

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН НИИ  
эпидемиологии и микробиологии  
им Пастера

Академик РАН, профессор

 А.А. Тотолян

« 22 » 07 2020 г.



### ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

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 на диссертационную работу Лапенковой Марины Борисовны «Новые перспективы применения микобактериофагов для диагностики и лечения туберкулёзной инфекции», представленную к защите в Диссертационном Совете Д 208.040.08 при Федеральном государственном автономном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

#### Актуальность темы выполненной работы

Проблема распространения устойчивости возбудителей инфекционных заболеваний к известным антибиотикам, как и быстрое развитие устойчивости к новым антибиотикам является одной из глобальных проблем здравоохранения. В связи с этим, активно обсуждается перспектива замены антибиотиков бактериофагами.

Лекарственная устойчивость микобактерий туберкулеза (МБТ), выделяемых больными туберкулезом также является важной и острой проблемой в борьбе с туберкулезом. Снижение заболеваемости туберкулезом в последние годы сопровождается увеличением доли больных туберкулезом

с множественной и широкой лекарственной устойчивостью. Растет также устойчивость микобактерий туберкулеза и к препаратам группы фторхинолонов, широко используемым не только для лечения туберкулеза, но также в клинической практике при лечении других различных инфекций.

В связи с проблемами распространения лекарственно-устойчивых штаммов микроорганизмов Министерством здравоохранения России разрабатывается широкая программа преодоления лекарственной устойчивости путем развития более обоснованных принципов назначения антибиотиков.

Очевидно, что тема диссертационного исследования М.Б. Лапенковой, посвященная различным перспективным аспектам применения микобактериофагов для лечения туберкулезной инфекции и разработки новых методов ускоренного определения лекарственной чувствительности/устойчивости клинических изолятов является очень актуальной.

### **Научная новизна исследования и полученных результатов**

Научная новизна исследования состоит в разработке нового биологического продукта: липосомального препарата литического микобактериофага, а также в разработке двух клеточных моделей туберкулезной инфекции с внутриклеточной инфекцией МБТ и демонстрации антимикобактериальной эффективности литических микобактериофагов как в свободной, так и в липосомальной форме. При этом, впервые показана преимущественная антимикобактериальная активность липосомального препарата микобактериофага, по сравнению с микобактериофагом в свободной форме. Научной новизной обладает также предложенный диссертантом метод ускоренного определения лекарственной чувствительности МБТ в клинических изолятах с помощью применения литических микобактериофагов, совмещенный с использованием системы

MGIT Bactec. Впервые автором была показана возможность использования литического микобактериофага D29 для анализа метаболизма МБТ в дормантных и реактивированных культурах.

### **Значимость для науки и практической деятельности полученных автором результатов**

Значимость для науки и практической деятельности полученных диссертантом результатов состоит в разработке принципиально нового перспективного подхода к использованию литического микобактериофага в липосомальной форме в лечении туберкулеза, в том числе лекарственно-устойчивых форм туберкулеза. Продемонстрированная на клеточных моделях эукариотов, инфицированных микобактериями, эффективность липосомальной формы литического микобактериофага может стать прообразом нового биотерапевтического препарата для лечения туберкулеза, в том числе при наличии множественной лекарственной устойчивости.

Исследования, направленные на разработку усовершенствованной технологии ускоренного определения лекарственной чувствительности/устойчивости МБТ в клинических изолятах также может иметь важное значение для практического применения, в том числе, в связи с возможностью импортозамещения и создания экономичного отечественного набора реагентов, что позволит сократить расходы и уменьшить зависимость практических микробиологических лабораторий от поставок дорогостоящей импортной системы Bactec.

Продемонстрированная автором возможность анализа метаболизма МБТ с помощью микобактериофагов открывает новые возможности исследования некультивируемых изолятов МБТ, их реактивации с последующим фенотипическим определением лекарственной чувствительности, что также может повысить эффективность клинических микробиологических исследований.

### **Личный вклад автора**

Личный вклад автора заключается в определении темы и разработке плана диссертационной работы, ее основных положений, а также цели и задач исследования, анализе зарубежной и отечественной литературы. Отработка методов исследования, методов размножения фага, выделения мононуклеарных клеток, выделения ДНК, проведение ПЦР-РВ, обобщение полученных результатов, а также статистическая обработка данных проводились лично диссертантом. Автор лично участвовала в подготовке публикаций по материалам работы.

### **Рекомендации по использованию результатов и выводов, представленных в диссертации**

Разработанная технология ускоренного фенотипического определения лекарственной чувствительности клинических изолятов МБТ, используемая в диссертационной работе, может быть внедрена в практику фтизиатрических учреждений, что сократит время проведения исследований и повысит эффективность противотуберкулезных мероприятий. Разумеется, для этого потребуется подготовка необходимых документов и инструкций по применению и изготовлению набора реагентов и проведения соответствующих клинических испытаний.

### **Публикации**

Основные положения диссертации отражены в 5 печатных работах, включая 2 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, 1 статья в базе данных SCOPUS и 1 патент на изобретение № 2691439 от 16.08.2018.

## **Объем и структура диссертации**

Диссертационная работа Лапенковой Марины Борисовны изложена на 108 страницах, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждения, общего заключения, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 109 источников, в том числе 7 отечественных и 102 зарубежных. Диссертация содержит 14 таблиц, 20 рисунков.

Работа написана хорошим литературным языком. Достоверность результатов подтверждается достаточным количеством исследуемых проб и проведенных экспериментов. В работе были использованы современные и необходимые для решения поставленных задач методы исследования. Автором был обработан большой объем литературы по теме диссертационной работы, что позволяет говорить об актуальности работы.

Выводы и практические рекомендации диссертационной работы четко сформулированы, объективны, научно обоснованы, вытекают из содержания исследования и полностью соответствуют поставленным цели и задачам.

Содержание автореферата соответствует основным положениям, изложенным в работе.

Содержание диссертационной работы Лапенковой Марины Борисовны, представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, полностью соответствует специальности 03.02.03 - микробиология.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертация Лапенковой Марины Борисовны является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена актуальная задача в области микробиологии – в экспериментальных исследованиях в клеточных системах эукариотов *in vitro*, в том числе на модели туберкулезной гранулемы, формируемой мононуклеарами крови человека, продемонстрирована эффективность нового

направления для решения актуальной проблемы преодоления лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза (МБТ) на основе применения литических микобактериофагов для инактивации лекарственно-устойчивых штаммов. В рамках исследования продемонстрирована перспектива применения литических микобактериофагов для их лечебного применения, применения микобактериофагов для разработки нового набора реагентов для ускоренного определения лекарственной чувствительности МБТ в клинических изолятах.

По своей актуальности, объему выполненных исследований, научной новизне, теоретической и практической ценности, значимости полученных данных, обоснованности выводов представленная работа соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013г. №842 (с изменениями в соответствии с Постановлением Правительства РФ от 21.04.2016г. №335, от 01.10.2018 №1168 «о внесении изменений в Положение о присуждении степеней»), а ее автор, М.Б. Лапенкова, достойна присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Диссертация и отзыв ведущей организации обсуждены и одобрены на заседании Проблемной комиссии по микробиологии, протокол заседания № 1 от 21.01.2020 г.

Мокроусов Игорь Владиславович

Доктор биологических наук  
(специальность «микробиология» 03.02.03)  
Заведующий лабораторией молекулярной  
эпидемиологии и эволюционной генетики  
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера

*Подпись доктора биологических наук И.В. Мокроусова заверяю:  
ученый секретарь, к.м.н. Г.Ф. Трифонова*

