандидоза ротовой полости на мышинной модели, полевые деляночные испытания на пшенице);

изложены доказательства высоких показателей антигрибной активности штамма *B. mojavensis* Lhv-97; подана Заявка на патент РФ №2017128916 «Штамм бактерий *Bacillus mojavensis* Lhv-97, обладающий фунгицидной и

бактерицидной активностью» (И.А. Дунайцев, **И.О. Лев**, М.В. Клыкова, С.К. Жиглецова, И.М. Сосна, И.В. Торголина, Т.А. Варламова);

раскрыта проблема выделения и очистки антигрибного компонента клеток штамма *B. mojavensis* Lhv-97, которая была разрешена путем модернизации процесса высокоэффективной жидкостной хроматографии и дополнительного использования эксклюзионной хроматографии;

изучена зависимость эффективности синтеза антимикробных веществ от состава питательной среды, рН и температуры; определен состав и охарактеризованы свойства активного антимикотического компонента штамма *B. mojavensis* Lhv-97;

проведена модернизация процесса выделения и очистки антимикотического компонента с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии, которая заключалась в модифицировании колонки С18 для обращенно-фазовой хроматографии и использовании воды в качестве элюента;

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны и внедрены:

Лабораторный регламент ЛР 78095326-188-2017 на получение антимикотического комплекса штамма Lhv-97 (утвержден директором ФБУН ГНЦПМБ 20.09.2017 г.) - Учрежденческий уровень внедрения;

штамм *B. mojavensis* Lhv-97 депонирован в Государственной коллекции микроорганизмов «ГКПМ - Оболенск» под номером В-8101 (Свидетельство о депонировании №45 от 26 июня 2017 г.) – Федеральный уровень внедрения;

определены в независимых полевых испытаниях перспективы практического использования штамма *B. mojavensis* Lhv-97 в качестве продуцента фунгицидного препарата против грибных возбудителей болезней растений (Акт ГНУ «Рязанский научно-исследовательский институт сельского хозяйства» от 06.11.2013 г.; Акты ФГБОУ ВО «Рязанский

государственный агротехнологический университет им. П.А. Костычева» от 01.09.2015 г.) - Межведомственный уровень внедрения;

представлен Акт от 04.12.2017 г. об использовании результатов диссертационного исследования в учебном процессе ФГБОУ ВО «Рязанский государственный агротехнологический университет им. П.А. Костычева» по программе «Инновационные экологически безопасные агротехнологии» - Межведомственный уровень внедрения.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

результаты исследования получены в экспериментах с использованием сертифицированного оборудования и программного обеспечения, при этом применены современные методы микробиологии и биотехнологии, а также методы статистической обработки данных;

идея диссертационного исследования базируется на анализе имеющихся в литературе данных об актуальности исследований, касающихся поиска новых антагонистически активных штаммов продуцентов антимикотических соединений и создания безопасных биопрепаратов на их основе;

установлено совпадение полученных автором результатов с опубликованными ранее в научной литературе данными других авторов - в части возможности продукции бактериями рода *Bacillus* аминогликозидных антибиотиков и активности аминогликозидов в отношении патогенных грибов;

использованы современные методы получения и обработки информации.

Личный вклад соискателя состоит в:

планировании, проведении исследований, обработке результатов и их интерпретации, включая выделение чистой культуры штамма *B. mojavensis* Lhv-97, исследование его культурально-морфологических свойств, таксономической принадлежности, подбор питательных сред и условий культивирования, изготовление на его основе экспериментальных образцов биопрепаратов, выделение и очистку антимикотического вещества.

На заседании 26.12.2017 г. диссертационный совет принял решение присудить Льву И.О. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 8 докторов наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 9 докторов наук по специальности 03.02.03 – микробиология, участвовавших в заседании, из 22 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 18, против нет, недействительных бюллетеней нет.

Председатель
диссертационного совета _____ (Дятлов Иван Алексеевич)

Ученый секретарь
диссертационного совета _____ (Фурсова Надежда Константиновна)

Дата оформления Заключения – 26.12.2017 г.

Печать организации, на базе которой создан диссертационный совет.