

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального бюджетного учреждения
науки «Санкт-Петербургский научно-
исследовательский институт эпидемиологии и
микробиологии им. Пастера»

Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор

А.А. Тотолян

«21» февраля 2023 г.



ОТЗЫВ

ведущего учреждения — Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека» о научно-практической ценности диссертационной работы Бочкаревой Светланы Сергеевны на тему «Конструирование препаратов бактериофагов и клинико-иммунологические аспекты фаготерапии и фагопрофилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи» представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология к защите в диссертационный совет 64.1.002.01 при Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Актуальность темы выполненной работы

Диссертация Бочкаревой Светланы Сергеевны посвящена разработке рационального алгоритма подбора бактериофагов в составе «фагового коктейля» для эффективной фаготерапии и фагопрофилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП). Основные возбудители этих инфекций включены в список «приоритетных патогенов» ВОЗ, антибиотикорезистентность которых в настоящее время представляет угрозу для здоровья человека (2017 г.). В разных странах доля таких штаммов для некоторых видов патогенных бактерий достигает 90,0%. В современных условиях проблема лекарственной устойчивости микроорганизмов приобрела

глобальных характер. Резистентные к антибиотикам микроорганизмы являются причиной возникновения не только тяжелых форм внутрибольничных гнойно-септических инфекций, а также разнообразных инфекционных заболеваний, способных к широкому эпидемическому распространению, таких как туберкулеза, шигеллезы, сальмонеллезы и др. Нерациональная антибиотикотерапия увеличивает сроки пребывания пациентов в стационарах, приводит к серьезным осложнениям и летальным исходам, наносит существенный экономический ущерб.

В последние десятилетия во многих странах активно изучают аспекты клинического применения бактериофагов, как альтернативных антимикробным препаратам, разрабатывают эффективные стабильные лекарственные формы бактериофагов для терапии инфекционных заболеваний, в первую очередь вызванных возбудителями, характеризующимися множественной лекарственной устойчивостью, в том числе возбудителей ИСМП.

Персонализированный подход к терапии инфекционных заболеваний бактериофагами представляется наиболее перспективным. Разработка методологии персонализированной фаготерапии соответствует Стратегии предупреждения распространения резистентности к антимикробным препаратам в Российской Федерации на период до 2030 года.

Предложенная автором концепция персонализированного подхода к фаготерапии ИСМП, основными элементами которой являются: определение чувствительности штаммов «бактерий-мишеней» к фагам с подбором рабочего разведения (титра) препарата, оценка уровня нейтрализующих IgG-антител в сыворотке крови пациента к бактериофагам, входящим в состав коктейля, выбор фагов с учетом локализации инфекционного процесса и фармакокинетических свойств для терапии, обоснование пути введения и соответствующей лекарственной формы, а также учет формирования антифагового «штаммоспецифического» иммунного ответа, позволят рационально, научно обосновано применять бактериофаги для эффективной терапии пациентов, страдающих инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи, находящихся в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) после

проведения высокотехнологичных операций.

Тема диссертационной работы С.С. Бочкаревой, посвященной реализации системного подхода к разработке иммунологически обоснованного алгоритма эффективной фаготерапии, является актуальной задачей биотехнологии.

Связь новизны исследования с планами соответствующих отраслей науки

Диссертационная работа Бочкаревой С.С. выполнена в соответствии с планом НИР Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора «Конструирование препаратов бактериофагов и клинико-иммунологические аспекты фаготерапии и фагопрофилактики у больных, страдающих ИСМП» (Рег.№ АААА-А20-120-030-49-00-12-2), а также в соответствии со Стратегией предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года (Распоряжение Правительства Российской Федерации от 30 марта 2019 г. № 604-р, Москва) и Приказом №68 Федеральной Службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор) «О создании научно-методического центра по изучению и идентификации бактериофагов» на базе ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, утвержденного Руководителем Федеральной службы А.Ю. Поповой 08.02.2018.

Новизна исследований и полученных результатов работы заключается в том, что впервые получены индивидуальные фармакокинетические и иммунологические характеристики бактериофагов: КрV15, КрV811, РА5, РА10, АМ24, АР22, SCH1 и SCH111, депонированных в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск». Для бактериофагов были проведены молекулярно-генетические исследования с определением полной нуклеотидной последовательности геномов бактериофагов и последующим биоинформационным анализом. Были разработаны составы и технология получения универсальных лекарственных форм, для включения в состав коктейля бактериофагов. Проведены доклинические исследования по оценке острой и хронической токсичности раствора с коктейлем бактериофагов.

Изучена фармакокинетика бактериофагов, а также терапевтическая эффективность разработанных препаратов на примере клебсиеллезного бактериофага KpV15 (бактериофаг штаммов *Klebsiella spp.*).

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 %.

Таким образом, исследования С.С. Бочкаревой полностью соответствуют критериям новизны.

Достоверность и обоснованность научных положений и выводов

О достоверности результатов работы свидетельствует достаточный объем исследований с применением современных высокочувствительных и специфичных методик, средств математического моделирования, адекватных методов статистической обработки полученных данных.

Достоверность результатов исследований не вызывает сомнения. Работа основана на большом объеме материала: 1350 посевов проб патологического материала для выявления бактериальных возбудителей, 840 проведенных анализов по определению трудно культивируемых бактериальных микроорганизмов, 175 тестирований микроорганизмов, характеризующихся множественной лекарственной устойчивостью иммуноферментным методом для идентификации факторов, кодирующих резистентность, 250 иммуноферментных анализов для определения наличия антифаговых IgG-антител в сыворотках крови пациентов. Реакция нейтрализации проводилась 260 раз, определение клинических и биохимических показателей крови пациентов - 352 раза.

Статистический анализ данных, полученных в диссертационном исследовании, выполняли с использованием пакета прикладных программ «SAS»

(SAS Institute Inc., USA), который включал следующие элементы: построение гистограмм для визуальной оценки характера распределения; расчет средних значений и элементарная статистика для определения основных параметров распределений показателей и проверки их на соответствие нормальному закону распределения; расчет Т-критерия Стьюдента и непараметрических критериев для определения различий средних значений показателей в сравниваемых выборках.

Статистическая обработка результатов иммунологических исследований проведена с использованием программы Statistica 6 по непараметрическому U-критерию Манна-Уитни.

Результаты исследований и основные научные положения диссертации объективны, достоверны и обоснованы. Выводы и рекомендации вытекают из результатов исследований, соответствуют поставленным задачам и логически завершают диссертационную работу.

По теме диссертации автором опубликованы 45 научных работ, из них 22 - в рецензируемых журналах, монография (1 глава), методические указания (1), получен патент (1).

Материалы диссертации доложены и обсуждены на 5 международных и Всероссийских конференциях.

Оценка содержания диссертации и оформления диссертации

Содержание диссертации Бочкаревой Светланы Сергеевны на тему «Конструирование препаратов бактериофагов и клинико-иммунологические аспекты фаготерапии и фагопрофилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи». Диссертация состоит из введения, шести глав, выводов, списка литературы и приложений. Работа изложена на 350 страницах, содержит 69 таблиц и 71 рисунок. Библиография содержит 240 источников (51 отечественных и 189 иностранных).

Автореферат имеет традиционную структуру, отражает основные положения и содержание диссертационной работы, соответствует требованиям Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации и ГОСТ Р 7.0.11-2011 «Диссертация и автореферат

диссертации. Структура и оформления». Замечаний по оформлению автореферата нет.

Значимость результатов исследований, выводов и практических рекомендаций для науки и производства

Диссертационное исследование Бочкаревой С.С., несомненно, имеет большую практическую ценность. Разработан иммунологически-обоснованный алгоритм для проведения многократной эффективной фаготерапии, включающий индивидуальный подбор бактериофага для конкретного пациента в титре, обеспечивающий необходимую множественность инфицирования, учитывается гуморальный иммунный ответ пациента на проводимую фаготерапию, осуществляется подбор способа введения лекарственного средства.

На основании проведенных исследований разработаны и рекомендованы Департаментом здравоохранения города Москвы Методические рекомендации (№105) «Персонализированная фаготерапия пациентов, страдающих инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи (ИСМП)».

Получен патент РФ №2664681 «Способ лечения инфекции, связанной с оказанием медицинской помощи, вызванной возбудителем или возбудителями с МЛУ».

Научно-практические результаты исследования внедрены в учебный процесс на кафедре клинической микробиологии и фаготерапии факультета дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, а также в клиническую работу ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» Минздрава России. Лабораторные регламенты на производство лекарственных форм (раствора для приема внутрь и местного применения) с коктейлями бактериофагов апробированы в АО «Биннофарм».

Все вышеперечисленное, несомненно, подчеркивает практическую значимость работы.

Конкретные рекомендации ведущей организации по использованию результатов и выводов диссертации

Научные положения, выводы и практические рекомендации,

сформулированные в диссертации Бочкаревой С.С. могут быть использованы при разработке новых лечебно-профилактических препаратов бактериофагов.

Пациентам, находящимся в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), при выделении из проб биологического материала возбудителей, штаммы которых характеризуются фенотипами «множественной», «экстремальной» и «пан-резистентностью», необходимо при проведении фаготерапии использовать алгоритм персонализированного подбора бактериофагов.

В связи с формированием у пациентов штаммоспецифического иммунного ответа на бактериофаги рекомендовано перед повторными курсами фаготерапии определение уровня IgG-антител к использованным фагам с оценкой их нейтрализующей активности, что необходимо для поддержания высокой эффективности фаготерапии.

Заключение

Диссертационная работа Бочкаревой Светланы Сергеевны на тему: «Конструирование препаратов бактериофагов и клинико-иммунологические аспекты фаготерапии и фагопрофилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология, является научно-квалификационным трудом, результатом которого явилось решение актуальной проблемы, имеющей важное социально-экономическое значение – возможности проведения многократной фаготерапии у пациентов, страдающих инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи, без снижения ее эффективности при проведении повторных курсов.

По своей актуальности, новизне и практической значимости рассматриваемая диссертационная работа отвечает требованиям, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842, с изменениями, опубликованными в Постановлениях Правительства РФ от 24.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539,

предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук, а ее автор Бочкарева Светлана Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании Проблемной комиссии по микробиологии Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, протокол № 1 от 30.01.2023 г.

Отзыв составила
заведующая лабораторией кишечных инфекций
ФБУН «Санкт-Петербургский научно-
исследовательский институт эпидемиологии
и микробиологии им. Пастера»
Федеральной службы по надзору
в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека
доктор медицинских наук

Кафтырева Лидия Алексеевна

Подпись Кафтыревой Лидии Алексеевны заверяю
Ученый секретарь ФБУН «Санкт-Петербургский научно-
исследовательский институт эпидемиологии
и микробиологии им. Пастера»
к.м.н.



Галина Федоровна Трифонова

Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
197101, Санкт-Петербург, улица Мира, 14.
Тел.: 8(812)233-20-92, e-mail pasteur@pasteurorg.ru