

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, доцента Исаевой Гузель Шавхатовны на диссертационную работу Петровой Людмилы Витальевны на тему: «Характеристика биологических свойств микобактерий, выделенных в Республике Марий Эл, оптимизация алгоритма их выявления», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11 – микробиология (медицинские науки)

### **Актуальность темы исследования**

Туберкулез представляют серьезную проблему для здравоохранения во всем мире и в первую очередь в связи со стремительным распространением антибиотикорезистентности. Туберкулез с множественной и широкой лекарственной устойчивостью стал самым распространенным и смертоносным в мире заболеванием, обусловленным резистентностью возбудителя к антимикробным препаратам. Ежегодно в мире заболевают туберкулезом более 10 млн. человек, туберкулез остается одной из основных причин смертности от инфекционных болезней на планете.

Успешная работа фтизиатрической службы по борьбе с туберкулезом привела к снижению показателей заболеваемости и смертности в Российской Федерации. В результате Всемирная Организация Здравоохранения в 2021 году исключила Россию из списка стран с высоким бременем туберкулеза. Однако остается угроза распространения инфекции вследствие роста сочетанной инфекции ВИЧ/туберкулез, высокого уровня лекарственно-устойчивого туберкулеза, а также последствий пандемии коронавирусной инфекции.

В Республике Марий Эл, как и в России в целом, несмотря на тенденцию к снижению уровней заболеваемости и смертности, сохраняется напряженная эпидемиологическая ситуация по туберкулезу, обусловленная в основном, ростом удельного веса больных, выделяющих микобактерии туберкулеза с лекарственной устойчивостью. В этой связи важно изучить свойства популяции возбудителей туберкулеза, циркулирующей на территории Республики Марий Эл, оценить уровень и спектр лекарственной устойчивости штаммов, выделенных от различных категорий больных в динамике, изучить мутации, ассоциированные с резистентностью к антимикробным препаратам, и генотипы выделенных штаммов микобактерий туберкулеза.

Одной из актуальных задач остается вопрос частоты выделения нетуберкулезных микобактерий у пациентов с различными заболеваниями респираторного тракта, их видовой состав и резистентность к антимикробным препаратам. Разработка регионального алгоритма выявления микобактерий в лечебных учреждениях

нетуберкулезного профиля, позволяющего выявлять бактериовыделителей на ранних сроках, сохраняет свою актуальность.

В этой связи, диссертационная работа Петровой Людмилы Витальевны решает важную научно-практическую задачу и является, несомненно, актуальной.

#### **Степень новизны исследования, обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Анализ многолетнего мониторинга лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза позволил диссертанту выявить рост уровня резистентности среди всех контингентов больных туберкулезом, в основном за счет штаммов микобактерий с множественной лекарственной устойчивостью, что обуславливает напряженность эпидемиологической ситуации по туберкулезу в регионе.

Автором изучены региональные особенности частоты встречаемости мутаций в генах микобактерий туберкулеза, ассоциированных с лекарственной устойчивостью. В работе впервые охарактеризовано генотипическое разнообразие штаммов микобактерий туберкулеза, циркулирующих в Республике Марий Эл.

Диссертантом Петровой Л.В. впервые изучено видовое разнообразие нетуберкулезных микобактерий, циркулирующих на территории Республики Марий Эл, выявлены доминирующие виды, определена лекарственная устойчивость наиболее часто выделяемых видов НТМБ. Автором проведен анализ выделения нетуберкулезных микобактерий у больных с установленным диагнозом «туберкулез» и у лиц с различными неспецифическими заболеваниями органов дыхания.

На большом объеме данных впервые проведены анализ и интерпретация результатов выявления ДНК МБТ методом ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) на поздних циклах амплификации.

Оптимизирован региональный алгоритм микробиологической диагностики туберкулеза и микобактериоза, особенностью которого является скрининговое обследование кашляющих больных в учреждениях нетуберкулезного профиля.

Сформулированные автором научные положения, выводы и рекомендации научно обоснованы и вытекают из результатов проведенных исследований.

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

Теоретическая значимость работы заключается в том, что полученные новые знания о распространенности и спектре лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза, циркулирующих в Республике Марий Эл, мутациях, ассоциированных с резистентностью к противотуберкулезным препаратам, разнообразии и частоте встречаемости генотипов



микобактерий, видовом разнообразии и частоте выделения НТМБ дают возможность оценить клиническую значимость популяции микобактерий и позволяют прогнозировать развитие эпидемиологической ситуации в Республике Марий Эл.

Практическая значимость полученных автором результатов заключается в том, что результаты анализа выявления ДНК микобактерий туберкулеза методом ПЦР в реальном времени на поздних циклах амплификации, могут быть использованы клиницистами при диагностике туберкулеза. Полученные знания о НТМБ и уровня их лекарственной устойчивости, могут быть востребованы клиницистами при диагностике и лечении микобактериоза.

Штаммы сформированной региональной коллекции могут быть использованы для изучения вновь разрабатываемых лекарственных препаратов с антимикобактериальной активностью.

На основании комплексного анализа эффективности применения микробиологических и молекулярно-генетических методов для выявления микобактерий и тестирования лекарственной чувствительности оптимизирован диагностический алгоритм, внедренный в практику учреждений здравоохранения Республики Марий Эл и в образовательный процесс.

#### **Достоверность и апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях**

Результаты исследований получены на большом объеме данных, выполненных централизованно при обследовании пациентов всех лечебно-профилактических учреждений Республики Марий Эл. Исследования по выявлению, идентификации, тестированию лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза и НТМБ были проведены диссертантом с соблюдением нормативных документов, принятых в Российской Федерации. Достоверность результатов была подтверждена корректной статистической обработкой данных с применением специализированного программного обеспечения.

Диссертация подготовлена в рамках исследований НИР «Микробиологическая диагностика туберкулеза и инфекционный контроль в бактериологических лабораториях противотуберкулезных учреждений РФ» № 0515-2016-0026, РК АААА-А16-116111150004-5; «Формирование лекарственной устойчивости микобактерий и соматических клеток к противотуберкулезным препаратам» №0515-2019-0015, РК АААА-А16-116032560092-3, выполнявшихся в отделе микробиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Центральный научно-

исследовательский институт туберкулеза».

Результаты диссертационной работы Петровой Л.В. представлены и обсуждены на Российских конгрессах лабораторной медицины и на заседаниях секции микробиологии и иммунологии туберкулеза Московского отделения Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. Диссертантом опубликовано 19 печатных работ, из них 5 статей в рецензируемых изданиях, 9 статей в других изданиях, 2 тезисов – в рецензируемых изданиях, 3 тезисов – в материалах конференций.

### **Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации**

Диссертационная работа Петровой Л.В. изложена на 177 страницах машинописного текста, содержит 26 таблиц и 7 рисунков. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, четырех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений, списка литературы.

Во введении автор аргументирует актуальность, степень разработанности темы, цель, задачи исследования, научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы. В диссертации представлен большой аналитический объем исследований, выполненный лично автором.

Материалы и методы изложены достаточно полно. Предметом исследования служили образцы диагностического материала, выделенные от пациентов, а также штаммы микобактерий. Объектом исследования являлись пациенты лечебно-профилактических учреждений Республики Марий Эл.

Четко сформулированы задачи, основные положения, выносимые на защиту, выводы являются полностью обоснованными.

В первой главе представлен обзор литературы, содержащий 151 отечественный и 71 иностранный источники литературы. Обзор литературы достаточно полно освещает разработанность тем, представленных автором в диссертационном исследовании. В обзоре достаточно полно описаны проблемы диагностики туберкулеза, приведены данные по сравнительной характеристике методов выявления и тестирования лекарственной чувствительности микобактерий. Приведены современные данные о мутациях, ассоциированных с устойчивостью, о распространенности генотипов микобактерий туберкулеза, а также о распространенности и видовом разнообразии НТМБ. Обзор литературы использован автором в качестве теоретического обоснования проведенных исследований, отражает существующие нерешенные вопросы.



Раздел «Результаты собственных исследований» состоит из четырех самостоятельных глав, включающих весь объем проведенных исследований.

Во второй главе представлены данные анализа по эффективности выявления микобактерий туберкулеза различными методами, в том числе у пациентов с различными предварительными диагнозами в учреждениях общей лечебной сети. Проведен анализ достоверности результатов выявления ДНК МБТ, полученных методом ПЦР-РВ на поздних циклах амплификации.

В третьей главе убедительно представлены данные многолетнего мониторинга уровня и спектра лекарственной устойчивости возбудителей туберкулеза, циркулирующих в Республике Марий Эл; описан спектр генотипов микобактерий, изучена взаимосвязь между генетическими линиями и лекарственной устойчивостью микобактерий туберкулеза, в том числе у пациентов с ко-инфекцией ВИЧ. Дана характеристика мутаций, связанных с устойчивостью к основным противотуберкулезным препаратам и фторхинолонам и представлен сравнительный анализ фенотипической и генотипической устойчивости штаммов микобактерий туберкулеза.

Четвертая глава посвящена изучению штаммов НГМБ, выделяемых в Республике Марий Эл, представлено их видовое разнообразие и уровни резистентности к антимикробным препаратам.

В пятой главе, на основании полученных результатов исследований, автор представляет оптимизированный алгоритм выявления микобактерий в Республике Марий Эл, основной особенностью которого является применение в качестве скринингового метода ПЦР-РВ в учреждениях общей лечебной сети при обследовании кашляющих больных.

В разделе «Закключение» автор анализирует полученные экспериментальные данные в сопоставлении с данными научной литературы, подчеркивая их новизну, теоретическую и практическую значимость, обозначает перспективы дальнейших исследований.

Выводы соответствуют цели и задачам диссертации, убедительно аргументированы полученными в ходе исследования достоверными данными.

В разделе «Практические рекомендации» определены основные предложения, которые могут представлять интерес для специалистов практического здравоохранения, эпидемиологической службы, для научного сообщества.

В целом диссертационная работа Петровой Л.В. логично и грамотно написана, выполнена с использованием методов, адекватных поставленным задачам исследования. Принципиальных замечаний к диссертации нет.

Однако в процессе ознакомления с диссертацией имеются некоторые замечания :

1. В работе имеются отдельные опечатки, орфографические ошибки и стилистические и терминологические погрешности. В частности, на с. 6 используется термин «трансмиссивность», который применителен только для обозначения инфекций, передающихся с помощью переносчиков, и не применим в отношении туберкулеза, а также на с.7 используется термин «трансмиссия» туберкулеза, что носит сленговый характер. В таблицах 14-15 и по тексту раздела 3.3. используются термины «спектр мутаций у больных», «всего лиц с мутациями», что носит сленговый характер, так как описываются мутации к противотуберкулезным препаратам у культур микобактерий, выделенных от больных туберкулезом, а не мутации у больных.

2. Раздел «Материалы и методы» не вынесен в отдельную главу, данный раздел включен в введение, заменив методологию исследования.

3. При описании методов исследования по тестированию лекарственной устойчивости микобактерий отсутствуют данные о применении контрольного штамма *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC 27294 в качестве контроля качества исследований.

4. На с. 112 сделано предположение о региональных отличиях спектра устойчивости НТМБ от данных, опубликованных другими лабораториями, но ссылки на них отсутствуют.

Также при анализе работы возникли вопросы к диссертанту:

1. В выводах представлены данные о наличии достоверного роста уровня лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза в 1,2 раза в основном за счет увеличения показателя МЛУ в 2,5 раза за период с 1998 по 2019 годы. Имеются ли у Вас данные по динамике лекарственной устойчивости к противотуберкулезным препаратам после 2019 года? Оказала ли пандемия COVID -19, на Ваш взгляд, влияние на этот процесс?
2. Какое практическое значение может иметь для Вашего региона выявление циркуляции доминирующего генотипа Beijing и других генотипов?
3. Возможно ли масштабирование оптимизированного Вами алгоритма выявления микобактерий для других регионов Российской Федерации?



Следует подчеркнуть, что отдельные незначительные замечания в целом и заданные вопросы не носят принципиального характера в плане оценки работы диссертанта и не снижают общего положительного впечатления от проделанной работы.

Диссертация и автореферат оформлены Петровой Л.В. согласно требованиям ГОСТ 7.0.11-2011. Содержание автореферата соответствует требованиям ВАК Минобрнауки РФ и в полной мере отражает содержание, результаты и выводы диссертационной работы в необходимом объеме, соответствует тексту диссертации, в достаточной степени иллюстрировано рисунками и таблицами.

#### **Соответствие специальности**

По тематике, методам исследования, научным положениям и выводам диссертационная работа Петровой Л.В. соответствует паспорту специальности научных работников 1.5.11 – микробиология (медицинские науки) и области исследования: пункты 1 – «Проблемы эволюции микроорганизмов, установление их филогенетического положения», 3 – «Морфология, физиология, биохимия и генетика микроорганизмов», 4 – «Исследование микроорганизмов на популяционном уровне».

#### **Заключение**

Диссертационная работа Петровой Людмилы Витальевны на тему: «Характеристика биологических свойств микобактерий, выделенных в Республике Марий Эл, оптимизация алгоритма их выявления», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11 – микробиология, выполненная под руководством кандидата медицинских наук Смирновой Татьяны Геннадьевны, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной задачи – получение новых знаний о популяции микобактерий, циркулирующих в Марий Эл, и повышение эффективности микробиологической диагностики туберкулеза и микобактериоза, – имеющей существенное значение для микробиологии туберкулеза. По актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований диссертационная работа Петровой Людмилы Витальевны 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, 26.10.2023 №1786 «О внесении изменений в Положение о

присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор, Петрова Людмила Витальевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11 – микробиология.

**Официальный оппонент:**

Заместитель директора по инновационному развитию Федерального бюджетного учреждения науки «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (420015, Республика Татарстан, г.Казань, ул. Большая Красная, д.67, Тел.: 8(843) 236-67-81, e-mail:kniem@mail.ru)

Доктор медицинских наук, доцент  
12.02.2024г.

Исаева Гузель Шавхатовна

Подпись Гузель Шавхатовны Исаевой заверяю:

Ученый секретарь, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии и разработки аллергенов Федерального бюджетного учреждения науки «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (420015, Республика Татарстан, г.Казань, ул. Большая Красная, д.67, Тел.: 8(843) 236-67-81, e-mail:kniem@mail.ru)

Кандидат биологических наук

Куликов Сергей Николаевич

