



ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Адамбековой Асель Доктурбековны «Эффективность применения современных молекулярно-генетических методов для диагностики туберкулеза и резистентных форм в условиях высокой распространенности лекарственно-устойчивого туберкулеза в Кыргызской Республике» представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология и 14.01.16 – фтизиатрия.

1. Актуальность темы исследования и связь ее с общенаучными и государственными задачами.

В последние годы, несмотря на стабилизацию эпидемиологической ситуации по туберкулезу практически во всех странах постсоветского пространства, отмечается существенное увеличение числа больных с резистентными формами туберкулеза. Особенно тревожной эта ситуация становится из-за неуклонного увеличения ШЛУ форм, лечение которых представляет значительные трудности. Диагностические затруднения при выявлении микобактерий туберкулеза традиционными способами общеизвестны. Они связаны, в частности, с медленным ростом возбудителя и сложностью его выделения из клинического материала, трудностью выделения измененных ультрамелких форм, способных длительно персистировать в организме человека.

Открытие и совершенствование молекулярно-генетических форм выявления возбудителя туберкулеза открыло новые перспективы в диагностике туберкулеза.

В настоящее время существует несколько молекулярно-генетических методов детекции микобактерий, основанных на полимеразной цепной реакции, которые позволяют идентифицировать возбудителя туберкулеза в патологическом материале за 5-6 часов. При этом не имеет значение объем выделяемого патологического материала, так как проведение данных проб возможно даже при скудном выделении мокроты. Однако вопросы сравнительного применения данных методов и традиционных способов выделения микобактерий на жидких и плотных питательных средах остаются

недостаточно изученными, особенно в условиях напряженной эпидемиологической ситуации по туберкулезу, во время которой отмечается высокий уровень не только легочных, но и внелегочных форм заболевания. Недостаточно изучены возможности широкого применения молекулярно-генетических методов во время эпидемиологических наблюдений на значительной территории, характерной для Кыргызской Республики, а также возможности их применения для эпидемиологического надзора.

2. Научные результаты в рамках требования к диссертациям (п.2.10 «Положения о порядке присуждения ученых степеней Высшей аттестационной Комиссии Кыргызской Республики»).

По совокупности проведенного исследования, Адамбековой А.Д. были получены результаты, представляющие как теоретическое, так и практическое значение.

В исследовании проведено изучение эпидемиологической ситуации по туберкулезу в КР за 15 лет, подробно проанализирована динамика основных эпидемиологических показателей в стране за последние пять лет. Это позволило автору определить бремя туберкулеза в условиях широкого распространения лекарственно-устойчивых форм заболевания, а также провести сравнительный анализ эффективности различных Национальных программ борьбы с туберкулезом, принятых в стране в различные годы.

В ходе работы впервые была проведена оценка эффективности различных противотуберкулезных программ, системы эпидемиологического надзора и их влияние на эпидемический процесс при туберкулезе за период 1994-2015гг, определено бремя МЛУ и ШЛУ ТБ в условиях внедрения DOTS-стратегии.

В диссертационной работе проведено сравнительное исследование традиционных методов бактериологической диагностики и молекулярно-генетических методов определения устойчивости к противотуберкулезным препаратам 1 и 2 ряда, а также их эффективность и чувствительность. Важным разделом является определение характера мутаций в генах, ведущих к развитию резистентности МБТ к рифампицину и изониазиду на территории Кыргызской Республики.

Выявлены наиболее часто встречающиеся мутации в геноме микобактерий туберкулеза с помощью таких молекулярно-генетических методов как GenoTypeMTBDR plus и XpertMTB/RIF. Полученные данные позволили автору разработать алгоритм диагностики туберкулеза и выявления

генетических мутаций возбудителя, что имеет большое значение для практического здравоохранения, так как позволяет ускорить диагностику заболевания и своевременно назначить больным адекватное лечение в зависимости от типа выявленной лекарственной устойчивости.

Таким образом, тема, цель и задачи диссертации, характер и содержание полученных результатов и выводов, соответствуют специальности 03.02.03 – микробиология и 14.01.16 – фтизиатрия.

3. Степень обоснованности и достоверности результатов (научных положений), выводов и заключения соискателя, сформулированных в диссертации.

Диссертационное исследование состоит из введения, 7 глав, списка использованной литературы, изложенных на 213 страницах компьютерного текста. Работа иллюстрирована 55 таблицами и 29 рисунками. Библиография представлена 251 источниками из них 73 на русском языке и 178 на иностранном языке.

В диссертационной работе Адамбековой Асель Доктурбековны использован достаточный объем статистической совокупности, рассчитанный по общепринятой методике, использованы современные методы исследования, в том числе молекулярно-генетические, бактериологические, эпидемиологические, статистические; соблюдена этапность исследования и обеспечена высокая достоверность полученных результатов, которые полностью соответствуют цели работы.

Поставленные в диссертации задачи выполнены полностью. Научные результаты диссертации сформулированы в семи выводах.

В первом выводе указывается, что за 15 лет в Кыргызской Республике уровень заболеваемости туберкулезом снизился со 170 на 100 тыс. населения до 98,77 на 100 тыс. Однако отмечено, что это снижение заболеваемости в 2 раза не решило основной задачи, поставленной ВОЗ – снизить заболеваемость до уровня 50 и менее на 100 тыс.

Во-втором выводе определены основные эпидемиологические показатели по туберкулезу в последние годы, а также показано, что значительному ухудшению эпидемиологической ситуации способствует широкое распространение первичных лекарственно-устойчивых форм заболевания – $17,8 \pm 1,2\%$.

В третьем выводе указывается, что метод ВАСТЕС MGIT 960 позволяет достоверно сократить время исследования выделенных культур с 3-4 недель до 6-8 суток, а также увеличивает на 20% частоту выделения культур из патологического материала. Это позволяет избежать позднего выставления диагноза больным с тяжелыми запущенными формами туберкулеза легких и своевременно назначать им необходимое лечение с использованием препаратов резервного ряда.

В четвертом выводе автор показала, что чаще всего лекарственная резистентность к рифампицину у больных туберкулезом легких развивается в результате мутаций S531L в гене *rpoB*, частота развития которых достигает в республике 69,7%; тогда как устойчивость к изониазиду характеризуется появлением мутаций S315T в гене *katG*, частота которых достигает 86,89%.

Эти результаты послужили основой для пятого вывода исследования, в котором оговорено, что метод XpertMTB/RIF может использоваться для быстрой характеристики лекарственной устойчивости к рифампицину в масштабе всей страны, что имеет большое значение для точной оценки эпидемиологической ситуации по туберкулезу.

В шестом выводе отражены результаты исследований как туберкулезных, так и атипичных микобактерий. Показано, что последние также, как и типичные микобактерии, могут успешно выделены на среде Миддлбука 7Н9 с помощью автоматизированной системы ВАСТЕС MGIT 960.

В седьмом выводе определены причины сохраняющейся неблагополучной эпидемиологической ситуации по туберкулезу в республике. Показано, что ее основой являются генетические мутации микобактерий туберкулеза, приводящие к формированию МЛУ и ШЛУ форм заболевания. На основании полученных результатов автором сформулирован диагностический алгоритм, позволяющий быстро идентифицировать возбудителя туберкулеза на уровне практического здравоохранения, что может кардинальным образом улучшить в будущем эпидемиологическую ситуацию по туберкулезу в стране.

Объем первичного материала и использованные статистические методы для его обработки являются современными и адекватны поставленным целям и задачам исследования.

Анализ полученных соискателем результатов свидетельствует об их достоверности и обоснованности. Заключение и выводы диссертационной работы логично взаимосвязаны.

4. Степень новизны научных результатов (положений), выводов и заключения соискателя, сформулированных в диссертации.

Диссертантом впервые была изучены особенности эпидемиологического процесса по распространенности туберкулеза в РК за 15 лет – с 2001 по 2015 год. При этом автором тщательно проанализированы основные эпидемиологические показатели не только по стране, по всем регионам. Тщательный анализ позволил выявить основные категории населения, вносящие наибольший вклад в распространение туберкулеза в стране. К ним автор отнесла высокий уровень заболеваемости подростков – 76,7%; лиц мужского пола – 73,8%; медицинских работников – 211 случаев; контингент ГСИН – 922 случая и ВИЧ-инфицированных – 934 случая.

Анализ заболеваемости, смертности и распространения лекарственно-устойчивых форм в республике за последние 5 лет (с 2010г. по 2015г.) показал, что в этот период основные эпидемиологические показатели снизились в 2 раза за счет разработки и внедрения Национальных программ, приказов МЗ КР и ряда организационных мероприятий. Однако при этом остались недостигнутыми целевые показатели, определенные ВОЗ, а экономическое бремя туберкулеза в стране за 2014-2015гг. составило 7464230,4 долларов США.

Автором впервые проведена большая работа по сопоставлению результатов выявления микобактерий туберкулеза молекулярно-генетическими и традиционными методами на уровне национальных бактериологических лабораторий. Показано, что метод XpertMTB/RIF показал высокую чувствительность, эффективность и сопоставимость результатов по сравнению с традиционными бактериологическими методами.

В ходе работы показана высокая эффективность и безопасность работы с биологическими микрочипами, перспективность их использования для изучения спектра атипичных микобактерий. Идентификация последних этим методом за счет олигонуклеотидных зондов позволяет выявлять такие широко распространенные виды, как *M. Chelonae*, *M. abscessus*, *M. xenopi*, *M. Simiae*.

Проведенные исследования позволили определить ряд мероприятий, необходимых для достижения целевых показателей, определенных ВОЗ: своевременное выявление МЛУ, ШЛУ ТБ, запущенных форм туберкулеза и туберкулеза среди групп риска (контингент ГСИН и ВИЧ инфицированные), которое возможно при внедрении современных и быстрых методов диагностики.

5. Оценка внутреннего единства полученных результатов.

Достаточный объем проведенных исследований, их анализ, новизна, полученные результаты и выводы позволяют квалифицировать данную работу как законченный научный труд, поставленную цель которого можно считать достигнутой.

Внутреннее единство работы определяется последовательностью изложения ее основных положений, соответствующих цели исследования, а также оптимальным подходом автора к решению поставленных задач, основная направленность которых – изучение особенностей эпидемиологической ситуации по туберкулезу в республике и разработка алгоритма ее оценки путем применения высоко чувствительных и специфичных методов молекулярно-генетической идентификации возбудителя.

Все главы диссертации отличает внутреннее единство, направленное на достижение поставленной цели. Задачи исследования реализованы в 5 основных положениях, выносимых на защиту, и в 7 выводах диссертационной работы, которые объединены единой целью, согласуются между собой и отражают основную суть представленного исследования.

6. Подтверждение опубликования основных положений, результатов, выводов и заключения диссертации.

По теме диссертационного исследования автором опубликовано 34 работы, в том числе такие документы как Национальный План развития противотуберкулезной лабораторной службы, Руководство по обслуживанию ТБ лабораторного оборудования, Стратегический План внедрения платформы GeneXpert. Материалы диссертации полностью отражают основные положения, результаты, заключение и выводы. Они соответствуют установленным требованиям по научной информативности и стилю изложения.

7. Соответствие автореферата содержанию диссертации.

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации и требованиям, согласно инструкции по его оформлению, установленным ВАК КР.

8. Соответствие содержания диссертации специальности, по которой представляется к защите.

Диссертационная работа, ее тема, цель, задачи, содержание полученных результатов и выводов, соответствуют специальности 03.02.03 – микробиология и 14.01.16 – фтизиатрия.

9. Недостатки по содержанию и оформлению диссертации.

Наряду с положительными аспектами рассматриваемой работы были выявлены недостатки, не носящие принципиального характера.

1. В главе 1 приводятся эпидемиологические данные по туберкулезу в стране, пересчитанные в относительные цифры. При этом в разделе 3., при анализе подверженности туберкулезу в зависимости от возраста, пола и контингента приводятся показатели заболеваемости в абсолютных цифрах, что затрудняет анализ их вклада в общую эпидемиологическую картину. Представляется возможным пересчет этих показателей на количество тюремного населения, а также на количество медицинских работников в стране.
2. При анализе эпидемиологической ситуации в стране желательно было включить в исследование показатели за последние годы (2016-2017).
3. В главе 5 приводятся четыре таблицы по распределению результатов исследования на устойчивость МБТ к рифампицину (табл. 5.1.2.2), этамбутолу (5.1.2.4), стрептомицину (5.1.2.4) и МЛУ ТБ (табл.5.1.2.5). Заголовки этих таблиц очень громоздкие, а содержание можно было бы облегчить для понимания при вынесении расчетов чувствительности и специфичности в текст, или в отдельную таблицу.
4. Вывод 4 и 5 желательно объединить, так как они логически связаны друг с другом, а вывод 7 можно безболезненно удалить из-за его невысокой информативности.
5. В работе имеются стилистические и орфографические ошибки, которые требуют исправления.

Однако эти замечания не являются принципиальными и не снижают научной ценности проведенных диссертантом исследований.

10. Соответствие диссертации предъявляемым требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Кыргызской Республики».

Таким образом, диссертационная работа Адамбековой Асель Доктурбековны «Эффективность применения современных молекулярно-генетических методов для диагностики туберкулеза и резистентных форм в условиях высокой распространенности лекарственно-устойчивых форм туберкулеза в Кыргызской Республике», представляет собой самостоятельно выполненный, квалификационный, законченный научный труд, который по поставленной цели, задачам, объему, методам, научной новизне, теоретической значимости, практической ценности и полученным результатам соответствует требованиям ВАК КР, предъявляемым к



диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология и 14.01.16 – «фтизиатрия», а сам соискатель заслуживает искомой степени доктора медицинских наук.

Официальный оппонент:
доктор медицинских наук, профессор
заведующая кафедрой инфектологии КРМУ



Е.С.Белова

27.09.2018г.

ҚазРосмедуниверситеті
ҚазРосмедуниверситет
РАСТАҒАН / ЗАВЕРИЛ
«___» _____ 20___ г.