

ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертацию
на соискание ученой степени кандидата биологических наук
Зурабова Федора Михайловича
на тему: «Исследование и оценка терапевтического потенциала
комбинации бактериофагов *Klebsiella pneumoniae*»
по специальности 1.5.10. Вирусология**

Работа Зурабова Федора Михайловича посвящена важнейшей проблеме современной медицины- поиску новых способов лечения инфекций, вызванных полирезистентными бактериями, в том числе продуцирующими ферменты карбапенемазы. Проблема устойчивости бактерий к существующим антибиотикам не нова. Впервые она была описана еще в 1940 году А. Флемингом еще до массового применения этих высокоэффективных препаратов. За прошедшие 80 лет ситуация с резистентностью госпитальных штаммов драматически ухудшилась и в настоящий момент мы вынуждены признать, что в ближайшие 5-7 лет нет надежды на появление надежного универсального антибактериального препарата, решающего существующие проблемы. Кроме того, вынужденное применение антибиотиков в клинической практике всегда сопровождается, помимо увеличения доли резистентных штаммов, рядом негативных эффектов на организм пациента.

Потенциально многообещающими альтернативами применению антибиотиков могут являться лечение и профилактика нозокомиальных инфекций путем воздействия на сигнальные молекулы самих бактерий, блокирование системы секреции III порядка, ну, и конечно применение бактериофагов. Эта тема стала разрабатываться гораздо раньше появления антибиотиков, но в силу разных причин не нашла должного развития. Традиционно бактериофаги использовали для лечения хронических

инфекций, вызванных так называемыми «дикими» штаммами. Однако, осознавая новые угрозы в последние годы все больше разработчиков и исследователей обратили свое внимание на создание и применение бактериофагов, активных в том числе против антибиотикорезистентных штаммов. Выбор *Klebsiella pneumoniae*, как мишени в исследовании не случаен, поскольку этот микроорганизм в настоящее время является доминирующим в структуре нозокомиальных инфекций и обладает множественной резистентностью к антибиотикам. Таким образом, теоретическая и практическая актуальность и значимость работы Зурабова Ф. М. не вызывает сомнений.

Материал диссертационного исследования написан в классическом стиле, состоит из введения, трех разделов (Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты и обсуждение), заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 169 страницах. Содержит 18 таблиц и 19 рисунков. Список цитируемой литературы включает 265 источников.

Во введении изложены актуальность темы исследования и степень ее разработанности, цель и задачи исследования, научная новизна исследования, теоретическая и практическая значимость работы, личный вклад автора, методы и методология научного исследования, положения, выносимые на защиту, степень достоверности и результаты апробации работы.

Обзор литературы включает Общую информацию о бактериофагах. Исчерпывающе представлены данные по таксономии, жизненным циклам, спектру хозяев бактериофагов, особое внимание уделено механизмам взаимодействия бактериофага и микроорганизма, преодолению клеточных барьеров. Подробно описана экология бактериофагов, их роль в микробиоме человека. Отдельный раздел во введении посвящен фаготерапии, в котором подробно описаны этапы этой технологии от истории применения до проблем

производства и лицензирования препаратов бактериофагов в клинической практике, в частности, при инфекциях, вызванных *K. Pneumoniae*.

В Главе «Материалы и методы» подробно описаны коммерческие наборы, питательные среды, реактивы, использованные при проведении работы. Бактериальные штаммы были получены из ряда клинических стационаров России, что было крайне значимо для получения актуальных и адекватных результатов исследования. Несомненным преимуществом этой работе является детальное описание техники и технологий получения исследуемых бактериофагов, их всесторонней оценки, включающей самые современные методы исследований. Кроме лабораторной части, в главе подробно представлен дизайн клинической части исследования, полностью соответствующей принципам GCP.

В целом, впечатляет широкий диапазон использованных в исследовании методов классической вирусологии, иммунологии и молекулярной биологии и клинической медицины. Все полученные результаты подвергались всестороннему статистическому анализу. Объем и масштаб выполненной Зурабовым Ф. М. работы, по моему мнению, выходит за пределы обычной кандидатской диссертации, поскольку включает практически два полноценных исследования: лабораторно- экспериментальное и клиническое.

В главе «Результаты и обсуждение» автор детально описывает проведенную исследовательскую работу. Эта глава условно может быть разделена на два раздела: первый посвящен изучению новых выделенных бактериофагов (vB_KpnS_FZ10, vB_KpnS_FZ41, vB_KpnP_FZ12 и vB_KpnM_FZ14). Исследованы их морфологические характеристики, температурная стабильность, устойчивость к различным значениям pH среды и литические свойства на клинических изолятах *Klebsiella pneumoniae*, в том числе на штаммах, обладающих множественной лекарственной устойчивостью. В результате исследований было доказано, что фаги оказались

устойчивы в широких диапазонах температур и pH и это свидетельствует о высокой стабильности всех изученных бактериофагов и предполагает возможность поддержания титра в условиях хранения и терапевтического использования. Полученные титры при выращивании фагов в жидкой питательной среде позволяют сделать вывод, что исследованные значения константы адсорбции, латентного периода и выхода фага обеспечивают эффективное ингибирование роста культуры *K. pneumoniae* и свидетельствуют о достаточной продуктивности вирусов для получения высоких концентраций в конечном препарате. Показана способность комбинации бактериофагов, эффективно разрушать биопленки клинических штаммов *K. Pneumoniae*, что является важной для клинического использования характеристикой. Надо отметить, что в процессе выполнения исследовательской работы автору удалось разработать новый метод визуализации лизиса бактериальной культуры бактериофагами в режиме реального времени с помощью голографического микроскопа 3D Cell Explorer.

Вторая часть главы описывает результаты клинической составляющей работы, которая была выполнена у наиболее проблемной категории пациентов- хронических критических больных. В результате работы было достоверно показано клиническое преимущество применения изучаемых бактериофагов в составе комплексной терапии инфекционных осложнений у реанимационных хронических критических пациентов. Проведена оценка эффективности применения коктейля бактериофагов при разных путях введения (ингаляционного, внутриполостного, энтерального). При всех способах введения был получен убедительный положительный клинический ответ. Кроме того, в группе комбинированного применения антибиотиков и бактериофагов отметили снижение выраженности повреждения легких при нозокомиальной пневмонии, что отражает эффективность данной лекарственной комбинации.

Кроме того, выявлена и доказана реабилитационно- профилактическая роль применения бактериофагов на популяции пациентов, перенесших COVID-19. Полученные результаты обосновывают перспективность дальнейшего применения комбинации исследованных бактериофагов для фаготерапии в составе комплексного лечебно- профилактического фагового препарата.

При ознакомлении с рукописью возник вопрос о влиянии применения комбинации исследуемых бактериофагов на элиминацию «основных полирезистентных грамотрицательных бактерий» по данным микробиологического мониторинга (стр 123 рукописи). Полученный результат следует описать, либо объяснить более детально. И, закономерно, возникает вопрос о направлении дальнейших исследований в этой важной для клинической медицины области.

Оценивая диссертацию в целом, следует отметить значительный объем проведенной экспериментальной работы, разнообразие использованных методов, актуальность и потенциальную практическую ценность полученных автором результатов. Выводы, сделанные в диссертации, базируются на результатах работы, обоснованы и полностью соответствуют цели исследования и поставленным задачам. Автореферат полностью отражает содержание диссертационной работы.

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.10. Вирусология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова. Оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени

доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Зурабов Федор Михайлович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

Официальный оппонент:

Кандидат медицинских наук, доцент,

Ведущий научный сотрудник

ФГБУ «Научно- исследовательский институт

скорой помощи им. Н. В. Склифосовского ДЗМ»

Кулабухов Владимир Витальевич

11.03.2024

Контактные данные:

тел.: 7(925)5068081, e-mail: vkulabukhov@gmail.com

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

14.00.37 – Анестезиология и реаниматология

Подпись сотрудника ФГБУ

«НИИ СП им. Н. В. Склифосовского ДЗМ»

Кулабухова В. В. удостоверяю:

Ученый секретарь ФГБУ

«НИИ СП им. Н. В. Склифосовского ДЗМ»

15.03.2024

Адрес места работы: 129090, г. Москва, Бол. Сухаревская пл., д. 3,
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-
исследовательский институт скорой помощи им. Н. В. Склифосовского ДЗМ»
Тел.: +7 (495) 280-15-61; e-mail: sklif@zdrav.mos.ru

