



Министерство здравоохранения Российской Федерации
Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Саратовский государственный медицинский университет
имени В.И. Разумовского»

Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И.Разумовского
Минздрава России)

Б. Казачья ул., д.112, г. Саратов, 410012

тел.: (8452) 66-97-00, 51-15-32

факс: (8452) 51-15-34

E-mail: meduniv@sgmu.ru

<http://www.sgmur.ru>

ОКПО 01963503 ОГРН 1026402664903

ИНН/КПП 6452006471/645201001

№ 12 / 154

«УТВЕРЖДАЮ»

Ректор ГБОУ ВПО Саратовский

ГМУ им. В.И. Разумовского

Минздрава России

д.м.н. В.М.

Попков

« 27 » _____ 2015



На № 01-16/130 от 12.03.2015

ОТЗЫВ

Ведущей организации о научно-практической ценности диссертации Соловьевой Натальи Сергеевны на тему: «Биологические свойства возбудителя и оптимизация этиологической диагностики туберкулезного спондилита», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 14.01.16 – фтизиатрия; 03.02.03 – микробиология (медицинские науки)

Актуальность исследования. Диссертационное исследование Соловьевой Н.С. выполнено на актуальную тему, так как посвящено изучению биологических свойств возбудителя и направлено на улучшение диагностики одной из наиболее сложных и опасных своими осложнениями клинических форм внелегочного туберкулеза, а именно туберкулезного спондилита. Диагностика внелегочных форм туберкулеза всегда представляла большую проблему, оставаясь трудной, даже для опытных клиницистов. Отсутствие метода раннего выявления, изменение биологических свойств возбудителя, полученных из очагов анаэробизма, в которых находятся микобактерии туберкулеза (МБТ) в костной ткани, создают определенные трудности в правильной и своевременной диагностике туберкулеза костей и суставов. Туберкулезный спондилит относится к самой частой (60%) локализации костно-суставного туберкулеза и в большинстве случаев характеризуется тяжелым течением, генерализацией туберкулезного процесса, наличием осложнений и является основной причиной первичного выхода на

ФГБУ «СПб НИИФ»
Минздрава России
Лиговский пр. д. 2-4
ВХ. № 537
« 13 » 05 2015 г.

инвалидность. Несмотря на стабилизацию и даже некоторое улучшение эпидемиологической ситуации по туберкулезу легких в РФ, в структуре внелегочных форм туберкулеза в последние годы отмечается тенденция к увеличению доли костно-суставного туберкулеза до 33,1%, а также росту лекарственной устойчивости МБТ, включая множественную лекарственную устойчивость. Все вышеизложенное делает проблему изучения биологических свойств возбудителя туберкулезного спондилита очень актуальной и своевременной.

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

Объективность и научная обоснованность научных положений и рекомендаций, сформулированных в диссертации определяется использованием четких, методических подходов к решению поставленных задач. В ходе проведенных исследований автором сделано 7 выводов, которые отражают основные результаты диссертации. Выборка содержит репрезентативное количество наблюдений. Исследования проводились методом слепого проспективного микробиологического исследования операционного материала больных туберкулезом с поражением позвоночника. Выделены опытная и контрольная группа исследований. Для изучения биологических свойств возбудителя автором использовались современные микробиологические (посев на твердые и жидкие питательные среды с применением системы ВАСТЕС MGIT 960) и молекулярно-генетические методы исследования (ПЦР в режиме реального времени, метод биологических микрочипов, сполиготипирования).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета компьютерных программ EpiCalc v.1.02. и VassarStats с применением параметрических и непараметрических методов. Для оценки диагностической эффективности методов проводился расчет показателей чувствительности, специфичности, положительной и отрицательной прогностической ценности результатов исследования, что отвечает

современным требованиям при выполнении диагностических исследований. Вычислялись средние значения, медиана, мода, доверительный интервал. Для оценки достоверности различий использовались t-критерий Стьюдента и χ^2 . Применялись и специальные методы, такие как индекс Хантера-Гастона (HGDI) для расчета вариабельности генетических локусов. Связи между штаммами графически отображались с помощью филогенетического дерева, построенного с учетом полиморфизма локусов MIRU-VNTR. Таким образом, проведенный объем и современные методы исследования в полной степени достаточны для обоснования научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, которые отражают поставленные задачи, научно аргументированы, согласованы и логично вытекают из полученных результатов.

Новизна, достоверность и ценность полученных автором результатов

Диссертационное исследование Н.С. Соловьевой, несомненно, обладает научной новизной. Автором впервые проведено детальное изучение микробиологических свойств МБТ, полученных из очагов деструкции при туберкулезном спондилите, и дана комплексная фенотипическая и молекулярно-генетическая характеристика лекарственной устойчивости этих штаммов *M. tuberculosis*, установлены наиболее часто встречающиеся виды мутаций в генах, кодирующих лекарственную устойчивость МБТ к противотуберкулезным препаратам. Впервые доказана возможность и высокая эффективность использования технологии ВАСТЕС MGIT 960 и молекулярно-генетических методов (ПЦР и метода биочипов) для выявления, идентификации и определения лекарственной чувствительности возбудителя. Получены ранее не известные сведения о генотипической структуре популяции возбудителя внелегочного туберкулеза, описаны новые сполиготипы *M. tuberculosis* и определена их взаимосвязь с клиническими проявлениями специфического процесса. Научная новизна исследования также подтверждается свидетельством № 2014620898 о государственной

регистрации объекта интеллектуальной собственности: база данных «Сполигопрофили *Mycobacterium tuberculosis* на Северо-Западе России».

Результаты диссертационного исследования имеют высокую степень достоверности, что подтверждается полнотой и объемом проведенных исследований. Под наблюдением находилось 584 пациента с морфологически верифицированным поражением позвоночника инфекционного характера, включая пациентов с туберкулезным спондилитом - 359 и остеомиелитом неспецифической этиологии - 225. Диагностическому исследованию подвергнуто 673 образца операционного материала. Выполнено более 1000 лабораторных исследований, включая микробиологические и молекулярно-генетические методы исследования. Объем проведенного исследования достаточен для кандидатской диссертации. Диссертация построена по традиционному плану: изложена на 114 страницах текста компьютерного набора и состоит из 4 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Диссертация иллюстрирована 29 таблицами и 2 рисунками. Библиографический указатель содержит 71 отечественных и 116 иностранных источников. Материалы диссертации достаточно публиковались в открытой печати, докладывались на съездах и конференциях Международного и Всероссийского уровня. По теме диссертации опубликовано 22 научных работы, в том числе 5 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Личный вклад автора

Автором лично проведено большинство микробиологических исследований (люминесцентная микроскопия, определение лекарственной чувствительности возбудителя, формирование музея чистых культур *M. tuberculosis*, выделенных из операционного материала больных туберкулезным спондилитом). Молекулярно-генетические исследования проведены совместно с лабораториями ФГБУ СПб НИИ фтизиопульмонологии и ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.

Автором лично проведен сбор материала, анализ клинической картины и результатов лабораторных исследований, статистическая обработка материалов исследования.

Значимость результатов для медицинской науки и клинической практики

Результаты диссертационного исследования позволили разработать научно-обоснованные рекомендации и алгоритмы микробиологического обследования пациентов с поражением позвоночника инфекционной природы с целью доказательства специфической природы заболевания. Автором показана дифференцированная степень эффективности использования разных микробиологических методов в этиологической верификации туберкулезного спондилита, доказано преимущество использования у данной категории пациентов молекулярно-генетических методов, а именно ПЦР в режиме реального времени по сравнению с традиционными микробиологическими методами. Это позволит сократить сроки и повысить качество диагностики туберкулезного спондилита, уменьшить число непрофильных госпитализаций и назначение неадекватной терапии таким больным.

Большую научную и практическую ценность представляет раздел генотипирования возбудителя, полученного из очагов костной деструкции при туберкулезном спондилите. Автором показана генетическая неоднородность *M. tuberculosis*, полученных из костных очагов, и превалирование в них *M. tuberculosis* генотипа Beijing, отличающегося высокой степенью множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). Установлена взаимосвязь этого возбудителя с тяжелыми и генерализованными формами туберкулезного процесса. Выявлены доминирующие виды мутаций в генах *rpoB Ser531→Leu* (74,8%) и *katG Ser315→Thr* (90,7%), кодирующие МЛУ у данной категории пациентов. Полученные результаты могут иметь прогностическое значение и позволяют своевременно провести коррекцию лечения, и следовательно, сократить

сроки стационарного лечения пациентов с деструктивными поражениями позвоночника и излечить их с меньшими остаточными изменениями.

Рекомендации по использованию результатов диссертации

Предложенные автором алгоритмы микробиологической диагностики туберкулезного спондилита могут быть рекомендованы для внедрения в работу микробиологических лабораторий фтизиатрических учреждений. Результаты данного диссертационного исследования имеют не только большое практическое, но и теоретическое значение. Они могут быть использованы в процессе преподавания фтизиатрии и смежных специальностей (микробиологии, лабораторной диагностики, травматологии и ортопедии) при изучении вопросов своевременного выявления и диагностики больных туберкулезным спондилитом, а также его дифференциальной диагностики с остеомиелитами неспецифической этиологии. Эти результаты диссертационного исследования могут быть представлены в лекционном материале и в ходе проведения практических и семинарских занятий, как на студенческих кафедрах, так и на кафедрах постдипломного образования в учреждениях высшего профессионального медицинского образования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Соловьевой Н.С. на тему: «Биологические свойства возбудителя и оптимизация этиологической диагностики туберкулезного спондилита», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 14.01.16 – фтизиатрия; 03.02.03 – микробиология (медицинские науки) является завершенной научной квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований содержится решение важной задачи – оптимизации этиологической диагностики туберкулезного спондилита на основе комплекса бактериологических и молекулярно-генетических методов исследования, имеющее существенное значение для фтизиатрии.

По актуальности, научной новизне, практической значимости, объему клинических исследований, научно-методическому уровню, структуре и объему диссертация Соловьевой Н.С. соответствует п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24. 07. 2013 № 842), а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.16 – фтизиатрия и 03.02.03 – микробиология.

Диссертация и отзыв на нее обсуждены на совместном заседании кафедры фтизиатрии ФПК и ППС и кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского МЗ России (протокол № 1 от 27 апреля 2015г.).

Заведующая кафедрой фтизиатрии ФПК и ППС
ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского
Минздрава России

доктор медицинских наук, профессор,

Почетный работник высшего профессионального образования РФ,

Заслуженный врач РФ,

Главный внештатный фтизиатр

Приволжского Федерального округа

Морозова Т.И.

Профессор кафедры микробиологии,
вирусологии и иммунологии

ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского

Минздрава России

доктор медицинских наук, профессор

Швиденко И.Г.

