

"УТВЕРЖДАЮ"

Проректор по научно-исследовательской
работе

ФГАОУ ВО Первый МГМУ

им. И. М. Сеченова Минздрава России

(Сеченовский Университет)

доктор медицинских наук,

профессор М.И. Секачева



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

**ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет
имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)**

Диссертация Лапенковой Марины Борисовны на тему «Новые перспективы применения микобактериофагов для диагностики и лечения туберкулезной инфекции» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология выполнена в лаборатории иммунологических исследований и молекулярной диагностики туберкулеза НИИ фтизиопульмонологии ПМГМУ им. И.М.Сеченова и лаборатории инфекционной иммунологии, патологии и биотехнологии ФГБУ НМИЦ ФПИ Министерства здравоохранения Российской Федерации. НИИ фтизиопульмонологии Первого МГМУ им.И.М.Сеченова с 01.01. 2018 г. является головным учреждением в составе НМИЦ фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний Минздрава России.

М.Б. Лапенкова в 2011 г. окончила Первый МГМУ им. И.М. Сеченова по специальности «медико-профилактическое дело».

В период подготовки диссертации Лапенкова М.Б. обучалась в очной аспирантуре с 2014 года.

В 2018 году окончила очную аспирантуру в ФГАОУ ВО Первый МГМУ им И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Диплом об окончании аспирантуры №107731 0164128 от 29.06.2018 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Научный руководитель: Владимирский Михаил Александрович - профессор, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией инфекционной иммунологии, патологии и биотехнологии ФГБУ НМИЦ ФПИ Министерства здравоохранения Российской Федерации.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Актуальность темы исследования определяется проблемой распространения лекарственно-устойчивых штаммов микобактерий туберкулеза (МБТ) и длительностью химиотерапевтических курсов лечения туберкулеза, что в свою очередь приводит к селекции лекарственно-устойчивых штаммов МБТ. Распространение таких штаммов приводит к низкой эффективности лечения больных и дальнейшему распространению туберкулеза с множественной и широкой лекарственной устойчивостью.

Своевременное и быстрое определение лекарственной чувствительности/устойчивости МБТ, выделяемых больными туберкулезом, и последующее назначение специфических препаратов, к которым имеется чувствительность МБТ, обеспечивает более высокую эффективность лечения, снижает развитие лекарственной устойчивости и повышает эффективность лечения. Перспектива применения литических микобактериофагов для инактивации МБТ при лечении больных туберкулезом представляет собой альтернативу традиционным методам лечения с целью сократить сроки лечения и распространение лекарственно-устойчивых штаммов МБТ. Необходимость ускорить определение чувствительности/устойчивости МБТ к широкому спектру противотуберкулезных препаратов и разработать экономически эффективный метод этого исследования на основе применения литических микобактериофагов в качестве оценки уровня метаболизма МБТ в жидкой питательной среде при воздействии антибактериальных препаратов также является актуальной задачей.

Научная новизна.

- Разработана модель и оригинальный метод получения культуры перевиваемых макрофагов с внутриклеточными фагоцитированными МБТ.
- Впервые антимиkobактериальная активность микобактериофагов изучена на модели туберкулезной гранулемы *in vitro*.
- Разработан метод получения препарата липосомального микобактериофага и продемонстрирована его существенно более высокая антимиkobактериальная эффективность, по сравнению препаратом микобактериофага, не включенного в липосомы.
- Продемонстрирована эффективность применения препарата микобактериофага для быстрого определения дормантности и реактивации МБТ.
- Оптимизирован метод ускоренного фенотипического определения лекарственной чувствительности клинических изолятов МБТ на основе применения литического микобактериофага D29.

Научно-практическая значимость работы заключена в разработке липосомальной формы литических микобактериофагов эффективно разрушающих внутриклеточные МБТ. В дальнейшем это позволит создать новый биопрепарат для лечения туберкулезных больных. В связи с высокой стоимостью импортной технологии – системы Bactec для ускоренного определения лекарственной чувствительности/устойчивости МБТ в клинических материалах, разработка экономически эффективного и более ускоренного отечественного набора реагентов на основе применения микобактериофагов также имеет важное научно-практическое значение.

Личное участие автора в получении научных результатов, изложенных в диссертации.

Лично Лапенковой Мариной Борисовной оптимизирована модель внутриклеточного культивирования МБТ с использованием перевиваемой линии мышиных макрофагов RAW 264-7 и модель туберкулезной гранулемы мононуклеаров человека *in vitro*. Автор принимала непосредственное участие в наработке микобактериофага и включения его в липосомы. Проанализированы результаты исследования липосомального препарата литического микобактериофага и микобактериофага не включенного в липосомы для лизиса внутриклеточных МБТ на модели перевиваемой макрофагов RAW 264-7, а также на модели туберкулезной гранулемы мононуклеаров человека *in vitro*. Лапенкова М.Б. проводила сравнительные исследования лекарственной чувствительности/устойчивости клинических изолятов МБТ в системе MGIT Bactec и разрабатываемой технологии на основе применения микобактериофага. Принимала активное участие в разработке метода быстрого определения дормантности МБТ с помощью анализа ДНК литического микобактериофага D29.

Степень обоснованности научных положений, выводов, рекомендаций.

Автором отработаны модели для исследования антимикубактериальной активности липосомального препарата литического микобактериофага D29 в отношении внутриклеточно культивируемых МБТ с использованием перевиваемых макрофагов RAW 264-7 и туберкулезной гранулемой *in vitro*, образуемой мононуклеарами крови человека в присутствии МБТ. При использовании этих моделей туберкулезной инфекции *in vitro* продемонстрирована высокая антимикубактериальная активность липосомального препарата микобактериофагов. Количественное определение ДНК микобактериофагов в культурах не растущих (дормантных) или реактивированных культур МБТ позволило очень быстро оценить фазы активности МБТ в экспериментальных условиях, что обеспечивает возможность определения дормантности – персистенции МБТ при действии стандартных схем антибактериальной терапии туберкулеза. Результаты сравнительных исследований

модификации разрабатываемого метода определения лекарственной чувствительности клинических штаммов МБТ к широкому спектру противотуберкулезных препаратов на основе литического микобактериофага D29 и традиционных исследований в системе Vactec подтвердили достоверность получаемых результатов при использовании технологии с применением микобактериофагов. Все выводы и практические рекомендации автора диссертации основаны на результате проведенных лабораторных исследований в условиях *in vitro*.

Результаты исследования научно обоснованы.

Проверена первичная документация (лабораторный журнал, файлы данных с амплификаторов ПЦР-РВ).

Внедрение результатов диссертации в практику

Результаты исследований используются в работе лаборатории инфекционной иммунологии, патологии и биотехнологии ФГБУ НМИЦ ФПИ Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Полнота опубликования в печати

Основное содержание диссертационного исследования достаточно полно отражено в 3 научных трудах соискателя, в том числе: 2 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, 1 статья в SCOPUS и 1 патент на изобретение, решение о выдаче которого принято Роспатентом.

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Туберкулез в XXI веке: новые задачи и современные решения», 1-2 июня 2016 г. На 37-м ежегодном конгрессе Европейского Общества микобактериологов, Катания, Сицилия (Италия), 3-6 июля 2016г. М.Б. Лапенкова заняла 2 место на конкурсе научно-исследовательских, прикладных и организационных проектов молодых ученых, практиков и студентов «Туберкулез-минус: молодёжные инновации XXI века» (25 ноября 2016г.).

Первичная документация проверена и соответствует материалам, включенным в диссертацию.

Заключение

Диссертационная работа Лапенковой М.Б. на тему «Новые перспективы применения микобактериофагов для диагностики и лечения туберкулезной инфекции» по специальности 03.02.03 - микробиология является законченной научно-квалификационной работой и полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Диссертация соответствует требованиям п. 14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

Диссертация Лапенковой Марины Борисовны на тему «Новые перспективы применения микобактериофагов для диагностики и лечения туберкулезной инфекции» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук в диссертационном совете по специальности 03.02.03 - микробиология.

Заключение принято на совместном заседании кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и лаборатории инфекционной иммунологии, патологии и биотехнологии ФГБУ НМИЦ ФПИ Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Присутствовало на заседании 25 человека.

Результаты голосования: «за» - 25 чел., «против» - нет, «воздержалось» - нет, протокол № 11 от «17» мая 2019 г.

*Председатель д.б.н., академик РАН, профессор,
заведующий кафедрой микробиологии,
вирусологии и иммунологии
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова
Минздрава России (Сеченовский Университет)*



(Зяерев В.В.)

Подпись

Начальник отдела
Ученого совета

28 / *06* / *19* г.