

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д.208.046.01 НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «МОСКОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМ. Г.Н. ГАБРИЧЕВСКОГО» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 08 июня 2017 г. № 1.

О присуждении Дюжик Елене Сергеевне, гражданке Российской Федерации, учёной степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Оптимизация детекции чувствительности *Mycobacterium tuberculosis* к противотуберкулезным препаратам второго ряда (цикloserину и ПАСК)» по специальности 03.02.03 – микробиология принята к защите 30.03.2017 г. протокол № 1 диссертационным советом Д.208.046.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10). Диссертационный совет утверждён Приказом Министерства образования и науки РФ № 714/нк «О советах по защите докторских и кандидатских диссертаций» от 2 ноября 2012 г., приказ №1577/нк от 16.12.2016 г. част.изм.

Соискатель Дюжик Елена Сергеевна, 1973 года рождения. В 1999 году окончила Восточно-Казахстанский государственный университет по специальности гигиена и эпидемиология. Дюжик Е.С. в 2016 году закончила заочную аспирантуру при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза» по специальности микробиология 03.02.03. Работает в должности врача - бактериолога клинико-диагностической лаборатории Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Владимирской области «Центр специализированной фтизиопульмонологической помощи».

Диссертация выполнена в отделе микробиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза».

Научный руководитель – доктор биологических наук (14.03.09), профессор, Черноусова Лариса Николаевна, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», отдел микробиологии, заведующая отделом.

Официальные оппоненты: Леви Диана Тимофеевна - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, управление противобактериальных медицинских иммунобиологических препаратов, главный эксперт; Владимирский Михаил Александрович - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский

государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии, лаборатория иммунологических исследований и молекулярной диагностики туберкулеза, заведующий лабораторией – дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения» (г. Москва) в своем положительном заключении, подписанном Сафоновой Светланой Григорьевной, доктором биологических наук, отдел проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии, заведующая отделом указала, что диссертация является работой, в которой содержится решение актуальной научно-практической задачи по определению критических концентраций двух противотуберкулезных препаратов второго ряда при определении к ним лекарственной чувствительности *M. tuberculosis* в жидкой среде.

Соискатель имеет 9 опубликованных работ по теме диссертации, из них 4 работы опубликованы в рецензируемых научных изданиях, 1 – в другом издании, 4 – в материалах конференций, общим объёмом 30 страниц и авторским вкладом – 27 страниц. Наиболее значимые работы: 1) Дюжик, Е.С. Критическая концентрация циклосерина для теста лекарственной чувствительности *Mycobacterium tuberculosis* в жидкой среде на Bactec MGIT 960 / Е.С. Дюжик, Т.Г. Смирнова, И.В. Радюкина // Туберкулез и болезни легких. - 2015. - № 5. - С. 71-80. 2) Дюжик, Е.С. Лекарственная устойчивость штаммов *M.tuberculosis*, выделенных от больных туберкулезом легких во Владимирской области в 2013 году / Е.С. Дюжик, Н.В. Каунетис, Т.Г. Смирнова, Е.Е. Ларионова, Г.В. Волченков // Туберкулез и болезни легких. - 2015. - № 10. - С. 36-41. 3) Дюжик, Е.С. Определение критической концентрации препаратов второго ряда (циклосерина и ПАСК), для постановки теста лекарственной чувствительности в жидкой среде Middlebrook 7H9 / Е.С. Дюжик, Н.В. Каунетис, Т.Г. Смирнова, Е.Е. Ларионова, Г.В. Волченков, Л.Н. Черноусова // Туберкулез и болезни легких. - 2016. - №1. - С. 28-33.

На диссертацию и автореферат поступило 3 положительных отзыва без замечаний от: 1) д.б.н., Горста В.Р., профессора кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России; 2) д.м.н., Петренко Т.И., профессора кафедры туберкулеза ФПК и ППВ ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; 3) д.м.н., Морозовой Т.И., профессора, заведующей кафедрой фтизиатрии ФПК и ППС ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Минздрава России. В отзывах отмечено, что полученные автором результаты исследования существенно расширили и дополнили научные знания о спектре лекарственной чувствительности клинических штаммов *M.tuberculosis*, и показано, что большая часть резистентных штаммов остается чувствительной к циклосерину и ПАСК. В результате впервые проведенного масштабного исследования (230 клинических изолятов) автором определены критические концентрации двух противотуберкулезных препаратов второго ряда для определения лекарственной чувствительности *M.tuberculosis* в жидкой среде.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тематикой научных исследований, компетентностью в вопросах, рассмотренных в диссертации, большим опытом работы в области микробиологической диагностики туберкулеза.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований научно обоснованы и разработаны предложения по совершенствованию детекции чувствительности *M.tuberculosis*, а именно, определены критические концентрации двух противотуберкулезных препаратов второго ряда циклосерина и ПАСК для определения лекарственной чувствительности *M.tuberculosis* в жидкой среде. Обосновано и предложено использование результатов по спектру и уровню резистентности к циклосерину и ПАСК штаммов *M.tuberculosis* в рамках эпидемиологического надзора для изучения нарастания резистентности штаммов *M.tuberculosis*, циркулирующих в регионе, и прогнозирования временных тенденций ее дальнейшего распространения. Показаны взаимосвязи данных анализа лекарственной чувствительности, которые указывают на накопление в регионе бациллярного ядра хронических форм туберкулеза с широким спектром резистентности, что, в перспективе, может негативно отразиться на эпидемиологической ситуации по туберкулезу. Доказано, что устойчивость к циклосерину и/или ПАСК встречалась достаточно редко, по сравнению с остальными препаратами, и была зарегистрирована не более, чем у 1/3 включенных в исследование штаммов (56/230, 24,35% - к циклосерину и 73/230, 31,74% - к ПАСК), что было достоверно ниже, по сравнению с частотой устойчивости к остальным ПТП (от 51,74% штаммов, устойчивых к канамицину и офлоксацину, и до 91,74% штаммов, устойчивых к изониазиду). Введена схема для определения критических концентраций циклосерина и ПАСК для проведения тестов лекарственной чувствительности штаммов *M.tuberculosis* в системе ВАСТЕС MGIT 960, которая может быть использована для детекции критических концентраций других противотуберкулезных препаратов.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказаны данные о характере резистентности *M.tuberculosis* и сформированы подходы к пониманию эволюции возбудителя в развитии резистентности к противотуберкулезным препаратам второго ряда. Применительно к проблематике диссертации, результативно использован комплекс микробиологических и биоинформатических методов исследования, позволивших охарактеризовать современную популяцию штаммов *M.tuberculosis* по спектру и уровню резистентности к циклосерину и ПАСК. Изложены методологические подходы для определения критических концентраций циклосерина и ПАСК для проведения тестов лекарственной чувствительности штаммов *M.tuberculosis* в системе ВАСТЕС MGIT 960, которые могут быть применены для определения критических концентраций других противотуберкулезных препаратов. Раскрыты значения критических концентраций циклосерина (15 мкг/мл) и ПАСК (2 мкг/мл) для ускоренного тестирования лекарственной чувствительности, что определило возможность тестирования лекарственной чувствительности ко всему спектру противотуберкулезных препаратов второго ряда методом пропорций в жидкой среде на анализаторе ВАСТЕС MGIT 960. Изучены причинно-следственные связи между разработкой критических концентраций циклосерина и ПАСК и возможностью назначения схемы лечения согласно результатам тестов лекарственной чувствительности ко всему спектру противотуберкулезных препаратов, что

предотвращает развитие резистентности и распространение штаммов *M.tuberculosis* с множественной и широкой лекарственной устойчивостью за счет сокращения сроков тестирования чувствительности и начала адекватной химиотерапии. Проведена модернизация алгоритма детекции критических концентраций с учетом качества культуры, возраста не более 2 суток, что позволяет избежать появления слипшихся клеток и увеличивает число КОЕ, вносимых в тестовую пробирку.

Значение, полученных соискателем результатов исследования для практики, подтверждается тем, что автором разработаны величины критических концентраций двух противотуберкулезных препаратов второго ряда циклосерина и ПАСК, которые внедрены для определения лекарственной чувствительности на жидкой среде, в отделах микробиологии, фтизиатрии и детско-подростковом отделе ФГБНУ "Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза" для повышения эффективности лечения туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью за счет ускоренного тестирования лекарственной чувствительности к резервным препаратам (акт о внедрении от 21.12.2016 г). Определены возможности использования искомым величин критических концентраций циклосерина и ПАСК для детекции лекарственной чувствительности микобактерий в лабораториях противотуберкулезной службы, что будет способствовать повышению эффективности лечения больных лекарственно устойчивым туберкулезом. Создана рабочая коллекция штаммов *M.tuberculosis* (n=230), которая включала штаммы с профилями лекарственной чувствительности с разным числом и сочетанием противотуберкулезных препаратов (7,39% чувствительных, 92,61% устойчивых к противотуберкулезным препаратам со спектром устойчивости от 1 до 8 противотуберкулезных препаратов); исследуемые четыре группы штаммов сформированы на основании анализа результатов тестов лекарственной чувствительности циклосерина и ПАСК на плотной среде Левенштейна-Йенсена: чувствительных к циклосерину (n=170), устойчивых к циклосерину (n=56); чувствительных к ПАСК (n=151) и устойчивых к ПАСК (n=73). Показаны возможности использования рабочей коллекции для изучения механизмов развития лекарственной резистентности к циклосерину и ПАСК, а также перспектив создания молекулярно-генетических тест-систем детекции лекарственной устойчивости. Результаты микробиологического исследования штаммов *M.tuberculosis* были представлены на 6 конференциях и семинарах, посвященных диагностике туберкулеза с возможностью подготовки информационно-методического письма с рекомендациями по новым критическим концентрациям.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что исследование основано на большом объеме материала и проведено на высоком научно-методическом уровне с применением классических и современных микробиологических методов, современных стандартов и подходов к обработке биоинформационных данных, а также сертифицированного оборудования. Бактериологическими методами было исследовано 230 штаммов *M.tuberculosis*, выделенных из 1320 образцов диагностического материала, посеянного на плотные и жидкие питательные среды. Теория и планирование схемы исследования построены на заключении, что в работу необходимо взять образцы, преимущественно от больных с подозрением на рецидив или хроническое течение туберкулеза, ранее леченых пациентов, в том числе исследуемыми препаратами, так как из

их числа с большей вероятностью могли быть получены культуры *M.tuberculosis*, устойчивые к препаратам циклосерину и ПАСК. Идея базируется на отечественных и мировых научно-исследовательских данных по поиску критических концентраций для определения лекарственной чувствительности в жидкой среде. Использовано сравнение авторских данных и данных, полученных ранее по проблеме детекции чувствительности микобактерий. Установлено, что большинство результатов исследования согласуется с результатами других авторов, представленных в независимых источниках по проблеме поиска значений критических концентраций. Использованы сертифицированные методы исследования и описательной статистики, компьютерные программы и международные информационные базы данных.

Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации, заключалось в проведении микробиологической части (анализ материала, культивирование на плотных и жидких питательных средах, изучение культурально-морфологических и биохимических свойств, определение чувствительности выделенных штаммов к противотуберкулезным препаратам), интерпретация результатов.

На заседании 08 июня 2017 г. диссертационный совет принял решение присудить Дюжик Е.С. учёную степень кандидата медицинских наук. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 14 докторов наук по специальности 03.02.03 – микробиология, участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 20, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета,
Заслуженный деятель науки РФ,
доктор биологических наук, профессор



Алёшкин Владимир Андрианович

Учёный секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, доцент



Борисова Ольга Юрьевна

