

ОТЗЫВ
на автореферат диссертационной работы
Носовой Елены Юрьевны
на тему «Генетическая и фенотипическая устойчивость
***Mycobacterium tuberculosis* к антибактериальным препаратам.**
Методы и алгоритм диагностики», представленной на соискание
ученой степени доктора медицинских наук по специальности
1.5.11. – микробиология

Рост числа штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, устойчивых к химиопрепаратам первого и резервного ряда, и их глобальное распространение - одна из основных проблем, ведущих к снижению эффективности и удорожанию лечения туберкулёза. Применяемые в настоящее время в диагностической практике современные микробиологические и молекулярно-генетические методы анализа возбудителя туберкулёза, а также оценка фенотипической чувствительности к противотуберкулезным препаратам имеют ряд ограничений, связанных как с недостатками самих методик, так и с отсутствием единых протоколов и алгоритмов лабораторной диагностики туберкулеза. В этой связи, проведенное масштабное исследование генетики лекарственной чувствительности возбудителя туберкулеза с использованием самых современных подходов, является чрезвычайно актуальным.

Научная новизна исследования не вызывает сомнений. Автор по сути дела являлся проводником идей и одним из инициаторов работ по установлению роли геномных маркеров в формировании лекарственной устойчивости возбудителя туберкулеза, что подтверждается многочисленными пионерскими работами, опубликованными в престижных научных журналах, таких как *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *European Respiratory Journal*, *PLoS One* и др.

Еленой Носовой впервые установлена определяющая роль генетических детерминант антимикробной резистентности в генах *gyrA*, *gyrB*, *rrs*, *eis*, получены данные о спектре и частоте встречаемости мутаций, их связи с устойчивостью к препаратам резервного ряда. Автором разработаны модификации простых, недорогих, воспроизводимых молекулярно-генетических методов выявления хромосомных мутаций на основе конформационного полиморфизма одноцепочечных фрагментов (SSCP) и полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). Данные подходы, реализованные в лабораторном формате, позволили увеличить спектр анализируемых мутаций в генах *gyrA*, *gyrB* и *rrs*, *eis*. Автором определены варианты и частота встречаемости мутаций, ассоциированных с разной степенью устойчивости к основным препаратам первого и второго ряда.

Исследование автора имеет высокую теоретическую и практическую значимость. Автором получены новые данные, существенно дополнившие фенотипическую характеристику лекарственно-устойчивых форм *M. tuberculosis*, установлены различия в уровне фенотипической чувствительности возбудителя туберкулёза к рифампицину, изониазиду, этамбутолу, фторхинолонам и инъекционным препаратам и ассоциации с соответствующими мутациями. Важным этапом работы стало тщательное методическое сравнение различных диагностических тест-систем, как отечественного, так и зарубежного производства, с определением места каждого метода в лабораторной диагностике лекарственной устойчивости *M. tuberculosis*. Впечатляет и объем проанализированных лично автором данных – экспериментальные выборки насчитывают тысячи образцов клинического материала от больных (3067 проб ДНК, полученных от 2657 пациентов) и соответствующее число клинических изолятов. Такие масштабы, подтвержденные адекватной статистической обработкой, не позволяют усомниться в достоверности полученных результатов.

На основании проведенных этапов исследований автором предложен оригинальный алгоритм комплексной лабораторной диагностики качественной и количественной оценки лекарственной устойчивости возбудителя туберкулёза, с включением современных молекулярно-генетических технологий и бактериологических методов. Разработанный алгоритм повышает достоверность результатов определения лекарственной чувствительности возбудителя туберкулёза к антибактериальным препаратам, сокращает время получения результатов и служит основанием для проведения персонализированной химиотерапии туберкулеза.

Автореферат содержит некоторое количество грамматических и пунктуационных ошибок, например, «ЛЧ МБК к Км» (третий абзац на стр. 24), заголовок таблицы 4 на стр. 27, «воспроизводимость результатов микробиологического определение ЛЧ МБТ...» (как и весь трудно воспринимаемый первый абзац стр. 29). Употребляемый автором термин «дискордантные результаты» сложен как для чтения, так и для произношения на русском языке. Термин «Генотип ЛЧ» вносит определенное недопонимание в смысл соответствующих глав работы, т.к. под генотипами МБТ подразумевают эпидемиологически значимые семейства Beijing, LAM, Ural и др. (по многочисленным работам ведущего отечественного эпидемиолога *M. tuberculosis* И.В. Мокроусова, например, https://grant.rscf.ru/prjcard_int?14-14-00292). Уместнее было бы употреблять термин мутационный профиль, характеризующий МЛУ, ШЛУ, полирезистентность и т.д. Наконец, логичным выводом соответствующих глав работы, могли бы стать диагностические характеристики созданных автором подходов для идентификации точечных мутаций на основе методик SSCP и ПДРФ при анализе образцов ДНК, выделенных непосредственно из клинического материала. Например, какая минимальная возможная доля выявляемых мутационных вариантов в смеси с ДНК дикого типа при анализе образцов такого типа?

Вышеперечисленные замечания нисколько не умаляют достоинства работы, выполненной Е.Ю. Носовой на самом современном уровне. Результаты диссертационного исследования были доложены и обсуждены на 10 международных и российских конференциях. По материалам диссертационного исследования автором опубликовано 41 печатная работа, в том числе в 21 статья в рецензируемых изданиях, одна глава в коллективной монографии. Автором получены четыре российских патента на изобретение и внесен колоссальный вклад во внедрение оригинальной отечественной технологии гидрогелевых биочипов в клиническую практику. Этот один из немногих примеров оснащения медицины диагностическими средствами от отечественного производителя является залогом перехода к опоре на собственные силы в достижении независимости страны в области высоких технологий.

Автореферат соответствует современным требованиям к оформлению и в полной мере отражает результаты исследования. Выводы, положения, выносимые на защиту, и практические рекомендации аргументированы, научно обоснованы и отвечают поставленной цели и задачам исследования.

На основании автореферата диссертации и вышеизложенного считаю, что диссертационная работа Е.Ю. Носовой «Генетическая и фенотипическая устойчивость *Mycobacterium tuberculosis* к антибактериальным препаратам. Методы и алгоритм диагностики», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.11. – микробиология является законченной научно-квалификационной работой и содержит новое решение актуальной научной проблемы — анализ механизмов формирования устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* к антибактериальным препаратам с целью разработки эффективного алгоритма качественного и количественного определения лекарственной чувствительности возбудителя туберкулёза к основным и резервным препаратам с использованием модифицированных современных методик и технологий. По актуальности, новизне, практической значимости и объёму выполненных исследований диссертационная работа соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении учёных

степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016, № 748 от 02.08.2016, № 650 от 29.05.2017, № 1024 от 28.08.2017, № 1168 от 01.10.2018, № 426 от 20.03.2021 «О внесении изменений в Положение о присуждении учёных степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора медицинских наук, а её автор Носова Елена Юрьевна заслуживает присуждения учёной степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.11. – микробиология.

Грядунов Дмитрий Александрович
главный научный сотрудник ИМБ РАН,
заместитель директора ИМБ РАН по научной работе
д.б.н. по специальности 03.01.03 - молекулярная биология

05 октября 2021 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН)
119991 Российская Федерация, г. Москва, ул. Вавилова, д.32. www.eimb.ru
Тел. +7 (499) 135-2311. E-mail: isinfo@eimb.ru, grad@biochip.ru

Подпись Д.А. Грядунова заверяю
Ученый секретарь ИМБ РАН, к.в.н.



А.А. Бочаров