

Заключение комиссии Диссертационного Совета Д 208.046.01 при ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора по кандидатской диссертации Дюжик Елены Сергеевны «Оптимизация детекции чувствительности *Mycobacterium tuberculosis* к противотуберкулезным препаратам второго ряда (циклосерину и ПАСК)» по специальности 03.02.03. – микробиология

Научный руководитель:

Черноусова Лариса Николаевна - Заведующая отделом микробиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», доктор биологических наук (14.03.09.), профессор.

Диссертационная работа Дюжик Е.С. соответствует специальности 03.02.03. – микробиология (медицинские науки).

Работа посвящена определению критических концентраций противотуберкулезных препаратов второго ряда цикloserина и ПАСК для определения лекарственной чувствительности *Mycobacterium tuberculosis* в жидкой среде *Middlebrook 7H9* при помощи анализатора ВАСТЕС MGIT 960. На основании проведенного исследования охарактеризован спектр лекарственной устойчивости к противотуберкулезным препаратам популяции современных штаммов *M.tuberculosis*, выделенных от больных с хроническим течением туберкулеза и рецидивами во Владимирской области в 2010-2015 гг., который представлен 43 вариантами профилей резистентности. Получены данные о степени чувствительности к цикloserину и ПАСК (по определению минимальных ингибирующих концентраций в жидкой среде *Middlebrook 7H9*) современных штаммов *M.tuberculosis*, циркулирующих во Владимирской области. Показано, что диапазон минимальных ингибирующих концентраций для штаммов *M.tuberculosis*, чувствительных к цикloserину, составлял 4-15 мкг/мл, устойчивых к цикloserину - 20-40 мкг/мл, чувствительных к ПАСК - 0,5-2 мкг/мл, устойчивых к ПАСК - от 4 и до более 40 мкг/мл. Впервые на коллекции региональных штаммов *M.tuberculosis* с множественной или широкой лекарственной устойчивостью проанализировано сочетание чувствительности/устойчивости к препаратам резервного ряда и показано, что 84,48% штаммов были чувствительны к цикloserину и 84,08% штаммов чувствительны к ПАСК, что обосновывает перспективы применения этих антибиотиков для лечения лекарственно-устойчивого туберкулеза. Для проведения ускоренного теста лекарственной чувствительности *M.tuberculosis* к различным противотуберкулезным препаратам методом пропорций в жидкой среде *Middlebrook 7H9* на ВАСТЕС MGIT 960 впервые разработаны критические концентрации цикloserина (15,0 мкг/мл) и ПАСК (2,0 мкг/мл), что будет способствовать ускорению получения результатов теста, по сравнению с традиционным методом абсолютных концентраций на плотной питательной среде Левенштейна-Йенсена. Учитывая, что метод пропорций является более точным для детекции устойчивости, полученные данные свидетельствуют о перспективности и целесообразности применения культивирования *M.tuberculosis* в жидкой питательной среде в системе ВАСТЕС MGIT 960 в практическом здравоохранении.

Теоретической значимостью работы является то, что полученные новые данные о характере резистентности *M.tuberculosis* формируют подходы к пониманию эволюции возбудителя в развитии устойчивости к противотуберкулезным препаратам второго ряда. Результаты по спектру и уровню резистентности к цикloserину и ПАСК штаммов *M.tuberculosis* могут быть использованы в рамках эпидемиологического надзора для изучения нарастания резистентности штаммов *M.tuberculosis*, циркулирующих в регионе, и прогнозирования временных тенденций ее дальнейшего распространения. Полученные в исследовании данные 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. Разработанные методологические подходы для определения критических концентраций циклосерина и ПАСК для проведения тестов лекарственной чувствительности штаммов *M.tuberculosis* в системе ВАСТЕС MGIT 960 могут быть применены для определения критических концентраций других противотуберкулезных препаратов.

Практическая значимость заключается в том, что разработка критических концентраций циклосерина и ПАСК расширила возможности ускоренного тестирования лекарственной чувствительности одновременно ко всему спектру противотуберкулезных препаратов второго ряда методом пропорций в жидкой среде на анализаторе ВАСТЕС MGIT 960, что значительно повышает эффективность лечения туберкулеза с множественной и широкой лекарственной устойчивостью за счет сокращения сроков тестирования чувствительности и начала адекватной химиотерапии. Назначение схемы лечения согласно результатам тестов лекарственной чувствительности предотвращает развитие резистентности и распространение штаммов *M.tuberculosis* с множественной и широкой лекарственной устойчивостью, что особенно актуально в настоящее время.

Данные, полученные в диссертационной работе, используются в курсе лекций по современным методам микробиологической диагностики в Учебном центре ФГБНУ "Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза", на кафедре фтизиатрии лечебного факультета ФГБОУ ВО "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Минздрава России, на межфакультетской кафедре фтизиатрии и пульмонологии ФГБОУ ВО "Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова" Минздрава России. В отделе 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 (акты внедрения от 21.12.2016, 09.03.2017 и 13.03.2017).

Работа выполнена с применением современных методов исследования, адекватных поставленным задачам. Представленные результаты являются достоверными, так как был проведен достаточный объем исследований. Научные положения и выводы, сформулированные Дюзик Е.С., логически вытекают из результатов проведенных исследований.

По объему проведенных исследований, их новизне и научно-практической значимости работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03. – микробиология.

Комиссия не установила в диссертации и автореферате фактов некорректного заимствования материалов без ссылок на первоисточники.

Результаты исследований были 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, на еженедельной конференции научных сотрудников и врачей ЦНИИТ 20 июня 2016 года.

По материалам диссертации опубликовано 9 печатных работ, из них 4 статьи опубликованы в рецензируемых научных изданиях, 5 – в материалах конференций.

Диссертация соответствует профилю Диссертационного совета.

В качестве **ведущей организации** предлагается утвердить: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы»

В качестве **официальных оппонентов** предлагаются:

Леви Диана Тимофеевна – доктор медицинских наук (03.02.03.), профессор, главный эксперт управления противобактериальных МИБП, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Владимирский Михаил Александрович – доктор медицинских наук (14.03.09.), профессор, заведующий лабораторией иммунологических исследований и молекулярной диагностики туберкулеза Научно-исследовательского института фтизиопульмонологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Согласие оппонентов и ведущей организации имеются.

Заключение: комиссия диссертационного совета рекомендует диссертацию Дюжик Елены Сергеевны: «Оптимизация детекции чувствительности *Mycobacterium tuberculosis* к противотуберкулезным препаратам второго ряда (цикloserину и ПАСК)» по специальности 03.02.03. – микробиология к приему к защите.

Заключение подготовили члены Диссертационного совета:

Председатель:

Руководитель лаборатории
диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций
ФБУН «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,
доктор медицинских наук, доцент

О.Ю. Борисова

Члены комиссии:

ФБУН «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, член совета,
доктор биологических наук

А.М. Амерханова

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения г.Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им Н.Ф.Склифосовского» Департамента здравоохранения города Москвы, главный научный сотрудник,
доктор медицинских наук, профессор

Д.Д. Меньшиков

Городская клиническая больница № 67 им. Л.А.Ворохобова Департамента здравоохранения г. Москвы, руководитель отдела клинической фармакологии,
доктор медицинских наук, профессор

С. Д. Митрохин

Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии,
заместитель директора по научной работе,
доктор биологических наук, профессор

И.Г.Шемякин