

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 64.1.002.01 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 ДОКТОРА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 24.03.2023 г. № 8
о присуждении Бочкаревой Светлане Сергеевне, гражданке РФ, ученой
степени доктора биологических наук.

Диссертация «Конструирование препаратов бактериофагов и клинко-иммунологические аспекты фаготерапии и фагопрофилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи» по специальности 1.5.6. Биотехнология принята к защите 16.12.2022 г., протокол № 36, диссертационным советом 64.1.002.01 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., г.о. Серпухов, п. Оболенск, Территория «Квартал А», д. 24, приказ о создании № 714/нк от 02.11.2012 г.

Соискатель Бочкарева Светлана Сергеевна 1980 г. рождения диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук «Оптимизация параметров иммунологической безопасности и специфической активности жидкой формы препарата "Габриглобин-IgG"» защитила в 2012 г. в диссертационном совете Д 208.046.02, созданном 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 Российской Федерации; работает ведущим научным

сотрудником лаборатории иммунобиологических препаратов 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 Российской Федерации.

Диссертация выполнена в лаборатории иммунобиологических препаратов 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 Российской Федерации.

Научные консультанты:

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор Караулов Александр Викторович, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)», кафедра клинической иммунологии и аллергологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского, заведующий кафедрой;

доктор медицинских наук Ершова Ольга Николаевна, Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заместитель главного врача по эпидемиологической работе.

Официальные оппоненты:

Асланов Батырбек Исмелович, доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии, заведующий кафедрой;

Брусина Елена Борисовна, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра эпидемиологии, инфекционных болезней и дерматовенерологии, заведующая кафедрой;

Пименов Николай Васильевич, доктор биологических наук, профессор РАН, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина» Министерства сельского хозяйства Российской Федерации, кафедра иммунологии и биотехнологии, заведующий кафедрой,

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация 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, г. Санкт-Петербург, в своем положительном заключении, подписанном Кафтыревой Лидией Алексеевной, лаборатория кишечных инфекций, заведующая лабораторией, указала, что диссертационная работа Бочкаревой Светланы Сергеевны «Конструирование препаратов бактериофагов и клинико-иммунологические аспекты фаготерапии и фагопрофилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук, является завершенной, самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой, на основании выполненных автором исследований и разработок, осуществлено решение актуальной научной проблемы, имеющей существенное значение для здравоохранения нашей страны – обоснование возможности проведения фаготерапии пациентам, страдающим инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи, без снижения ее эффективности при проведении повторных курсов. По

актуальности, новизне и практической значимости рассматриваемая диссертационная работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (ред. 21.09.2021 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор Бочкарева Светлана Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Соискатель имеет **83** опубликованные работы, в том числе по теме диссертации **45** работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано **12** работ, **1** патент РФ, **1** методические указания, **1** коллективная монография и **30** работ в других изданиях. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Aleshkin, A.V. Phage bioticsin treatment and prophylaxis of health care-associated infections / A.V. Aleshkin, O.N. Ershova, N.V. Volozhantsev, E.A. Svetoch, A.V. Popova, E.O. Rubalskii, A.I. Borzilov, V.A. Aleshkin, S.S. Afanasev, A. V. Karaulov, K.M. Galimzyanov, O.V. Rubalsky, **S.S. Bochkareva** // **Bacteriophage**. – 2016.–V. 6, N. 4. (Цит. 6)

2. **Бочкарева, С.С.** Иммунологические аспекты фаготерапии инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в отделении нейрореанимации / **С.С. Бочкарева**, А.В. Алешкин, О.Н. Ершова, Л.И. Новикова, С.С. Афанасьев, И.А. Киселева, Э.Р. Зул'карнеев, Е.О. Рубальский, О.Ю. Борисова, А.В. Караулов // **Журн. Микробиол. Эпидемиол. Иммунобиол.** – 2017. - №4. – С.42-48. IF РИНЦ 0,512 (Цит. 5)

3. **Bochkareva, S.S.** Anti-phage antibody response in phage therapy against healthcare-associated infections (HAIs) / **S.S. Bochkareva**, A.V. Aleshkin, O.N. Ershova, L.I. Novikova, A.V. Karaulov, I.A. Kiseleva, E.R. Zul'karneev, E.O. Rubal'skiy, M.V. Zeigarnik // **Inf. Dis.** – 2017. – V.15, N.1. – P. 35-40. IF РИНЦ 0,780, SJR 0,832 (Цит. 11)

4. Aleshkin, A. Concept of individualized medicine based on personalized phage therapy for intensive care unit patients suffering from healthcare-associated

infections / A. Aleshkin, A. Shkoda, **S. Bochkareva**, O. Ershova, S. Mitrkhin, I. Kiseleva, E. Zul'karneev, E. Rubal'sky, L. Novikova // **Inf. Dis.** – 2017. – V.15, N.4. – P.49-54. IF РИНЦ 0,780, SJR 0,832 (Цит. 2)

5. Karaulov, A.V. The role of innate immunity receptors in infectious diseases and maintenance of organism homeostasis / A.V. Karaulov, S.S. Afanasiev, V.A. Aleshkin, N.L. Bondarenko, E.A. Voropaeva, M.S. Afanasiev, Yu.V. Nesvizhsky, A.V. Aleshkin, O.Yu. Borisova, A.L. Pylev, Yu.N. Urban, **S.S. Bochkareva**, O.V. Rubalsky, A.D. Voropaev // **Inf. Dis.** – 2018. – V.16, N.1. – P.70-78. IF РИНЦ 0,780, SJR 0,832 (Цит. 2)

6. **Бочкарева, С.С.** Методические подходы к оценке некоторых параметров гуморального и клеточного иммунного ответа на бактериофаги / **С.С. Бочкарева**, А.В. Караулов, А.В. Алешкин, Л.И. Новикова, И.М. Федорова, М.С. Бляхер, С.И. Котелева, И.В. Капустин // **Клин. Лаб. Диагн.** – 2019. – Т.64, N4. – С. 237-242. IF РИНЦ 0,749 (Цит. 4)

7. **Бочкарева, С.С.** Изучение фармакокинетики суппозиторных форм препаратов бактериофагов / **С.С. Бочкарева**, А.В. Караулов, А.В. Алешкин, Л.И. Новикова, И.А. Киселева, Е.О. Рубальский, Э.Р. Мехтиев, А.О. Стышнев, Э.Р. Зул'карнеев, М.Н. Анурова, Е.О. Бахрушина, А.В. Летаров // **Бюлл. Экспер. Биол. Мед.** – 2019. – Т.168, N.12. – С. 707-711. IF РИНЦ 0,666, SJR 0,6 (Цит. 1)

8. Rubalskii, E. Fibrin glue as a local drug-delivery system for bacteriophage PA5 / E. Rubalskii, S. Ruemke, C. Salmoukas, B. Mashaqi, E.C. Boyle, D. Boethig, C. Kuehn, A. Haverich, A. Aleshkin, **S. Bochkareva**, E. Zul'karneev, E. Modin, M. Rubalsky // **Sci. Rep.** – 2019. – V.9, N.1. – P. 2091. SJR 1,01 (Цит. 22)

9. Rubalskii, E. Bacteriophage therapy for critical infections related to cardiothoracic surgery / E. Rubalskii, Reumke, C. Salmoukas, E.C. Boyle, G. Warnecke, I. Tudorache, M. Shrestha, J.D. Schmitto, A. Martens, S.V. Rojas, C. Kuehn, A. Haverich, S. Ziesing, **S. Bochkareva** // **Antibiotics.** – 2019. – V.9, N.5. – P.232. SJR 0,79 (Цит. 22)

10. Bakhrushina, E.O. Development of the composition and pharmacokinetic studies of suppositories with combined substance of bacteriophages / E.O. Bakhrushina, M.N. Anurova, N.B. Demina, A.V. Aleshkin, I.A. Kiseleva, **S.S. Bochkareva**, A.M. Vorobev, K.M. Bagandova // **J. Drug Deliv. Sci. Technol.** - 2020. - V. 59. - P. 101841. SJR 0,69 (Цит. 0)

11. Воробьев, А.М. Определение спектра бактерицидной активности рекомбинантных эндолизинов бактериофагов ECD7, AM24, AP22, SI3 и ST11 / А.М. Воробьев, М.Н. Анурова, А.В. Алешкин, В.А. Гуцин, Д.В. Васина, Н.П. Антонова, И.А. Киселева, Е.О. Рубальский, Э.Р. Зулкарнеев, А.И. Лаишевцев, Э.Р. Мехтиев, В.В. Каминский, Е.О. Бахрушина, **С.С. Бочкарева**, А.В. Караулов // **Бюлл. Экспер. Биол. Мед.** – 2020. – Т.170, N.11. – С.597-601. IF РИНЦ 0,666, SJR 0,6 (Цит. 1)

12. Vasina, D.V. Efficacy of the endolysin-based antibacterial gel for treatment of anaerobic infection caused by fusobacteriumnecrophorum / D.V. Vasina, N.P. Antonova, A.M. Vorobev, A.I. Laishevtsev, A.V. Kapustin, E.R. Zulkarneev, **S.S. Bochkareva**, I.A. Kiseleva, M.N. Anurova, A.V. Aleshkin, A.P. Tkachuk, V.A. Gushchin // **Antibiotics**. – 2021. – V.10, N.10. –P.1260. SJR 0,79 (Цит. 0)

13. Пат. РФ 2664681, МПКА61К 35/76 (2015.01), А61Р 31/00 (2006.01). Способ лечения инфекции, связанной с оказанием медицинской помощи, вызванной возбудителем или возбудителями с множественной лекарственной устойчивостью / В.А. Алёшкин, А.В. Алешкин, О.Н. Ершова, **С.С. Бочкарева**, А.С. Шкода, И.И. Вайншток, С.Г. Ведяшкина, С.Д. Митрохин, О.С. Калачева, О.Е. Орлова, И.А. Киселева, Е.О. Рубальский, Э.Р. Зулкарнеев; заявитель и патентообладатель Алешкин А.В. - №2017131353; заявл. 06.09.2017; опубл. 21.08.2018; Бюлл. № 24 – 19 с.

На диссертацию и автореферат поступило **9** положительных отзывов от: **(1)** д-ра мед. наук, профессора **Степановой Татьяны Федоровны**, директора Тюменского научно-исследовательского института краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора, г. Тюмень - без замечаний; **(2)** д-ра биол. наук, профессора **Тикуновой Нины Викторовны**, заведующей лабораторией молекулярной биологии Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск - без замечаний; **(3)** д-ра мед. наук, профессора **Рубальского Олега Васильевича**, заведующего кафедрой микробиологии и вирусологии Астраханского государственного медицинского университета Минздрава РФ, г. Астрахань - без замечаний; **(4)** д-ра биол. наук, академика РАН **Логунова Дениса Юрьевича**, заместителя по научной работе Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии имени почетного

академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава РФ, г. Москва - без замечаний; (5) д-ра мед. наук, профессора **Царева Виктора Николаевича**, заслуженного деятеля науки РФ, заведующего кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии Московского государственного медико-стоматологического университета им. А.И. Евдокимова Минздрава РФ, г. Москва - без замечаний; (6) д-ра мед. наук, доцента **Благодаровой Анны Сергеевны**, проректора по научной работе, профессора кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины Приволжского исследовательского медицинского университета Минздрава РФ, г. Нижний Новгород - без замечаний; (7) д-ра мед. наук **Таран Татьяны Викторовны**, заведующей лабораторией подготовки специалистов Ставропольского противочумного института, г. Ставрополь - без замечаний; (8) д-ра биол. наук. **Летарова Андрея Викторовича**, зав. лабораторией вирусов микроорганизмов Института микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН, профессора кафедры вирусологии Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, г. Москва, содержал вопросы: *«Почему использованы разные подходы к оценке чувствительности штаммов исходных панелей к выбранным бактериофагам; как диссертант интерпретирует образование мутных пятен при нанесении концентрированного лизата фага на ряд штаммов без формирования бляшек при раститровке; проводилось ли исследование независимых параллельных культур на определение частоты возникновения фагоустойчивых мутантов; рассчитывала ли автор константу адсорбции фага; необходимо представить пояснение по соотношению посевных доз фагов и бактерий; отказ от стабилизации препаратов требует пояснения; исследовали ли кровь мышей на ранних сроках; сопоставлялись ли результаты исследования фармакокинетики и результаты анализа профилактического и лечебного действия фагов; каковы доверительные интервалы при использовании 6 мышей на каждую точку; проводили ли контроль активности фагов после очистки в градиенте хлористого цезия; как применялась в работе инъекционная форма; почему исследование проводили на пациентах, у которых заведомо присутствовали*

бактерии, чувствительные к используемым фагам; получали ли пациенты коктейль, содержащий 8 вирусов, независимо от возбудителя инфекции в каждом конкретном случае; как соотносится обнаружение отдельных фагов в образцах с наличием у пациента чувствительных к этим конкретным фагам патогенов в начале терапии; почему образцы отбирали через 24 ч после 5-дневного приема препарата; зачем использовали два различных способа активности фагов; как диссертант может пояснить утверждение о попадании фагов в кровеносную систему через стенку кишечника, что противоречит данным литературы; почему автор считает оптимальным для фаготерапии подбор дозы фага исходя из численного соотношения бактериофагов к титру клеток; почему автор считает возможным падение титра фага по достижении очага инфекции всего лишь на 2 порядка; чем автор может объяснить представленный в исследовании высокий уровень эффективности применения фаготерапии в сравнении с рядом описанных в недавней литературе случаев; как автор может прокомментировать разнородность клинических случаев, включенных в опытную и контрольную группу; планирует ли автор опубликовать описание всех 160 пациентов в открытой базе данных; какие возбудители ИСМП рассматривались в исследовании; к каким фагам определялись антитела у каждого конкретного пациента; обнаружена ли корреляция между присутствием антифаговых антител и снижением эффективности фаготерапии; каким именно бактериофагом проводили стимуляцию выделенных мононуклеаров в разделе 6.3.1?»; (9) д-ра мед. наук, профессора **Нафеева Александра Анатольевича**, доцента кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоологии и ветеринарно-санитарной экспертизы Ульяновского государственного аграрного университета им. П.А. Столыпина, г. Ульяновск - без замечаний.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что:

доктор медицинских наук, доцент **Асланов Батырбек Исмелович** является высококомпетентным специалистом в области применения бактериофагов, в том числе при инфекциях, связанных с оказанием медицинской помощи, и имеет научные публикации в сфере исследований,

соответствующей докторской диссертации Бочкаревой С.С. (**Инф. Иммуно.- 2022.** - Т. 12. - № 1. - С. 185-192; **Ж. Инфектол.** - **2019.** - Т. 11. - №1. - С. 65-70; **2021.** - Т. 13. - №3. - С. 102-106; **Проф. и клин. мед.** - **2019.** - №4 (73). - С. 4-9; **2020.** - №4 (77). - С. 40-45; **2021.** - №3 (80). - С.53-57; **2022.** - №3(84). - С. 36-41; **Int. J. Inf. Dis.** - **2022.** - V. 116, P. 127; **Здоровье Насел. Среда Обитания.** - **2022.** - Т. 30, № 11. - С. 69-75; **Вестн. Гематол.** - **2022.** - Т. 18, №1. - С. 35);

доктор медицинских наук, профессор **Брусина Елена Борисовна** является признанным специалистом в области медицинской микробиологии, включая анализ мультирезистентных организмов и лабораторной диагностики инфекций, в том числе связанных с оказанием медицинской помощи, и имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей докторской диссертации Бочкаревой С.С. (**Эпид. Вакцинопроф.** - **2019.** - Т. 18. - № 3. - С. 84-88; **2020.** - Т. 19. - № 2. - С. 40-47; **Тихоокеан. Мед. Журн.** - **2018.** - № 3(73). - С. 83-86; **Globus.** - **2020.** - № 8 (54). - С. 4-7; **Chronos.** - **2020.** - № 8 (47). - С. 39-43; **Журн. Микробиол. Эпидемиол. Иммунобиол.** - **2021.** - Т. 98. - № 3. - С. 266-275; **Фундамен. Клин. Мед.** - **2020.** - Т. 5, №1. - С. 15-25; **2020.** - Т. 5, №4. - С. 97-103; **2021.** - Т. 6. - № 1. - С. 47-52; **Life.** - **2021.** - V. 11, N 7);

доктор биологических наук, профессор **Пименов Николай Васильевич** является признанным специалистом в области биотехнологии, включая разработку и применение бактериофагов при опасных инфекциях, обладающих множественной антибиотикорезистентностью, проблем развития устойчивости к антимикробным препаратам и идентификации бактериальных патогенов, и имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей докторской диссертации Бочкаревой С.С. (**Ветерин. Зоотех. Биотехнол.** - **2020.** - № 1. - С. 30-35; **2021.** - № 5. - С. 33-38; **2021.** - № 10. - С. 28-35; **2021.** - № 3. - С. 27-33; **2021.** - № 10. - С. 12-18; **2022.** - № 11. - С. 52-58; **Biotechnology.** - **2020.** - N 1. - С. 30; **Вестн. Алтайск. Гос. Аграрн. Универ.** - **2022.** - № 7(213). - с. 61-66; **Ветерин. Кубани.** - **2022.** - № 6. - С. 11-13).

Назначение ведущей организации обосновано широкой известностью ее достижений в области исследований бактериофагов, проблем резистентности микроорганизмов к антимикробным препаратам и инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, и наличием публикаций в сфере исследований, соответствующей докторской диссертации Бочкаревой С.С. (**Russ. J. Inf. Immun.** - **2018.** - Vol. 8. - No 4. - P. 772; **Front. Microbiol.** - **2019.** - Vol. 10. - No MAR; **Клин. Лаб. Диагн.** - **2019.** - Т. 64. - № 10. - С. 620-626;

Пробл. Мед. Микол. – 2020. – Т. 22. – № 3. – С. 101; 2021. – Т. 23. – № 2. – С. 131; 2022. – Т. 24. – № 2. – С. 134; 2022. – Т. 24. – № 2. – С. 141; **Клин. Микробиол. Антимикроб. Химиотер.** – 2020. – Т. 22. – № 4. – С. 314-320; **Вест. Росс. ВМА.** – 2020. – № 1(69). – С. 7-11; **Инф. Имму.** – 2021. – Т. 11. – № 5. – С. 965-972; **Врач.** – 2022. – Т. 33. – № 2. – С. 21-26), а также наличием специалистов – экспертов в данной области исследований.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработаны технологические решения, позволяющие существенно повысить эффективность фаготерапии и фагопрофилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи; разработан алгоритм персонализированной фаготерапии (Пат. РФ №2664681 «Способ лечения инфекции, связанной с оказанием медицинской помощи, вызванной возбудителем или возбудителями с МЛУ»), состоящий из следующих этапов: выделение штаммов возбудителей от пациента; подбор из банка бактериофагов, лизирующих данные штаммы инфекционного агента; оценка антифагового иммунитета к выбранным фагам; определение титра бактериофага в лекарственной форме и способа введения препарата, обеспечивающих множественность инфицирования в очаге инфекции от 0,01 до 1; производство партии лекарственной формы бактериофага для конкретного пациента; оценка качества полученной серии препарата и передача ее в лечебное учреждение; контроль эффективности проводимой фаготерапии; в случае отсутствия эффективности - повторный подбор бактериофагов;

предложена гипотеза о том, что повторные курсы фаготерапии влияют на гуморальный иммунитет пациентов: после первого курса фаготерапии в крови пациентов, как правило, обнаруживаются нейтрализующие антифаговые антитела в титре 1:16-1:32, зависящем от вида применяемого фага (исключение составляла терапия бактериофагами *Klebsiella pneumoniae*, при которой антитела вырабатывались в единичных случаях и не обладали нейтрализующей активностью); при повторных курсах фаготерапии тем же штаммом бактериофага титр возрастал до значений 1:64-1:1024, что приводило к

снижению эффективности лечения и являлось основанием для смены штаммового состава препарата;

доказано, что повторные курсы фаготерапии оказывают стимулирующее воздействие на клеточный иммунитет пациентов, которое может быть расценено как нормализация, возвращение к уровню его активности у здоровых людей: после первичного курса фаготерапии не было выявлено специфической активации Т-лимфоцитов, при повторных курсах наблюдали повышение уровня активированных Т-лимфоцитов со 2-ой недели терапии и увеличение специфической продукции ИНФγ; обнаружено дозозависимое влияние бактериофагов на лимфоциты; на фоне фаготерапии происходила неспецифическая стимуляция продукции провоспалительных цитокинов ФНОα, ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, при отсутствии изменений в продукции противовоспалительного цитокина ИЛ-10;

введены Методические рекомендации «Персонализированная фаготерапия пациентов, страдающих инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи (ИСМП)» - Москва: Династия, 2020. - 31 с.; 21 см. - Библиогр.: с. 28-31 (53 назв.). - 570 экз. - ISBN 978-5-98125-118-4;

Теоретическая значимость исследования подтверждается тем, что:

доказана обоснованность концепции индивидуализированного подбора бактериофагов для эффективной терапии постоянно рецидивирующих, вызванных условно-патогенными микроорганизмами, инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, особенно вызванных возбудителями, обладающими множественной лекарственной устойчивостью, с учетом многофакторных аспектов взаимодействия фагов как с бактериями-мишенями, так и с макроорганизмом;

применительно к проблематике диссертации с получением обладающих новизной результатов использован комплекс методов исследования: бактериологических (выделение бактериофагов из клинического материала, оценка спектра литической активности бактериофагов методом Аппельмана и методом Грациа, выявление лизогенных штаммов бактерий,

определение частоты возникновения фагорезистентных бактериальных мутантов, определение устойчивости фагов к повреждающим факторам внешней среды, определение параметров инфекционного процесса в системе фаг-клетка и др.), иммунохимических (получение кроличьих поликлональных моноспецифических антисывороток к используемым бактериофагам, иммуноэлектрофорез, иммуноферментный анализ и др.), молекулярно-генетических (методы выделения и рестрикционного анализа ДНК бактериофагов, секвенирование ДНК бактериофагов, метод двойной вложенной полимеразной цепной реакции double-nested PCR и др.) и биотехнологических (методы контроля качества лекарственных препаратов бактериофагов, методы определения стабильности лекарственных форм и др.)

изложены данные доклинических испытаний безопасности коктейлей бактериофагов, которые показали, что бактериофаги не оказывают острого и хронического общетоксического действия на лабораторных мышей; фармакокинетические исследования (на примере бактериофага KPV15) продемонстрировали, что после внутрибрюшинного введения бактериофаговые частицы быстро проникают в кровь и внутренние органы животных, элиминация бактериофага происходит через 9 ч; на примере летальной клебсиеллезной инфекции у белых беспородных мышей продемонстрирована высокая терапевтическая и профилактическая эффективность препарата: при лечении высокий терапевтический эффект (100 % выживших животных) наблюдался при раннем (не позднее 6 ч после заражения) начале лечения, более позднее (через 12-24 ч после заражения) начало фаготерапии обеспечивало выживание 20-70 % животных; профилактическое применение препарата бактериофага (однократное внутрибрюшинное его введение за 1-24 ч до заражения) обеспечивало выживание 90-100 % инфицированных животных, при этом у 67-100 % выживших мышей происходила полная санация организма от возбудителя;

изучена эффективность разработанного алгоритма подбора бактериофагов для лечения инфекций, связанных с оказанием медицинской

помощи, показана высокая микробиологическая (89 %) и лечебная (снижение риска летального исхода в 1,5 раза) эффективность у пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии, за счет повышения точности определения чувствительности выделенных от пациентов бактерий-мишеней к штаммам бактериофагов двухэтапным тестированием (спот-тест и модифицированный метод Грация), правильного подбора индивидуальных доз бактериофагов с учетом множественности инфицирования и эффективного соотношения количества бактериофагов к титру бактерий, высеваемых из очага инфекции, определения способа введения и вида лекарственной формы, в зависимости от фармакокинетики бактериофагов и локализации очага воспаления;

раскрыта причина неэффективности фаготерапии при повторных курсах, связанная с выработкой специфических антител у пациентов;

проведена модернизация методик контроля качества лекарственных форм коктейлей бактериофагов, в соответствии с требованиями действующей Государственной Фармакопеей Российской Федерации XIV издания (Москва, 2018 г.);

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

разработаны и внедрены: Лабораторные регламенты: «Раствор для приема внутрь и местного применения с коктейлем бактериофагов» и «Раствор для инъекций с коктейлем бактериофагов», описывающие технологию производства препаратов, содержащих различные варианты коктейлей бактериофагов, которые были апробированы в АО «Биннофарм» при выпуске валидационных серий, что подтверждено соответствием показателей качества произведенных готовых лекарственных форм нормативной документации, а также сохранностью их физико-химических и биологических свойств в течение двухлетнего периода изучения их стабильности (Акт о внедрении ООО «Биннофарм Групп» от 27.06.2022 г.) - федеральный уровень внедрения;

штаммы вирулентных бактериофагов SCH1 (*Staphylococcus aureus*), SCH111 (*S. aureus*), KPV15 (*Klebsiella pneumoniae*), KPV811 (*K. pneumoniae*),

PA5 (*Pseudomonas aeruginosa*) PA10 (*P. aeruginosa*) и AM24 (*Acinetobacter baumannii*), депонированные в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболенск» под номерами Ph-105, Ph-95, Ph-90, Ph-91, Ph-88 и Ph-89, соответственно, а также их геномные последовательности (GenBank KY000084.1, KY000085.1, KY000080.1, KY000081.1, KY000082.1, KY000083.1 и KY000079.1, соответственно), являющиеся интеллектуальной собственностью диссертанта (**Пат. RU2628312** «Композиция антибактериальная для профилактики или лечения госпитальных инфекций (варианты), штаммы бактериофагов, используемые для получения такой композиции». Патентообладатель Бочкарева С.С. - №РД0404577; заявл. 03.08.2022; опубл. 03.08.2022; Бюлл. № 22.) - федеральный уровень внедрения;

определена область использования полученных данных клинической апробации алгоритма подбора бактериофагов для персонализированной терапии: профилактика и лечение инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи;

созданы иммуноферментные тест-системы для оценки наличия в сыворотке крови IgG-антител к бактериофагам KpV15, KpV811, PA5, PA10, AM24, AP22, SCH1 и SCH111, апробированные в ходе проведенных исследований по изучению гуморального ответа на фаготерапию, внедренные в работу Научно-методического центра по изучению и идентификации бактериофагов Роспотребнадзора при ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского (Акт о внедрении от 05.12.2022) - учрежденческий уровень внедрения;

представлены данные о внедрении результатов исследования в учебный процесс на кафедре клинической микробиологии и фаготерапии факультета дополнительного профессионального образования Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава РФ (Акт о внедрении от 27.06.2022 г.), а также в клиническую работу Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский

центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко» Минздрава РФ (Акты о внедрении от 16.05.2022 г.) - межведомственный уровень внедрения.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

степень достоверности результатов исследований подтверждается значительным объемом проанализированных литературных данных и фактического материала, полученного с использованием современных методов исследования на метрологически поверенном оборудовании с последующей статистической обработкой; основные положения, изложенные в диссертационной работе, опубликованы в рецензируемых отечественных и зарубежных журналах и прошли экспертную оценку;

идея диссертационного исследования базируется на анализе имеющихся в литературе данных по вопросам изучения бактериофагов, фаготерапии и исследовании влияния фаготерапии на иммунитет;

установлено соответствие полученных автором результатов с опубликованными ранее в научной литературе данными других авторов;

использованы современные методы получения и обработки информации.

Личный вклад соискателя состоит в участии во всех этапах выполнения диссертационного исследования. Непосредственно 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 (протокол инициативного научного исследования, индивидуальная регистрационная карта, информация для пациента и форма информированного согласия), утвержденная Межвузовским Комитетом по

этике от 14.06.2018 г. Автором лично проведены анализ полученных результатов с применением статистических методов исследования, подготовка основных публикаций и докладов по выполненной работе на научно-практических мероприятиях, разработка концепции персонализированной фаготерапии пациентов, страдающих инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи.

На заседании 24.03.2023 г. диссертационный совет принял решение присудить Бочкаревой Светлане Сергеевне ученую степень доктора биологических наук за решение проблемы повышения эффективности фаготерапии и фагопрофилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, разработку новых технологических решений и средств, а именно создание препаратов бактериофагов, значительно повышающих эффективность терапии инфекционных заболеваний.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 9 докторов наук по специальности 1.5.6. Биотехнология, участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 17 против 1, недействительных бюллетеней нет.

Председатель
диссертационного совета
академик РАН, д.м.н., профессор

 (Дятлов Иван Алексеевич)

Ученый секретарь
диссертационного совета
к.б.н.

 (Фурсова Надежда Константиновна)

Дата оформления Заключения – 24.03.2023 г.

Печать организации, на базе которой создан диссертационный совет.