

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Вязовой Анны Александровны на тему: «Генетическая структура популяции и множественная лекарственная устойчивость *Mycobacterium tuberculosis*», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология

### Актуальность исследования

Достижению амбициозной глобальной цели ВОЗ по ликвидации туберкулеза (ТБ) к 2030 году препятствует циркуляция штаммов возбудителя с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), определяемой как одновременная устойчивость к рифампицину и изониазиду независимо от устойчивости к другим противотуберкулезным препаратам. Передача таких штаммов здоровым людям способствует росту числа новых случаев туберкулеза с так называемой первичной МЛУ возбудителя (устойчивость, которую проявляют штаммы *M. tuberculosis* больных ТБ, ранее не получавших противотуберкулезные препараты (ПТП) или леченных менее одного месяца). Поэтому показатель первичной МЛУ *M. tuberculosis* отражает не только ситуацию с выявлением и лечением МЛУ-ТБ, но и степень изоляции бактериовыделителей и санитарно-гигиенические аспекты профилактической работы, т.е. позволяет оценить степень напряженности эпидемической ситуации по туберкулезу.

В России в последнее десятилетие МЛУ-ТБ диагностируют более, чем у трети впервые выявленных больных туберкулезом, в том числе с положительным ВИЧ-статусом. Опыт применения для лечения МЛУ-ТБ нового в целом эффективного перорального противотуберкулезного препарата бедаквилина высветил новые проблемы, связанные с формированием устойчивости к нему у МЛУ-штаммов возбудителя различных генотипов. Понимание генетической изменчивости *M. tuberculosis* важно для контроля туберкулеза и разработки эффективных методов диагностики и лечения, поскольку некоторые генотипы возбудителя ассоциированы с МЛУ к противотуберкулезным препаратам и тяжестью течения болезни. Особый

интерес вызывают имеющие высокую распространенность в российской популяции *M. tuberculosis* штаммы Beijing, относящиеся к эпидемиологически и клинически значимому международному кластеру B0/W148; в последнее десятилетие активно продолжается процесс накопления данных о циркуляции на территории России штаммов *M. tuberculosis* различных генотипов и ассоциированном с ними спектре мутаций к основным ПТП. Однако молекулярно-генетические исследования *M. tuberculosis* до настоящего времени не регламентированы и осуществляются, как правило, с использованием доступных выборок штаммов и различных по дискриминирующей способности методов исследования, что затрудняет сравнение и интерпретацию результатов.

В связи с этим, диссертационная работа Вязовой А.А., имеющая целью изучение генетического разнообразия, мутаций устойчивости к противотуберкулезным препаратам и определения распространенности генотипов, ассоциированных с первичной множественной лекарственной устойчивостью штаммов в популяции *M. tuberculosis* на Северо-Западе России на основе единого комплекса молекулярно-генетических методов исследования, является несомненно своевременной и актуальной.

### **Научная новизна**

Научная новизна работы не вызывает сомнений. Результаты анализа данных впервые проведенного автором молекулярно-генетического мониторинга *M. tuberculosis* в Северо-Западном федеральном округе России свидетельствуют о неравномерности территориального распределении ассоциированных с МЛУ-генотипов возбудителя наряду с доминированием в популяции возбудителя представителей современной сублинии семейства Beijing, включая генотипы B0/W148 и Central Asian/Russian. Безусловно важным для эпидемиологии результатом исследования А.А. Вязовой является выявление ассоциированных с первичной МЛУ кластеров, таких как 1065-32 Central Asian/Russian, 1071-32 древней сублинии Beijing и SIT262/Ural. Впервые показана эффективность разработанных автором в ходе диссертационного исследования способов установления принадлежности штаммов доминирующего в популяции генотипа Beijing *M. tuberculosis* к кластеру Central

Asian/Russian (другое наименование – кластер 94-32) и его субтипу CAO, к современной или древней филогенетической сублинии, в т.ч. к кластеру 1071-32 на основе доступного метода ПЦР. Описаны и депонированы в международную базу данных SITVIT2 новые профили сполиготипирования *M. tuberculosis*, ранее неизвестные в России и за ее пределами. Получены новые данные о мутациях в генах *mmpR5* (Rv0678) и *atpE* (Rv1305), что несомненно расширяют наши знания о генетическом контроле устойчивости *M. tuberculosis* к бедаквилину.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Разработанные автором теоретические положения, расширяющие границы представлений о значении разнообразия и направлениях эволюции популяции *M. tuberculosis* в условиях широкого распространения МЛУ-ТБ, основаны на систематизации данных молекулярно-эпидемиологического мониторинга *M. tuberculosis*, проведенного с использованием единого комплекса молекулярно-генетических методов. Показана неравномерность распределения генотипов при наличии тенденции к увеличению доли эволюционно «успешного» генотипа Beijing в структуре гетерогенных территориальных популяций возбудителя на Северо-Западе России. Предложенный А.А. Вязовой алгоритм генотипирования штаммов *M. tuberculosis*, включающий разработанные способы быстрого выявления основных генотипов и кластеров современной и древней сублиний Beijing, может быть применим для слежения за циркуляцией штаммов определенных генотипов и характеристики динамики пространственно-временной структуры популяции *M. tuberculosis*. Разработанные электронные базы данных для накопления и сравнительного анализа информации о генотипах штаммов и депонирование сполиготипов в международную базу SITVIT2 позволяют проводить молекулярно-генетический мониторинг популяций *M. tuberculosis*. Полногеномные последовательности 43 серийных изолятов *M. tuberculosis* 11 больных МЛУ-ТБ, леченных бедаквилином, депонированы в международном банке данных GenBank. Сформирована коллекция ДНК штаммов, представляющих различные генетические семейства, линии/сублинии и

кластеры, для исследования геномики и протеомики *M. tuberculosis* и оценки эффективности новых противотуберкулезных соединений.

Результаты диссертационного исследования внедрены в практическую деятельность бактериологической лаборатории ФГБУ «Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии» Минздрава России и в образовательных учреждениях высшего медицинского образования - ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России, ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова, что подтверждено соответствующими актами внедрения.

### **Обоснованность и достоверность полученных результатов**

Достоверность полученных результатов диссертационной работы А.А. Вязовой подтверждается большим объёмом проведенных исследований, выбором четких критериев исследования, современной методологией, обработкой и систематизацией с помощью биоинформационных и статистических методов. Выполненная работа полностью отвечает поставленной цели и задачам исследования. Результаты работы широко апробированы на международных и всероссийских научных конференциях. Диссертантом опубликовано 59 печатных работ, из них 34 статьи в рецензируемых изданиях, 12 – тезисы в рецензируемых изданиях, 9 – тезисы в сборниках трудов и материалах конференций, 4 – патенты на изобретение. Получено два свидетельства о регистрации базы данных.

### **Оформление автореферата**

Автореферат диссертации написан и оформлен с соблюдением действующих требований и в полной мере отражает основные результаты исследования, детально иллюстрирован рисунками и таблицами. Выводы работы и основные положения, выносимые на защиту научно обоснованы, соответствуют поставленной цели и задачам.

Необходимо отметить, что диссертационное исследование Вязовой Анны Александровны характеризуется высоким методологическим уровнем, системным подходом к решению определенной диссертантом проблемы, высокой научной ценности и несомненной значимости ее результатов для биологии и медицины, в частности микробиологии. Результаты работы являются методологической основой дальнейших научных и практико-ориентированных исследований, в частности по оценке клинической значимости основных генотипов *M. tuberculosis* и кластеров современной и древней сублиний Beijing, практического применения технологий мониторинга распространения штаммов определенных генотипов с учетом их влияния на современный патоморфоз клинического течения туберкулезной инфекции.

### **Заключение**

Анализ автореферата позволяет заключить, что диссертационная работа Вязовой Анны Александровны на тему: «Генетическая структура популяции и множественная лекарственная устойчивость *Mycobacterium tuberculosis*», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.11 – микробиология, является законченным научным трудом, в котором содержится решение актуальной научной проблемы оценки генетического разнообразия и спектра мутаций устойчивости к противотуберкулезным препаратам, определения распространенности генотипов, ассоциированных с первичной множественной лекарственной устойчивостью штаммов в популяции *M. tuberculosis* на Северо-Западе России на основе единого комплекса молекулярно-генетических методов исследования. По своей актуальности, научной новизне и практической значимости полученных результатов диссертационная работа Вязовой Анны Александровны полностью отвечает требованиям пунктов 9 - 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в соответствии с Постановлениями Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 26.05.2020 № 751, от 20.03.2021 №

426, от 11.09.2021 № 1539, от 26.09.2022 № 1690, от 26.01.2023 № 101, от 18.03.2023 № 415 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук, а ее автор, Вязовая Анна Александровна, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Заведующий научно-исследовательским клиническим отделом Уральского НИИ фтизиопульмонологии – филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизио-пульмонологии и инфекционных заболеваний» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой фтизиатрии и пульмонологии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор,

главный внештатный специалист фтизиатр Минздрава России по Уральскому федеральному округу

Скорняков Сергей Николаевич

22.09.2023

620039, г. Екатеринбург, ул. 22 партсъезда, д. 50.

тел.: (343) 333-44-63, +79122800028; e-mail: [sns@urniif.ru](mailto:sns@urniif.ru)

Подпись Скорнякова С. Н. заверяю:

Начальник отдела кадров Уральского НИИ фтизиопульмонологии – филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизио-пульмонологии и инфекционных заболеваний» Министерства здравоохранения Российской Федерации



Каргаполова Татьяна Михайловна