

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

**на диссертационное исследование Пирмахмадзода Бободжона Пирмахмада на тему «Клинические аспекты внедрения геномной идентификации микобактерий туберкулёза в Республике Таджикистан (клинико-лабораторное исследование)», представленное на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.16 – Фтизиатрия. - г. Душанбе, 2025 г. - 149 стр.**

Тема диссертации и область исследования соответствуют паспорту ВАК при Президенте Республики Таджикистан по специальности 14.01.16 – Фтизиатрия: пункту 1. Патогенез туберкулёза, изучение свойств возбудителя микобактерий туберкулёза, взаимодействие возбудителя туберкулёза и организма больного, методы выявления микобактерий туберкулёза, иммунологические, генетические, патоморфологические, биохимические, патофизиологические изменения в организме больных в процессе болезни и лечения; пункту 2. Клинические проявления туберкулёза органов дыхания у детей, подростков и взрослых, нарушения функции органов дыхания и других органов и систем при туберкулёзе, туберкулёз с сопутствующими заболеваниями, диагностика туберкулёза органов дыхания с использованием клинических, лабораторных, лучевых, бронхолёгочных и других методов исследования, дифференциальная диагностика туберкулёза органов дыхания и других заболеваний лёгких.

**Актуальность темы** диссертационного исследования не вызывает сомнений. В последние годы в Республике Таджикистан (РТ) наблюдается устойчивое снижение показателя заболеваемости туберкулезом. Однако, несмотря на достигнутые результаты, ситуация по туберкулезу в стране оценивается как весьма напряженная. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), РТ в 2023 году была отнесена к числу 18 стран Европейского региона ВОЗ с высоким бременем заболеваемости туберкулёзом (ТБ) и к числу 30 стран мира с высоким бременем лекарственно устойчивых формам

туберкулеза (ЛУ ТБ). В связи с этим на современном этапе совершенно актуальным является особый подход к организации этиологической диагностики заболевания, в частности, более к быстрому выявлению МБТ и качественному определению спектра ЛУ, что будет способствовать своевременности выявления заболевания и повышению эффективности лечения, как главного критерия работы фтизиатрической службы. Известно, что использование автоматизированных систем для культурального исследования сокращает время определения МБТ и лекарственной чувствительности возбудителя до 3-4 недель вместо 3 месяцев при классических методиках, а молекулярно-генетические методы позволяют в считанные часы определить в мокроте генетические маркеры МБТ и наличие мутаций, ассоциированных с ЛУ, позволяя включать в режим лечения наиболее эффективные противотуберкулезные препараты. Однако, важно отметить, что внедрение современных высокочувствительных диагностических методов позволило выявить существенную методологическую проблему во фтизиатрии: идентификацию группы пациентов, у которых при положительном результате микроскопии на кислотоустойчивой микобактерии (КУБ+) молекулярно-генетические тесты (GeneXpert MTB-RIF, Hain-test) не подтверждают наличие *M. Tuberculosis*. Это может указывать на вероятное наличие нетуберкулезных микобактерий (микобактериоз) или других заболеваний легких, схожих по клинико – рентгенологическим признакам. Необходимо заметить, что в настоящее время существенными трудностями, ограничивающими адекватную этиологическую диагностику МБТ в РТ, является недостаточное развитие соответствующей лабораторной базы и, как следствие, в клинической практике это может приводить к систематической гипердиагностике ТБ. В связи с этим, внедрение в практику фтизиатрической службы РТ нового метода: идентификации МБТ методом геномного секвенирования образцов культуры имеет важное клиническое и практическое значение в плане более раннего и качественного определения штаммов МБТ и НТМБ спектра, их лекарственной чувствительности в

короткие сроки (в течении 5 часов по сравнению с 2–4 месяцев методом L-J/MGIT). Это позволяет правильно выбрать режим лечения противотуберкулезными препаратами и, тем самым, повысить эффективность лечения. В РТ научных исследований по изучению вышеперечисленных проблем ранее не проводилось. Таким образом, диссертационная работа Пирмахмадзода Бободжона Пирмахмада на тему «Клинические аспекты внедрения геномной идентификации микобактерий туберкулёза в Республике Таджикистан (клинико-лабораторное исследование)» является, несомненно, важной и практически значимой в настоящее время, результаты которой будут способствовать улучшению эпидемиологической ситуации в стране в целом.

**Достоверность и новизна, степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.**

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, обеспеченное использованием современных методик научного анализа. Все положения, выносимые на защиту, соответствуют специальности 14.01.16 - фтизиатрия. Достоверность и новизна, степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций диссертационной работы Пирмахмадзода Бободжона Пирмахмада определяются комплексным подходом выполнения исследований, адекватным подбором и применением методов исследования, многолетними наблюдениями, статистической обработкой результатов исследований и публикациями. Выводы и рекомендации основаны на научном анализе внедрения во фтизиатрическую практику РТ нового современного метода идентификации МБТ- геномного секвенирования МБТ. Впервые в РТ улучшена идентификация МБТ и НТМБ, изучен спектр их чувствительности к антибактериальным препаратам. Диссертантом впервые в стране организовано и проведено сполиготипирование штаммов МБТ, которое выявило их принадлежность преимущественно к семействам Beijing с высоким уровнем ЛУ (80,2%). Автором впервые проанализирована эффективность лечения больных ТБ и микобактериозов легких на основе

дифференцирования штаммов при использовании геномного секвенирования. Степень научной новизны положений, выносимых на защиту также не вызывает сомнений, которые содержат информацию о качественной идентификации разновидностей МБТ с определением их ЛУ, что даёт возможность отдифференцировать больных с НТМБ легких от больных с ТБ легких и провести им эффективное лечение. Анализ исследования показал, что преимущественно выявлена принадлежность МБТ к семейству Beijing, Ural, CAS, LAM, H, T и X, в 80,2% случаев которые являются рифампицин-устойчивыми штаммами, что свидетельствует о неблагоприятном эпидемическом прогнозе и требует адекватной коррекции лечения. Доказано, что внедренный в практику здравоохранения РТ метод геномной идентификации МБТ с определением ЛУ МБТ к ПТП в короткие сроки, назначение адекватной схемы лечения, позволил повысить эффективность лечения больных с ЛУ-ТБ с - 83% до - 89,2%, а с НТМБ – до 91,7%.

Таким образом, все вышеизложенное, обосновывает достоверность и новизну научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных автором в диссертации.

**Степень изученности научной темы.** Степень изученности научной темы отражает факт, что до настоящего времени в РТ не было проведено исследований по изучению обоснованности и эффективности внедрения нового метода геномного секвенирования МБТ в практику фтизиатрической службы, в связи с этим не был изучен спектр микобактерий к семействам штаммов *M. Tuberculosis*, их распространенность в отношении ЛУ к ПТП; не достаточно достоверно проведена верификация заболеваний лёгких, вызванных НТМБ.

**Ценность для науки и практики полученных автором диссертации результатов.** В РТ в течение 2023-2024 и по настоящее время метод секвенирования МБТ внедрен и выполняется в Национальной референс-лаборатории ГУ «Национальный центр туберкулеза, пульмонологии и

торакальной хирургии». Для устойчивого использования данного метода, он был прописан в новом учебно-методическом руководстве для врачей «Национальное руководство по управлению за туберкулезом в Республике Таджикистан». Данное учебно-методическое руководство обязательно для исполнения во всех противотуберкулезных учреждениях РТ (распоряжение МЗиСЗН РТ от 17.10.2024, №704. Результаты исследования послужили основой для внедрения метода секвенирования в практику здравоохранения РТ, что позволило повысить качество этиологической диагностики ТБ и других заболеваний, и эффективность лечения больных ТБ, особенно ЛУ форм.

**Оценка структуры и содержания диссертации, её завершенность в целом, замечания по оформлению.** Диссертация изложена на 150 страницах машинописного текста, состоит из введения, общей характеристики работы и 5 глав, выводов, рекомендаций по практическому использованию результатов и библиографии. Работа иллюстрирована 16 таблицами и 15 рисунками. В список использованной литературы включены 211 источников: из них 73 источников из стран ближнего и 138 источников дальнего зарубежья. Поставленные цели и задачи в диссертационной работе решены. Диссертационная работа Пирмахмадзода Бободжона Пирмахмада на тему «Клинические аспекты внедрения геномной идентификации микобактерий туберкулёза в Республике Таджикистан (клинико-лабораторное исследование является завершенным научным исследованием. Замечаний по оформлению диссертации и автореферата нет.

**Подтверждение опубликованных основных результатов диссертации в печать.** Основные результаты диссертации доложены на: конференции молодых ученых и студентов ГОУ «ТГМУ им. Абуали ибни Сино» (Душанбе, 2017); на 50-ой Всемирной конференции по легочному здоровью (UNION Conference, 2019); доложены и обсуждены на научно-практической конференции (68-й годичной) с международным участием ТГМУ им. Абуали ибни Сино «Фундаментальные основы инновационного

развития науки и образования» (Душанбе, 2020); научно-практической конференции, посвященной 85-ти летию ГОУ «ТГМУ им. Абуали ибни Сино» (72-я годовщина) «Новые горизонты в медицинской науке, образовании и практике», с международным участием (Душанбе, 2024), на кафедральном совещании кафедры фтизиопульмонологии ГОУ «ТГМУ им. Абуали ибни Сино» (Протокол №2, от 03.03. 2023 г.), на заседании проблемной межкафедральной комиссии по внутренним болезням при ГОУ «ТГМУ им. Абуали ибни Сино» с участием специалистов по фтизиатрии (Протокол №6, от 06.04.2023г.). По результатам проведенных научных исследований с участием автора разработано в объеме 279 страниц, утверждено распоряжением МЗиСЗН РТ (от 17.10.2024, №704) и издано тиражом в 100 экз. учебно-методическое руководство для врачей «Национальное руководство по управлению за туберкулезом в Республике Таджикистан». Данное учебно-методическое руководство внедрено в образовательный процесс для проведения практических и лекционных занятий для студентов 5-го курса медико- 11 профилактического факультета (акт внедрения от 30 ноября 2024 г., №5), а также внедрено во всех учреждениях противотуберкулезной службы (акт внедрения от 24.10.2024.).

**Публикации по теме диссертации.** По материалам диссертации опубликовано 18 научных работ, в том числе 9 статей в рецензируемых журналах, входящих в перечень ВАК при Президенте Республики Таджикистан и Министерства образования и науки Российской Федерации.

**Личный вклад соискателя ученой степени в исследование.** Автором лично налажен и внедрён в практику здравоохранения РТ новый метод геномного секвенирования МБТ. Для достижения этой цели автор лично систематически связывался в период 2019-2023 гг с представителями производителей данного секвенатора в Великобритании, вёл с ними переговоры, добился его доставки вместе с расходным материалом, организовал первоначально обучающий тренинг и затем пригласив их в Таджикистан организовал 14-дневный обучающий тренинг на рабочем месте.

Все указанные активности были осуществлены в рамках научного сотрудничества. Автором был подготовлен протокол исследования, проведен сбор материала и его статистическая обработка, анализ и интерпретация полученного материала. Весь основной объем работы, включая 80% всех исследований на секвенаторе (остальные 20%, выполнены лаборантом) был выполнен самостоятельно и содержит ряд новшеств, которые свидетельствуют о личном вкладе диссертанта в науку. Написание всех глав диссертации, формулировка цели и задач, положений, выносимых на защиту, выводов и практических рекомендаций выполнены лично диссертантом.

**Во введении** раскрыта актуальность и степень разработанности темы исследования, правильно сформулированы цель и задачи диссертационной работы, основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности и результаты апробации исследования, практический выход, представлены личный вклад автора, публикации, структура и объём диссертации.

**В главе 1 «Обзор литературы»** представлен анализ 211 публикаций российских, отечественных и зарубежных исследований, посвящённых проблемам этиологической диагностики ТБ на современном этапе. Доказано важное клиническое и практическое значение применения геномного секвенирования МБТ. Для достижения цели и задач исследования был использован архивный материал и недавно собранные 340 образцов микобактерий, полученных от больных туберкулезом. Обзор литературы соответствует теме диссертации, достаточно большой по объёму.

Выделены 4 раздела: актуальные проблемы современной фтизиопульмонологической науки и пути их решения с помощью внедрения секвенирования генома МБТ; актуальность проведения секвенирования генома МБТ для РТ; причины возникновения мутаций и влияние противотуберкулезных препаратов на развитие ЛУ МБТ; вопросы идентификации туберкулёзных и нетуберкулёзных микобактерий. Указанные разделы раскрывают все стороны изучаемой проблемы. Доказана

необходимость проведения данного исследования, так как проблемные вопросы, рассматриваемые в работе, не изучены ранее.

**Вторая глава** традиционно посвящена материалам и методам исследования. Подробно изложен дизайн исследования, представлены критерии отбора. Автор описывает собственные материалы исследования. Показана возможность метода секвенирования: можно тотально секвенировать все имеющиеся в материале нуклеиновые кислоты ДНК МБТ или провести фрагментарное секвенирование, чтобы определить ключевые мутации и установить, относится патоген к эпидемически значимым или нет. Перед проведением секвенирования образцы культур от больных ТБ, согласно задачам научного исследования, разделили на 3 этапа анализа: Первый этап – внедрение данного метода и тем самым улучшение идентификации спектра ЛУ *M.tuberculosis* к ПТП и идентификации НТМБ. Второй этап – идентифицирование *M.tuberculosis*, НТМБ и других легочных заболеваний, что позволило назначить дифференцированное лечение больных и тем самым повысить эффективность их лечения. Третий этап – сполиготипирование штаммов МБТ, которое позволило выявить их принадлежность к различным семействам МБТ. Определена чувствительность, специфичность и прогностическая целенаправленность теста, рассматриваемые в работе, не изучены ранее.

В анализе данных использованы непараметрические методы: U-тест Манна-Уитни для сравнения двух независимых групп; тест Краскела Уоллиса для сравнения более чем двух групп, а коэффициент ранговой корреляции Спирмена для оценки взаимосвязей между переменными. Для контроля риска 1-го типа ошибок применялась корректировка при помощи поправки Бонферрони. Точный метод Фишера применялся в случаях, когда какое-либо значение признака встречалось очень редко. Для качественных переменных использованы абсолютные числа и процентные доли (%). Нулевая гипотеза считалась отклоненной, а различия между группами статистически значимыми при  $p$  ( $p$ -значение двухсторонний)

**В главе 3 «Эффективность внедрения и применения нового метода секвенирования генома микобактерий»** состоящей из 3-х разделов, показаны результаты идентификации микобактерий и спектра их лекарственной устойчивости с применением секвенатора. Были проанализированы результаты секвенирования образцов культуры 340 больных ТБ. Среди этих больных мужчин было 187 (55%, 95% ДИ - 49,8-60,2) и женщин – 153 (45%, 95% ДИ 39,8-50,2). При сравнении результатов тестирования на МТБК методами L-J/MGIT и секвенирования было отмечено, что из 301 положительных результатов, полученных методом L-J/MGIT во всех - 100% образцах подтверждено наличие возбудителя ТБ (МТБК и микобактерии неизвестной линии) методом секвенирования. Все 8 НТМБ, выявленные методом L-J/MGIT подтвердились методом секвенирования. Из 25 образцов, отрицательных на МТБК методом L-J/MGIT секвенирование в 13 (52%) обнаружило МТБК, в 10 микобактерии неизвестны (40%), 2 (8%) НТМБ, что также подчеркивает более высокую чувствительность метода секвенирования. Кроме того, среди непроведенных тестов методом L-J/MGIT было выявлено 2 образца НТМБ методом секвенирования. В дополнение к выявленным МТБК среди положительных (301) образцов методом секвенирования были выявлены 4 сочетанных инфекций МТБК и НТМБ. Научно доказано, что метод геномного секвенирования является наиболее чувствительным (98,4%) и специфичным (99,9%) методом идентификации разновидностей микобактерий и их спектра ЛУ к ПТП по сравнению с молекулярногенетическими методами, такими как картриджный экспресс-метод GeneXpert и MGIT, а также фенотипическими методами в твердой среде Левенштейна-Йенсена. Сполиготипирование штаммов МБТ выявило их принадлежность к семействам Beijing, Ural, CAS, LAM, H, T и X. Изучение штаммов в зависимости от спектра устойчивости показывает, что среди всех устойчивых штаммов - 69,8% приходится на линию Beijing, которые в 80,2% являются рифампицин-устойчивыми штаммами. Внедренный в практику здравоохранения новый метод геномной идентификации МБТ повышает

эффективность лечения больных с ЛУ-ТБ с - 83% до - 89,2%, при этом успешность лечения больных с НТМБ составила - 91,7%. Таким образом, применение геномного секвенирования МБТ у всех 340 больных с ЛУ ТБ позволило точно и быстро верифицировать диагноз и выявило высокую эффективность лечения во всех трех группах наблюдения.

**В главе 4 «Эффективность лечения больных с лекарственно устойчивыми формами туберкулёза лёгких и нетуберкулезных микобактериозов лёгких после применения нового метода секвенирования генома микобактерий»** автор представил данные по эффективности лечения больных туберкулезом с различным спектром ЛУ МБТ и микобактериозами лёгких. Хочется отметить, что применение новой технологии геномного секвенирования микобактерий позволило увеличить точность этиологической диагностики и индивидуализацию тактики лечения, что способствовало повышению результатов лечения за рассматриваемый период. Критерием исхода «вылечен» для пациентов с ЛУ-ТБ, подтверждённым бактериологически, являлось наличие не менее двух последовательных негативных результатов микроскопии мазков, а также по крайней мере 2-х отрицательных культур посева мокроты, выполненных с интервалом не менее 30 суток в период поддерживающей стадии химиотерапии. После проведения секвенирования МБТ первая группа больных (81 чел.) получили режим лечения МЛУ-ТБ, вторая - 259 больных получили режим лечения в зависимости от спектра их лекарственной чувствительности МБТ, которые были разделены на две подгруппы: 247 больных с ЛЧ-ТБ и 12 больных с НТМБ. В итоге, необходимо отметить, высокие результаты лечения, которые были получены автором. Так, успешное лечение, у пациентов с МЛУ-ТБ выявлено в - 86,4%, у пациентов с ЛЧ-ТБ в -89,2% у пациентов НТМБ в - 91,7%. Обращает на себя внимание и приведенный пример клинического наблюдения по излечению случая ТБ с ошибочно установленной тотальной ЛУ после установления диагноза ШЛУ-ТБ по результатам секвенирования.

В главе 5 «Обзор результатов исследования» проводится обсуждение результатов проведенного исследования, сравниваются собственные данные с данными публикаций за последние годы по изучению данной проблемы.

Выводы состоят из 5 пунктов, которые полностью соответствуют и раскрывают достижение поставленных диссертантом задач исследования.

**Научная, практическая, экономическая и социальная значимость диссертации.** Полученные материалы диссертационной работы используются в учебном процессе и внедрены в учебные программы кафедры фтизиопульмонологии ГОУ «ТГМУ имени Абуали ибни Сино», а также внедрены в практику и применяются в головном противотуберкулезном учреждении - Национальной референс-лаборатории при Национальном центре туберкулеза, пульмонологии и торакальной хирургии Министерства здравоохранения и социальной защиты населения Республики Таджикистан.

По результатам проведенных научных исследований, в соавторстве с другими ведущими специалистами противотуберкулезной службы, разработано «Национальное руководство по управлению за туберкулезом в Республике Таджикистан» (утверждено распоряжением МЗиСЗН РТ от 17.10.2024, №704). Внедренный новый способ геномной идентификации МБТ с применением секвенатора внедрен в практическую деятельность ГУ «Республиканский центр по защите населения от туберкулеза МЗиСЗН РТ» (акт от 24 октября 2024 г.), в практическую деятельность ГУ «Национальный центр туберкулеза, пульмонологии и торакальной хирургии» (акт от 24 октября 2024 г.), в образовательный процесс кафедры фтизиопульмонологии (акт внедрения утверждён от 03 января 2025 г.). Данный новый метод позволяет сократить время и расходы на диагностику, повышает эффективность лечения, чем обосновывается и практическая и социальная значимость диссертации.

**Соответствие диссертации требованиям Комиссии.** Диссертационная работа Пирмахмадзода Бободжона Пирмахмада на тему «Клинические аспекты внедрения геномной идентификации микобактерий туберкулёза в

Республике Таджикистан (клинико-лабораторное исследование)» является завершённым научным исследованием и полностью соответствует требованиям ВАК при Президенте Республики Таджикистан.

Автореферат по своему содержанию полностью соответствует диссертации и соответствует требованиям Порядка присуждения ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Республики Таджикистан 30 июня 2021 года № 267.

Замечаний по оформлению диссертации и автореферата нет.

При общей положительной оценке работы при изучении возникли вопросы уточняющего характера, которые в порядке дискуссии целесообразно обсудить:

1. Сколько ежегодно образцов МБТ из биологического материала исследуется методом секвенирования в РТ?
2. Какова обеспеченность резервными ПТП для проведения полного курса лечения больных ТБ с ЛУ МБТ?
3. Планируете ли Вы организовать обучение практикующих врачей фтизиатров в регионах страны с целью изучения метода секвенирования МБТ и интерпретации результатов исследования?

Представленные замечания и вопросы не умаляют научного достоинства работы и не влияют на её положительную оценку. В целом, диссертация Пирмахмадзода Бободжона Пирмахмада на тему «Клинические аспекты внедрения геномной идентификации микобактерий туберкулёза в Республике Таджикистан (клинико-лабораторное исследование)» представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.16 – Фтизиатрия, является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной цели связанной с новыми подходами в диагностике всех форм туберкулёза, что повышает и эффективность их лечения и имеет существенное значение для развития фтизиатрии, выполнена на высоком научно-методическом уровне, соответствует требованиям п. 31, 33, 34 и 35 «Порядка присуждения учёных

степеней», утвержденного постановлением Правительства Республики Таджикистан от 30 июня 2021 года, № 267, а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по указанной специальности.

**Официальный оппонент:**

Заведующий кафедрой фтизиатрии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, д.м.н., доцент

**«17» ноября 2025 г.**

Адрес: Российская Федерация,  
426039 город Ижевск, Славянское шоссе 0/1

E-mail: [olegr22@mail.ru](mailto:olegr22@mail.ru)

Тел: +79128727106

Русских О.Е.

Подпись доктора медицинских наук, доцента Русских О.Е. подтверждаю:

Начальник отдела кадров

Мясникова Н.И.

Начальник общего отдела

Клюжева О.В.



Адрес: 426059, Российская Федерация,  
город Ижевск, улица Коммунаров, 281.

Тел.: +7 (3412) 52-62-01

E-mail: [rector@igma.udm.ru](mailto:rector@igma.udm.ru)

Website: <https://www.igma.ru>

« \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2025 г.