

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Владимирского Михаила Александровича на диссертационную работу Дюжик Елены Сергеевны «Оптимизация детекции чувствительности *Mycobacterium tuberculosis* к противотуберкулезным препаратам второго ряда (цикloserину и ПАСК), представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Актуальность темы исследования

Проблема лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза (МБТ) к противотуберкулезным препаратам, в том числе к препаратам так называемого второго ряда, является ключевой для успешного лечения больных туберкулезом.

Правильное и своевременное, как можно более раннее, определение чувствительности МБТ, выделяемых пациентами, к препаратам, которые должны войти в персонализированную схему лечения для конкретного больного туберкулезом является обязательным требованием для эффективного лечения пациентов. Несмотря на уже достаточно широкое использование, в том числе в России, молекулярно-генетических методов, позволяющих быстрое определение лекарственной чувствительности/устойчивости МБТ в клинических штаммах при определении ДНК мутаций, эта технология недостаточно эффективна в отношении противотуберкулезных препаратов второго ряда. В частности, отмечается недостаточная чувствительность этих методов для определения лекарственной устойчивости к препаратам группы аминогликозидов, а также к этамбутолу. Что касается препаратов цикloserина и пара-аминосалициловая кислота (ПАСК), которые относятся к препаратам второго ряда при лечении туберкулеза, то для них вообще не разработаны

молекулярно-генетические тест-системы. Поэтому, естественно, для них относительно ускоренным является фенотипический метод определения лекарственной чувствительности, основанный на использовании жидкой питательной среды - так называемом методе MGIT (mycobacteria growth indication tube) с автоматизированной флуоресцентной индикацией роста микобактерий в системе ВАСТЕС 960 (Becton Dickinson, США).

Для определения результатов лекарственной чувствительности при культивировании МБТ естественно важнейшее значение имеет присутствие в питательной среде точно подобранной критической концентрации препарата. Критические концентрации препаратов для различных фенотипических тестов являются предметом целого ряда исследований в ведущих специализированных лабораториях мира.

В настоящее время специалистами Всемирной Организации здравоохранения (ВОЗ) рекомендованы критические концентрации почти для всех противотуберкулезных препаратов при определении лекарственной чувствительности на плотных и жидких питательных средах. Однако, в отношении системы MGIT (ВАСТЕС) для определения чувствительности клинических штаммов МБТ к циклосерину и ПАСК таких общепризнанных рекомендаций нет. В связи с этим, лекарственная чувствительность для этих препаратов определяется только традиционным методом абсолютных концентраций на плотных питательных средах, что значительно удлиняет сроки получения клиницистами результатов анализа и соответственно, коррекцию схемы лечения туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью препаратами второго ряда.

Таким образом, тема диссертационной работы Елены Сергеевны Дюжик является весьма актуальной.

Степень новизны, обоснованности научных положений , выводов и рекомендаций , сформулированных в диссертации.

Целью диссертационной работы является совершенствование ускоренного определения лекарственной чувствительности *M.tuberculosis* к противотуберкулезным препаратам второго ряда - циклосерину и ПАСК, для решения которой были поставлены четыре задачи, в числе которых создание коллекции клинических штаммов МБТ с данными о лекарственной чувствительности/ устойчивости к спектру препаратов первого и второго ряда, полученных при использовании референтного метода Левенштейна-Йенсена на плотной питательной среде, в том числе в отношении исследуемых – циклосерина и ПАСК. На основании полученных результатов автор решает задачи определения минимально ингибирующих концентраций (МИК) и критических концентраций препаратов циклосерин и ПАСК при использовании ускоренного метода на основе жидкой питательной среды – MGIT (Bactec) производства Becton Dickinson.

В процессе решения основных задач автором на материале 230 изученных и проанализированных клинических штаммов сформированы, помимо чувствительных, 8 различных групп штаммов МБТ : моно, полирезистентных, а также штаммов МБТ с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) и широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ). Автором продемонстрирована большая вариабельность спектра лекарственной устойчивости. В частности, показана возможность сохранения некоторыми штаммами лекарственной чувствительности к циклосерину или к ПАСК даже при широчайшем спектре устойчивости к препаратам первого и второго ряда. Эти данные представляют собой существенно важную научную новизну и практический значимый интерес, поскольку демонстрируют необходимость

исследования лекарственной чувствительности в отношении циклосерина и ПАСК, несмотря на множественную и широкую лекарственную устойчивость. Сохранение чувствительности к циклосерину и ПАСК позволит в этих случаях иметь определенные ресурсы для лечения больных даже при таком уровне устойчивости.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Лекарственная устойчивость к циклосерину и ПАСК наблюдалась автором только в одном из 6 изученных профилей лекарственной устойчивости, что составляло 5,2% всей коллекции клинических штаммов МБТ. И эти данные также представляют важный научный интерес. Автором показано, что диапазон минимальных ингибирующих концентраций (МИК) для штаммов МБТ, чувствительных к циклосерину, по данным референтного метода на плотной среде, составлял 4-15 мкг/мл, а устойчивых к циклосерину - 20-40 мкг/мл. Диапазон МИК для чувствительных, по данным референтного метода, к ПАСК - 0,5-2 мкг/мл, а для устойчивых к ПАСК - от 4 и до более 40 мкг/мл.

Диссертант впервые на значительном материале клинических штаммов МБТ определила критические концентрации циклосерина и ПАСК при использовании ускоренного метода MGIT (ВАСТЕС), а именно: 15 мкг/мл для циклосерина и 2 мкг/мл для ПАСК. Установлено, что при использовании жидкой среды в системе ВАСТЕС, критические концентрации для циклосерина – в два раза ниже, чем при работе с методом абсолютных концентраций на плотных средах (метод Левенштейна-Иенсена), а для ПАСК – наоборот в два раза выше. Полученные данные обосновывают применение этих результатов при использовании ускоренных технологий в практическом здравоохранении.

Созданная коллекция клинических штаммов с охарактеризованным спектром лекарственной чувствительности/устойчивости сможет служить базой для различных исследований, в том числе при разработке принципиально новых методов ускоренного определения лекарственной чувствительности возбудителя туберкулеза.

Достоверность и апробация результатов исследования.

Достоверность результатов исследования в настоящей работе не вызывает сомнений, поскольку она основана на большом фактическом материале – коллекции объемом 230 клинических штаммов МБТ; сравнительном исследовании с использованием как традиционного референтного метода определения лекарственной устойчивости – методе Левентштейна-Иенсена, так и применении новой ускоренной технологии с автоматизированной детекцией результатов – MGIT (ВАСТЕС). Все работы выполнены диссертантом лично. Результаты исследований статистически обработаны с использованием программного пакета MS Office Excell.

Результаты исследований были опубликованы в 9 печатных работах, в том числе в 4-х статьях в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Материалы диссертации представлены и обсуждены на Российской научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Новые технологии в эпидемиологии, диагностике и лечении туберкулеза взрослых и детей» (Москва, 2012, 2013 и 2015); на XIX Форуме «Национальные дни лабораторной медицины России» (Москва, 2015); на секции микробиологии и иммунологии туберкулеза Московского отделения Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов 21 декабря 2015 года.

Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации.

Диссертация Дюжик Е.С. написана в традиционном стиле, изложена литературным языком на 119 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, 3-х глав собственных лабораторных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы.

Во введении автор обосновывает актуальность исследования, включая описание разработанности темы, указывает научную новизну, теоретическую и практическую значимость исследования и приводит основные положения выносимые на защиту, описывает методологию и методы исследования клинических штаммов микобактерий туберкулеза.

Обзор литературы состоит из 4-х подразделов и посвящен описанию эпидемиологии туберкулеза в Российской Федерации, эпидемиологии туберкулеза во Владимирской области, где собиралась коллекция штаммов и проводились исследования, описание противотуберкулезных препаратов первого и второго ряда, методов определения лекарственной чувствительности МБТ в работах российских и международных авторов, в том числе с описанием данных о критических концентрациях препаратов, используемых при определении лекарственной чувствительности МБТ.

Глава 2 собственных исследований посвящена общей характеристике профилей лекарственной чувствительности изученных клинических штаммов МБТ. Глава 3 собственных исследований посвящена анализу минимальных ингибирующих концентраций в изученных штаммах в отношении циклосерина и ПАСК и глава 4 – определению критических концентраций циклосерина и ПАСК при исследовании коллекции штаммов МБТ. Собственные материалы представлены на 16 таблицах и 12 рисунках.

Глава «заключение», содержит обобщение полученных результатов и их анализ, которые изложены на двух больших таблицах, выводы, сформулированные диссертантом, которые вытекают из полученных результатов, а также практические рекомендации и список цитированной литературы из 136 источников, в том числе 39 источников российских авторов.

Автореферат отражает основные положения диссертационной работы Дюжик Е.С. и соответствует ГОСТ 7.0.11-2011.

Таким образом, диссертационная работа Дюжик Елены Сергеевны представляет собой законченное научное исследование и соответствует специальности 03.02.03. – микробиология.

Заключение.

Таким образом, диссертация Дюжик Елены Сергеевны на тему «Оптимизация детекции чувствительности *Mycobacterium tuberculosis* к противотуберкулезным препаратам второго ряда (циклосерину и ПАСК)» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора медицинских наук, профессора Черноусовой Ларисы Николаевны, которая содержит новое решение актуальной научной задачи – оптимизация определения чувствительности клинических штаммов микобактерий туберкулеза к противотуберкулезным препаратам цикloserину и ПАСК.

По актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований диссертация Дюжик Елены Сергеевны на тему «Оптимизация детекции чувствительности *Mycobacterium tuberculosis* к противотуберкулезным препаратам второго ряда (циклосерину и ПАСК)» полностью соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке

присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в соответствии с Постановлением Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г № 335 « О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Дюжик Елена Сергеевна достойна присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03. – микробиология.

Официальный оппонент:

Заведующий лабораторией иммунологических исследований и молекулярной диагностики туберкулеза Научно-исследовательского института фтизиопульмонологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский медицинский университет им. И.М.Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет).

127473, г. Москва, ул. Достоевского,4; телефон: 8(495)681-74-32

e-mail:mvladimirskij@mail.ru

доктор медицинских наук,
профессор

 Владимирский Михаил Александрович

26.05, 2017.

Подпись д.м.н., проф. М.А. Владимирского, заверяю:

