

Отзыв

на автореферат диссертации Бочкаревой Светланы Сергеевны «Конструирование препаратов бактериофагов и клинико-иммунологические аспекты фаготерапии и фагопрофилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи», представленной на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальностям 1.5.6. «Биотехнология»

Актуальность.

Широкое распространение антибиотикорезистентности у бактерий угрожает современному здравоохранению. ВОЗ назвала проблему устойчивости к противомикробным препаратам одной из основных стоящих перед человечеством глобальных угроз здоровью населения. Эту проблему пытаются решить путем поиска и синтеза новых антимикробных препаратов, однако микроорганизмы адаптируются к ним быстрее, чем происходит разработка и внедрение новых антимикробных средств. В настоящее время известно около 6000 антибиотиков. Путь от открытия и испытания до внедрения нового антибиотика занимает от 5 до 10 лет и обходится в сумму от десятков до сотен миллионов долларов, в то время как микроорганизмам в лабораторных условиях достаточно нескольких недель для адаптации к новому антимикробному препарату.

Наиболее остро проблема антибиотикорезистентности стоит для лечения инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) в медицинских организациях различного профиля. Такие инфекции наносят значительный ущерб здоровью населения, экономике и демографической ситуации, что определяет актуальность их профилактики и лечения. ИСМП ежегодно развиваются у 2-2,5 млн. человек в России. К высокому риску инфицирования относятся отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), ожоговые, онкологические, травматологические, урологические отделения, а также учреждения материнства и детства. Ситуация усугубляется формированием «госпитальных штаммов» – штаммов микроорганизмов с измененными биологическими свойствами, они приобретают устойчивость к антимикробным препаратам, к физическим воздействиям, а также повышенную вирулентность. Антибиотикотерапия против штаммов ИСМП, отличающихся множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), зачастую является неэффективной, что значительно ухудшает течение



основного заболевания. Больных, находящихся на длительном лечении в отделении реанимации, можно также отнести к категории «иммунокомпрометированных больных», поскольку длительная борьба с инфекцией у них приводит к истощению ресурсов иммунной системы.

Наиболее тяжело поддаются лечению именно иммунокомпрометированные больные, страдающие ИСМП. При проведении фаготерапии у таких больных для достижения максимального эффекта необходим индивидуализированный подбор бактериофагов с учетом, с одной стороны, быстрого изменения штаммов-возбудителей, вызывающих непрерывно рецидивирующую инфекцию у данной категории пациентов и зачастую обладающих МЛУ, а с другой стороны, возможного формирования антифагового иммунитета при повторных курсах фаготерапии с использованием бактериофагов, характеризующихся сходными антигенными детерминантами.

Одним из вариантов решения проблемы антибиотикорезистентности может стать фаготерапия. Решением Ученого Совета Роспотребнадзора от 21 июня 2011 года рекомендовано научно-исследовательским организациям совместно с производителями фармацевтических средств направить усилия на разработку новых препаратов на основе бактериофагов, эффективных при осуществлении мероприятий по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения РФ.

Все эти вопросы нашли детальное изучение в настоящей работе. Исследование носило многолетний и комплексный характер. В работе применены общенаучные подходы и специальные методы научного познания классической биотехнологии.

Целью работы являлась разработка технологии производства и рационального алгоритма подбора бактериофагов в составе фагового коктейля для эффективной фаготерапии и фагопрофилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, с обязательной оценкой иммунного ответа на бактериофаги у данной категории больных.

Автором сформулировано восемь задач исследования, адекватных и достаточных для достижения поставленной цели.

Научная новизна исследования. Диссертационная работа Бочкаревой С.С., несомненно, обладает научной новизной.



Впервые получены индивидуальные фармакокинетические и иммунологические характеристики бактериофагов: KpV15, KpV811, PA5, PA10, AM24, AP22, SCH1 и SCH111. Разработаны универсальные составы лекарственных форм на основе коктейля бактериофагов для различных путей введения, включающие необходимый набор вспомогательных компонентов, и технология их пилотного производства.

Проведены доклинические исследования по оценке острой и хронической токсичности раствора с коктейлем бактериофагов KpV15, KpV811, PA5, PA10, AM24, AP22, SCH1 и SCH111. Изучена фармакокинетика бактериофагов, а также терапевтическая эффективность разработанных препаратов на примере клебсиеллёзного бактериофага KpV15.

Впервые сконструированы и клинически апробированы иммуноферментные тест-системы для определения IgG-антител к изучаемым бактериофагам. Изучены параметры гуморального и клеточного иммунитета больных на фоне фаготерапии; исследованы уровни IgG-антител к изучаемым бактериофагам и оценено их влияние на эффективность фаготерапии.

Показана высокая микробиологическая эффективность использования разработанного алгоритма персонализированного подбора бактериофагов для лечения пациентов, страдающих ИСМП, на четырех клинических базах, которая составила 89 %.

Результаты проведенных исследований имеют **теоретическую значимость** и выраженную **практическую** направленность. Так, автором предложены концепции индивидуализированного подбора бактериофагов для эффективной терапии постоянно рецидивирующих, вызванных условно-патогенными микроорганизмами, инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, особенно вызванных возбудителями, обладающими МЛУ. Концепция учитывает многофакторные аспекты взаимодействия фага как с бактерией-мишенью, так и с макроорганизмом.

Получен ряд лекарственных препаратов на основе оригинальных вирулентных бактериофагов, эффективных в отношении ведущих возбудителей инфекций (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* и *Acinetobacter baumannii*), связанных с оказанием медицинской помощи (в том числе, возбудителей, обладающих МЛУ). В результате проведенных исследований разработаны универсальные составы



лекарственных форм на основе коктейлей бактериофагов, а именно, раствор для приема внутрь и местного применения и инъекционный раствор, включающие необходимый набор вспомогательных компонентов для конструирования фаговых препаратов различного штаммового состава. Разработаны спецификации на лекарственные формы и лабораторные регламенты.

Сконструирована линейка иммуноферментных тест-систем, предназначенных для определения в образцах сыворотки крови пациентов IgG-антител к полученным и использованным в ходе работы бактериофагам. Данная линейка тест-систем может быть внедрена в широкую медицинскую практику. Сформулированы основные принципы оценки эффективности фаготерапии пациентов, страдающих ИСМП, с учетом гуморального иммунного ответа на бактериофаг.

Цель диссертационного исследования с успехом достигнута, задачи раскрыты в положениях, выносимых на защиту. Автореферат построен по традиционной схеме и включает все необходимые разделы с четким информативным иллюстрационным материалом. Диссертация состоит из введения, шести глав, выводов, списка литературы и приложений. Библиография содержит 240 источников (51 отечественных и 189 иностранных).

В разделе «Заключение» автор обосновывает и доказывает основные положения, выносимые на защиту. Девять выводов, практические рекомендации и перспективы дальнейших исследований изложены предельно четко, лаконично, демонстрируют факт достижения поставленной цели исследования и полностью соответствуют полученным автором результатам.

Основные результаты по теме диссертации опубликованы в 45 публикациях, 12 из которых в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, в том числе 10 – в журналах, индексируемых международными базами данных, 10 статей в других изданиях, 1 – глава в монографии, 20 – в материалах конференций и конгрессов, 1 – методические указания, 1 – патент.

О достоверности полученных результатов исследования свидетельствует достаточный объем выборки анализируемых образцов, использование сертифицированных бактериологических, иммунохимических и молекулярно-генетических методов, которые характеризуются высокой



специфичностью и чувствительностью. Комплексное бактериологическое, иммунохимическое и молекулярно-генетическое исследование бактериальных штаммов и штаммов бактериофагов позволило получить данные, сопоставимые с данными литературы, что также свидетельствует о достоверности полученных результатов. При проведении экспериментальной работы использовано сертифицированное современное оборудование: методами статистической обработки установлена воспроизводимость и правильность результатов исследований, что также позволяет считать их достоверными. Материалы исследований, изложенные в настоящей работе, опубликованы в рецензируемых отечественных и зарубежных журналах и прошли экспертную оценку. Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 1.5.6 – Биотехнология.

Степень и достаточность *личного вклада* автора не вызывают сомнений. Автором разработана концепция исследования, определены алгоритмы и методология выполнения работы, обобщены литературные данные по проблеме, проведены экспериментальные и аналитические исследования. Автор принимал непосредственное участие в разработке лекарственных форм бактериофагов и их изучении, в подборе фагового коктейля для лечения 160 больных, разработке иммуноферментных тест-систем, изучении гуморального и клеточного иммунитета больных на фоне фаготерапии. Автором непосредственно разработана документация для проведения инициативного научного исследования. Основные результаты диссертационной работы получены при личном участии диссертанта, что подтверждено научными публикациями.

Заключение

Диссертация Бочкаревой С.С. «Конструирование препаратов бактериофагов и клинико-иммунологические аспекты фаготерапии и фагопрофилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи» на соискание ученой степени доктора биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработана технология производства и рационального алгоритма подбора бактериофагов для эффективной фаготерапии и фагопрофилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, с



обязательной оценкой иммунного ответа на бактериофаги у данной категории больных.

Работа Бочкаревой Светланы Сергеевны полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. (с изменениями Постановления Правительства РФ № 335 от 21.04.2016 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6 «Биотехнология», а ее автор заслуживает присуждения искомой степени.

Заведующая лабораторией подготовки специалистов Федерального казенного учреждения здравоохранения «Ставропольский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 355035, г. Ставрополь, ул. Советская, 13-15, Тел. /факс: (865 2) 26-40-05, e-mail: stavnipchi@mail.ru

доктор медицинских наук

Татьяна Викторовна Таран

Подпись доктора медицинских наук

Таран Татьяны Викторовны, заверяю

Начальник отдела кадров Федерального казенного учреждения здравоохранения «Ставропольский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека



Садагет Мамед кызы Исмаилова

21.02.2023 г.

Адрес: 355035, Российская Федерация, г. Ставрополь, ул. Советская, 13-15, Тел. /факс: (865 2) 26-40-05, e-mail: stavnipchi@mail.ru

