

## **ВІДГУК**

**офіційного опонента доктора медичних наук, професора Власенко Ірини**

**Георгіївни на дисертаційну роботу Алієвої Наталії Миколаївни на тему:  
«Виявлення *M. tuberculosis* і визначення їх медикаментозної стійкості в умовах  
використання нових фено-генотипічних методів», поданої на здобуття наукового  
ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія**

Дисертація Алієвої Н. М., яка виконана під керівництвом доктора медичних наук О. А. Журило, присвячена вирішенню важливої задачі сучасної мікробіології – підвищенню ефективності діагностики туберкульозу, стандартизації виділення мікобактерій туберкульозу (МБТ) і визначення їх медикаментозної стійкості (МС) у хворих на туберкульоз легень та обґрунтуванню комбінованого використання нових фенотипічних і молекулярно-генетичних систем для швидкої діагностики туберкульозної інфекції.

### **Актуальність теми дисертаційного дослідження**

Обрана дисертантом тема, безумовно, є актуальною. Актуальність теми, зокрема, обумовлена тим, що наразі спостерігається підвищення частоти хіміорезистентності мікобактерій туберкульозу до основних протитуберкульозних препаратів (ізоніазиду та рифампіцину) і виявляється значне зниження ефективності антимікобактеріальної терапії. Туберкульоз сьогодення характеризується погіршенням епідеміологічної ситуації, яка проявилася зростанням показників захворюваності та смертності від туберкульозу (ТБ), зростанням частоти випадків гострого та прогресуючого перебігу хвороби, – як у вперше виявлених хворих, так і у хворих із занедбаними, переважно хронічними, формами, зростанням кількості випадків хіміорезистентного туберкульозу та ко-інфекції ТБ/ВІЛ. Зрозуміло, що прогресуючі форми ТБ, особливо – тривало-прогресуючі форми, при їх запізнелій діагностиці на тлі глибоких порушень загальної та специфічної реактивності організму, призводять до значної інвалідизації пацієнтів та досить значної летальності серед таких хворих.

Одним із факторів, що вимагають значної корекції стратегії боротьби з туберкульозом у світовому масштабі, є МС збудника. Феномен МС МБТ і поширення її загрозливими темпами в багатьох країнах світу, в тому числі і в Україні, є результатом впливу біологічних, медичних, соціальних і економічних факторів. МС МБТ позбавляє охорону здоров'я найбільш ефективного засобу боротьби з туберкульозом – хіміотерапії, яка основана на використанні протитуберкульозних препаратів (ПТП).

Надзвичайна епідемічна ситуація з туберкульозу в Україні потребує постійного удосконалення методів виявлення та діагностики захворювань на туберкульоз серед

населення з метою зниження інфікованості, захворюваності та зменшення резервуару туберкульозної інфекції.

В Україні одним із пріоритетних напрямків в системі протитуберкульозних заходів є підвищення рівня своєчасної ефективної діагностики. На бактеріологічні лабораторії покладається особлива функція у питаннях діагностики заразних випадків захворювання на туберкульоз та моніторингу ефективності процесу лікування. Саме тому важливим напрямком удосконалення та оптимізації роботи лабораторій протитуберкульозних закладів (ПТЗ) України є обов'язкова стандартизація основних бактеріологічних і молекулярно-генетичних методів. Впровадження їх в роботу дозволить отримати результати, які можуть бути порівняні з результатами досліджень інших лабораторій, що дасть можливість, своєчасно виявляти та реагувати на помилки в діагностиці, проводити оптимальне специфічне лікування хворих, оптимізувати та полегшити навчання фахівців, оцінити якість роботи лабораторій, окремих фахівців та проводити відповідний контроль ефективності лабораторних досліджень.

Традиційні мікробіологічні методи виявлення збудника за свою ефективністю уже не задоволяють клініцистів. Зараз впроваджується група нових фенотипічних методів, які дозволяють отримати результати шляхом використання різних технологій для виявлення ранніх ознак росту мікобактерій. Останні досягнення в області молекулярної біології і просування у вивчені молекулярних основ МС *M. tuberculosis* дали нам нові методи швидкого виявлення МБТ в дослідному матеріалі.

Впровадження в практику роботи лабораторій різноманітних схем гено- і фенотипічної діагностики туберкульозу сприяє максимальному скороченню термінів індикації та ідентифікації мікобактерій. Комбіноване використання цих методів дозволяє отримати більш повну інформацію щодо збудника туберкульозу та здійснити його виділення із організму людини у випадках захворювання на олігобацилярний туберкульоз.

Отже, використання сучасних фенотипічних і генотипічних методів у вивчені біології мікобактерій, застосування в практику охорони здоров'я молекулярно-генетичних методів у сполученні з рутинними і найновішими експрес-фенотипічними методами, дозволить покращити діагностику збудника в бактеріологічних лабораторіях ПТЗ України.

Наведені відомості обумовлюють актуальність дисертаційного дослідження.

### **Наукова новизна одержаних результатів**

Підвищена ефективність виділення мікобактерій з клінічного матеріалу хворих на туберкульоз легень в рідкому живильному середовищі за рахунок використання модифікованого щільного живильного середовища для субкультивування позитивних

зразків після вирощування в системі BACTEC MGIT 960. Вперше встановлено, що середня тривалість субкультивування позитивних культур на модифікованому щільному середовищі склала 7,4 доби, що в 1,8 разів менше, ніж на класичному середовищі Левенштейна-Єнсена. Середня тривалість виділення мікобактерій із середовищі Левенштейна-Єнсена склала 18,9 днів, що в 1,3 рази менше тривалості виділення мікобактерій із застосуванням рідкого середовища та модифікованого щільного середовища для субкультивування.

Доведено, що діагностична ефективність виділення культур мікобактерій в системі BACTEC MGIT 960 з використанням рідкого живильного середовища склала 92,1 %, що майже у 1,2 рази достовірно перевищує діагностичну ефективність методу посіву на щільному середовищі Левенштейна-Єнсена. Показано, що середня тривалість росту культур в рідкому середовищі склала 11,5 діб, що в 3,1 рази менше ніж терміни культивування збудника туберкульозу на класичному щільному середовищі Левенштейна-Єнсена.

Встановлено, що культивування зразків клінічного матеріалу від хворих з різними категоріями захворювання на туберкульоз за допомогою системи BACTEC MGIT 960 дозволило виявити додатково в середньому 18,2 % бактеріовиділювачів у порівнянні з класичним культуральним методом діагностики. Є доцільним використання рідкого живильного середовища в першу чергу для пацієнтів I-ої клінічної категорії, у яких бактеріовиділення додатково виявлено в 22,5 % випадків. Та найменш інформативним є використання цього методу для пацієнтів IV-ої клінічної категорії (додатково виявлено 2,1 % випадків).

Встановлено, що культивування зразків клінічного матеріалу від хворих з різними випадками захворювання на туберкульоз за допомогою системи BACTEC MGIT 960 дозволило виявити додатково в середньому 18,9 % бактеріовиділювачів у порівнянні з класичним культуральним методом діагностики. Доцільно використання рідкого середовища для визначення бактеріовиділювачів з діагнозом вперше діагностований туберкульоз легень (ВДТБ) у яких додатково виявляється в середньому 22,1 % випадків, а також для діагностики рецидивів туберкульозу (РТБ), при цьому в середньому виявляється додатково 19,4 % бактеріовиділювачів і при обстеженні пацієнтів, що знаходилися в контакті з хворими на мультирезистентний туберкульоз (МРТБ), додатково виявляється 28,8 % бактеріовиділювачів.

Доведено, що культивування в системі BACTEC MGIT 960 дало можливість виявити МБТ у 13,6 % дітей з клінічним діагнозом «туберкульоз», що майже у 2,7 разів більше, ніж діагностика бактеріовиділення у дітей на щільному середовищі Левенштейна- Єнсена, яка склала лише у 5,5 % випадків. Доцільним є використання рідкого середовища для діагностики туберкульозу у дітей.

Доведено, що найменш ефективним є використання методу культивування в системі BACTEC MGIT 960 клінічних зразків від хворих з встановленим діагнозом МРТБ. Додатково виявляється лише 1,2 % бактеріовиділювачів. Недоцільним є використання рідкого живильного середовища для обстеження пацієнтів на хронічний туберкульоз, оскільки всі випадки бактеріовиділення були підтвердженні класичним культуральним методом.

Вперше в Україні визначено “критичні” концентрації препаратів 2-го ряду – етіонаміду (5,0 мкг/мл), капреоміцину (2,5 мкг/мл), офлоксацину (2,0 мкг/мл), амікацину (1,0 мкг/мл), моксифлоксацину (0,5 мкг/мл), левофлоксацину (2,0 мкг/мл), протіонаміду (2,5 мкг/мл) і резервного ряду – лінезоліду (1,0 мкг/мл) при використанні їх для тесту медикаментозної чутливості (ТМЧ) в рідкому середовищі із застосуванням системи BACTEC MGIT 960, що дозволило розробити стандартну методику визначення МС *M. tuberculosis* з використанням рідкого живильного середовища до препаратів 2-го ряду і резервного препарату – лінезоліду, яка впроваджена в роботу бактеріологічних лабораторій 3 рівня мережі ПТЗ України.

Доведено, що у разі негативної мікроскопії на кислотостійкі палички (КСП) або в складних випадках, що потребують отримання швидкої інформації про збудника туберкульозу і його МС, для початку лікування перспективним є впровадження в лабораторну практику молекулярно-генетичних систем GeneXpert і GenoType. Обґрунтовано комбіноване застосування систем GeneXpert, GenoType і BACTEC MGIT 960 для досліджень клінічного матеріалу хворих на туберкульоз легень і запропонований діагностичний алгоритм їх комплексного використання при виявленні міcobakterій туберкульозу.

Показано діагностичну цінність дослідження негативних за результатами бактеріоскопії зразків мокротиння в системі GeneXpert і доведена висока позитивність таких досліджень, яка за нашими даними склала 59,4 %. Доведено, що недоцільним є використання системи GeneXpert для обстеження хворих в ході лікування. Проведені дослідження довели, що відсоток діагностованих випадків МРТБ за допомогою системи GeneXpert і фенотипічного методу діагностики в системі BACTEC MGIT 960 складають 93,7 % і тому дана молекулярно-генетична система може використовуватися для швидкої діагностики, насамперед, випадків МРТБ.

Встановлено, що молекулярно-генетичні системи дозволили виявити додатково 11,2 % та 11,6 % бактеріовиділювачів серед хворих I-ої та II-ої категорії відповідно. Найбільший відсоток позитивних результатів молекулярно-генетичних досліджень був зафіксований при дослідженні зразків клінічного матеріалу хворих I-ої клінічної категорії (88,8 %). При використанні системи GeneXpert при дослідженні негативних за мазком зразків мокротиння від хворих II-ої та III-ої клінічних категорій молекулярно-генетичні дослідження є вельми інформативними та виявляють в 4 рази

більше бактеріовиділювачів, ніж метод посіву в рідке середовище. На підставі отриманих даних обґрунтовано застосування систем GenoType і GeneXpert для досліджень клінічного матеріалу пацієнтів з підозрою на туберкульоз та хворих з встановленим клінічним діагнозом в залежності від клінічної категорії захворювання.

### **Ступінь обґрунтованості результатів дослідження та висновків**

Практично всі положення, висновки, практичні рекомендації, що містяться у дисертації є науково обґрунтованими, достовірні і в закономірній послідовності витікають із результатів основного змісту роботи, ґрунтуються на фактичному матеріалі, отриманому на достатній кількості бактеріологічних і молекулярно-генетичних досліджень. Дослідження проведено на зразках мокротиння від хворих на туберкульоз легень. Достовірність положень базується на виконанні адекватної статистичної обробки отриманих кількісних показників. Мета дисертаційного дослідження повністю реалізована за рахунок застосування високоінформативних фено-генотипічних методик та інших методів дослідження, які цілком адекватні поставленим завданням і відповідають сучасним вимогам до забезпечення відповідного науково-технічного рівня виконання наукових робіт.

### **Практична значимість результатів досліджень**

Найбільш вагому практичну значущість мають результати із визначення чутливості та специфічності різних методів виділення, ідентифікації та визначення МС збудника туберкульозу.

Впровадження здобувачем запропонованих та стандартизованих сучасних фено-генотипічних методик дозволило підвищити ефективність виділення мікобактерій та визначення їх МС до ПТП. Отримані дані вперше забезпечили стандартизацію постановки ТМЧ в рідкому середовищі із застосуванням системи BACTEC MGIT 960 в Україні.

Доведено, що обґрунтованим є застосування молекулярно-генетичних методів діагностики туберкульозу в мережі лабораторій ПТЗ України. Доцільним є комплексне використання фено-генотипічних методів дослідження в лабораторіях 3 рівня, тобто на рівні обласних ПТЗ України.

Розроблена стандартизована методика визначення МС до препаратів 2-го ряду – етіонаміду, капреоміцину, офлоксацину, амікацину, моксифлоксацину, левофлоксацину, протіонаміду і резервного ряду – лінезоліду в рідкому середовищі із застосуванням системи BACTEC MGIT 960.

Впровадження в діагностичні дослідження на туберкульоз системи гібридизації з типоспецифічними зондами (технологія ДНК-стріпів) GenoType дозволило швидко

проводити ідентифікацію виділених мікобактерій та диференціацію нетуберкульозних мікобактерій (НТМБ) (*M. avium-intracellularare*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* та ін.).

Розроблено алгоритм використання системи GeneXpert і системи GenoType з сучасними бактеріологічними методами, який впроваджений в практику роботи бактеріологічних лабораторій ПТЗ України. Алгоритм гено-фенотипічної діагностики туберкульозу регламентований Наказом МОЗ України № 620 від 04.09.2014 р.

Встановлені основні підходи до створення і функціонування системи управління якістю досліджень в лабораторіях, що здійснюють мікробіологічну діагностику туберкульозу (Регламентовано Наказом МОЗ України № 786 від 28.07.2016 р.).

### **Апробація результатів роботи та повнота їх викладу в опублікованих працях**

За темою дисертації опубліковано 11 наукових праць, із них 1 посібник, 1 стаття в закордонному науковому виданні, 5 статей (із них 5 – у журналах, зареєстрованих у міжнародних науковометрических системах Index Copernicus, Science Index, Google Scholar) у фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 4 тез доповідей у матеріалах міжнародних і вітчизняних наукових конференціях, з'їздах і конгресах. За результатами дисертаційного дослідження отримано 1 Державний патент України на корисну модель та розроблено 3 інформаційних листи. Всі результати досліджень повністю наведені у надрукованих роботах.

Матеріали дисертації були представлені на ХІІІ конгресі Світової Федерації українських лікарських товариств (Львів, 2010); V з'їзді фтизіатрів і пульмонологів України (Київ, 2013); на науково-практичному семінарі «Мікробіологічні методи дослідження на туберкульоз та організація системи контролю якості при їх виконанні» (Київ, 2013); на науково-практичному семінарі «Контроль якості культуральних методів діагностики туберкульозу» (Київ, 2014); на Республіканському науково-практичному семінарі для бактеріологів протитуберкульозних закладів України «Прискорена мікробіологічна діагностика туберкульозу» (Київ, 2014); V міжнародному медичному конгресі «Впровадження сучасних досягнень у практику охорони здоров'я України» (Київ, 2016); на науково-практичної конференції «Актуальні питання ведення хворих на хіміорезистентний туберкульоз на стаціонарному і амбулаторному етапах» (Київ, 2017).

### **Загальна характеристика дисертаційної роботи**

Дисертаційна робота побудована за класичною схемою. Вона складається із вступу, огляду літератури, основної частини, яка включає опис матеріалів і методів дослідження, 8 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, практичних рекомендацій і списку використаних літературних джерел. Список використаних джерел містить 263 найменування (109 кирилицею і 154

латиною), додатку. Робота викладена на 210 сторінках (з яких основна частина займає 147 сторінок), проілюстрована 32 таблиці і 3 рисунками.

Здобувач переконливо обґрунтував актуальність теми і сформулював мету роботи, націлену на підвищення ефективності діагностики туберкульозу, стандартизацію виділення мікобактерій і визначення їх МС у хворих на туберкульоз легень в рідкому живильному середовищі в системі BACTEC MGIT 960 та комбіноване використання її з новими молекулярно-генетичними системами для швидкої діагностики туберкульозної інфекції.

Завдання досліджень сформульовані чітко, згідно поставленій у роботі меті досліджень. Вони включають: проведення порівняльних досліджень щодо виділення мікобактерій традиційним способом та з використанням рідкого живильного середовища і модифікованого щільного живильного середовища в системі BACTEC MGIT 960; обґрунтування застосування системи BACTEC MGIT 960 для досліджень клінічного матеріалу хворих на туберкульоз легень в залежності від клінічної категорії туберкульозного процесу; досліження критеріїв резистентності *M. tuberculosis* до препаратів 2-го і резервного ряду в рідкому живильному середовищі в системі BACTEC MGIT 960 і розробку стандартних операційних процедур для визначення медикаментозної стійкості до цих препаратів в системі BACTEC MGIT 960; обґрунтування оптимальної схеми комплексного використання рідкого живильного середовища в системі BACTEC MGIT 960 і молекулярно-генетичних систем GeneXpert і GenoType для швидкої діагностики туберкульозної інфекції та створення діагностичного алгоритму їх комплексного використання при виявленні мікобактерій туберкульозу.

В огляді літератури, який складається із 3 підрозділів, ретельно висвітлено сучасний стан проблеми туберкульозу в світі та в Україні зокрема. Описані методи бактеріологічної діагностики туберкульозу і нові експрес-методи індикації і ідентифікації *M. tuberculosis* та визначення чутливості до антимікобактеріальних препаратів. Огляд літератури підтверджує актуальність проблеми, що вивчалась. Аналіз літературних джерел демонструє необхідність удосконалення лабораторної діагностики туберкульозу. Автор констатує, що, по-перше, в останні роки з'явилося багато нових можливостей виявлення і визначення МС *M. tuberculosis*. При розробці цих методів була використана нова інформація про молекулярні механізми МС і нові підходи до виявлення росту мікобактерій. Перевага молекулярно-генетичних методів полягає в їх швидкості і специфічності. Однак молекулярні механізми МС вивчені ще не достатньо. Більше того, складність цих методів і необхідність використовувати дуже дорогое обладнання обмежують їх застосування в мережі бактеріологічних лабораторій ПТЗ України. По-друге, фенотипові методи, як група технологій є більш неоднорідною. Деякі з них вимагають також вартісного обладнання. Інші являють

собою нескладні методики, які легко впровадити у роботу звичайних бактеріологічних лабораторій.

У розділі 2 «Матеріали і методи дослідження» представлено об'єкт та методи досліджень: бактеріологічні, в тому числі з використанням автоматизованої системи (виділення штамів мікобактерій, визначення їх чутливості до antimікобактеріальних препаратів), генетичні (виявлення комплексу *M. tuberculosis/bovis* в досліджуваному біологічному матеріалі за допомогою молекулярно-генетичних систем GeneXpert і GenoType), статистичні. Обрані автором методи досліджень – як традиційні, так і найсучасніші, повністю відповідають поставленим у роботі завданням.

У розділах 3 – 5 дисертаційної роботи представлені проведені порівняльні дослідження щодо виділення мікобактерій традиційним способом та з використанням рідкого живильного середовища Middlebrook 7H9 в системі BACTEC MGIT 960 і модифікованого щільного живильного середовища Левенштейна-Єнсена, обґрунтовано застосування системи BACTEC MGIT 960 для досліджень клінічного матеріалу хворих на туберкульоз легень залежно від клінічної категорії туберкульозного процесу.

У цих розділах доведено, що метод культивування зразків клінічного матеріалу в системі BACTEC є більш ефективним при проведенні бактеріологічної діагностики випадків туберкульозу, ніж метод культивування з використанням традиційного середовища Левенштейна-Єнсена, визначена ефективність модифікованого середовища Левенштейна-Єнсена. Проведені дослідження свідчать, що середня тривалість виділення мікобактерій із застосуванням рідкого середовища та модифікованого середовища Левенштейна-Єнсена для субкультивування складає 18,9 днів, що на 6 днів, або в 1,3 рази менше тривалості виділення мікобактерій із застосуванням рідкого середовища та класичного середовища Левенштейна-Єнсена для субкультивування.

Також проведені дослідження показали, що культивування зразків клінічного матеріалу від хворих із різними категоріями захворювання на туберкульоз лише в системі BACTEC MGIT 960 в рідкому живильному середовищі дозволило виявити додатково в середньому 18,2 % бактеріовиділювачів порівняно з методом бактеріологічної діагностики з використанням класичного середовища Левенштейна-Єнсена.

Отримані дані підтвердили доцільність використання рідкого середовища в системі BACTEC MGIT 960 для пацієнтів 1-ої клінічної категорії, у яких бактеріовиділення за допомогою лише цієї методики виявляється додатково у 22,5 % випадків.

Найменш інформативними виявилося використання рідкого середовища для виявлення бактеріовиділювачів при дослідженні зразків клінічного матеріалу від хворих IV-ої клінічної категорії. В цих випадках виявляється додатково в середньому лише 2,1 % бактеріовиділювачів.

Метод культивування зразків клінічного матеріалу в рідкому середовищі в системі BACTEC MGIT 960 показав більшу ефективність при проведенні бактеріологічної діагностики випадків туберкульозу, ніж метод культивування з використанням традиційного щільного середовища Левенштейна-Єнсена. Лише за допомогою рідкого середовища в середньому додатково виявляється 18,9 % випадків туберкульозу.

Дуже корисним є використання рідкого середовища для визначення бактеріовиділювачів з діагнозом ВДТБ, у яких бактеріовиділення лише за допомогою культивування в системі BACTEC MGIT 960 виявляється у середньому на 22,1 % більше випадків у порівнянні з культивуванням на щільному середовищі Левенштейна-Єнсена; для діагностики РТБ, при цьому в середньому виявляється додатково 19,4 % бактеріовиділювачів; для обстеження пацієнтів, що знаходилися в контакті з хворими на МРТБ – 28,8 % бактеріовиділювачів.

Доцільним та перспективним є використання рідкого середовища для діагностики туберкульозу у дітей, які дуже рідко є бактеріовиділювачами. Методом культивування в системі BACTEC MGIT 960 можливо виявити МБТ в середньому в 13,6 % дітей з клінічним діагнозом «туберкульоз».

Найменш ефективним є використання методу культивування в системі BACTEC MGIT 960 клінічних зразків від хворих з встановленим діагнозом МРТБ – лише 1,2 % додатково до методу посіву на щільне середовище.

Дослідження довели, що недоцільно використовувати рідке середовище в системі BACTEC MGIT 960 для виявлення бактеріовиділювачів серед пацієнтів із діагнозом хронічного туберкульозу (ХТБ), оскільки всі випадки були підтвержені при культивуванні зразків клінічного матеріалу методом посіву на щільне середовище Левенштейна-Єнсена.

У розділі 6 дослідження були спрямовані на пошук шляхів, які могли б забезпечити швидке отримання надійних і точних результатів ТМЧ МБТ до препаратів 2-го і резервного ряду. Система BACTEC MGIT 960 призначена для прискореної бактеріологічної діагностики туберкульозу і визначення МС мікобактерій до препаратів 1-го ряду, але не виключає можливість визначення чутливості мікобактерій і до медикаментозних препаратів 2-го і резервного ряду. Проведені дослідження надали можливість визначити “критичні” концентрації препаратів 2-го ряду – етіонаміду (5,0 мкг/мл), капреоміцину (2,5 мкг/мл), протіонаміду (2,5 мкг/мл),

амікацину (1,0 мкг/мл), офлоксацину (2,0 мкг/мл), моксифлоксацину (0,5 мкг/мл), левофлоксацину (2,0 мкг/мл), канаміцину (2,5 мкг/мл) і резервного препарату – лінезоліду (1,0 мкг/мл) при використанні їх для тесту медикаментозної чутливості в рідкому середовищі із застосуванням системи BACTEC MGIT 960.

Отримані данні є дуже важливими, тому що вперше в Україні дозволили розробити стандартну методику визначення МС *M. tuberculosis* з використанням рідкого живильного середовища до широкого спектру препаратів 2-го ряду і резервного препарату – лінезоліду із застосуванням системи BACTEC MGIT 960, яка впроваджена в роботу бактеріологічних лабораторій 3 рівня мережі ПТЗ України.

Надзвичайно важливим як з наукової, так і з практичної точки зору є розділ 7, в якому автор представив схеми використання молекулярно-генетичних систем для швидкої діагностики туберкульозу і фенотипічної системи BACTEC MGIT 960 та створив діагностичні алгоритми діагностики туберкульозу. На сьогоднішній день в Україні зберігають особливу актуальність питання лабораторної діагностики туберкульозу, у тому числі питання бактеріологічної діагностики випадків МРТБ, що проводиться в лабораторіях 3-го рівня, які функціонують в складі ПТЗ України.

Необхідними умовами для здійснення своєчасної, якісної та ефективної бактеріологічної діагностики випадків ТБ має бути чіткий алгоритм щодо відбору хворих для таких досліджень, наявність стандартних процедур і методик дослідження та забезпечення лабораторій необхідним лабораторним обладнанням відповідно до нормативних документів МОЗ України. Впровадження результатів роботи у лабораторну діагностику МБТ дозволило забезпечити всі лабораторії 3-го рівня обласних ПТЗ України всім необхідним сучасним обладнанням для здійснення гено-фенотипічної діагностики ТБ:

- генетичними системами GeneXpert – для попереднього та швидкого виявлення хворих з резистентністю до рифампіцину (тобто, з високим ризиком МРТБ);
- системами BACTEC MGIT 960 – для прискореного виділення МБТ та фенотипічного підтвердження діагнозу ТБ в рідкому середовищі, а також для прискореного визначення МС МБТ до решти препаратів 1-го і 2-го ряду;
- витратними матеріалами для проведення традиційних бактеріологічних досліджень з виділенням МБТ та постановкою ТМЧ до препаратів 1-го і 2-го ряду на щільному середовищі.

Головним принципом проведення досліджень в мережі бактеріологічних лабораторій ПТЗ України є проведення комплексу досліджень з однієї проби матеріалу.

Розділ 8 присвячений експериментально-клінічному обґрунтуванню застосування систем GeneXpert і GenoType для досліджень зразків клінічного матеріалу пацієнтів із підозрою на туберкульоз та з встановленим клінічним діагнозом і різними клінічними категоріями. Дослідження показали високу ефективність виявлення бактеріовиділювачів серед хворих як з позитивними, так і з негативними результатами мазку мокротиння на КСП.

За допомогою молекулярно-генетичного методу діагностики було підтверджено наявність ДНК *M. tuberculosis-complex* у 59,4 % хворих з ВДТБ І-ої, ІІ-ої та ІІІ-ої категорії з негативним мазком, при цьому в усіх випадках було також підтверджено життєздатність виділених мікобактерій за допомогою системи BACTEC MGIT 960. Найбільша ефективність при застосуванні молекулярно-генетичного методу виявилась у хворих ІІ-ої категорії – 80,0 %. Принциповим є факт підтвердження бактеріовиділення в 31,3 % випадків у хворих ІІІ-ої категорії, які мають завжди негативний результат бактеріоскопії, що унеможливлює швидке виявлення бактеріовиділювачів серед хворих даної клінічної категорії.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів досліджень» проведено аналіз власних результатів дослідження та їх порівняння з опублікованими даними, що дозволило дисертанту узагальнити і об'єктивно сформулювати наукові положення, висновки і рекомендації.

За результатами своїх досліджень автор сформулював 4 висновки, які в повній мірі віддзеркалюють теоретичну і практичну значущість дисертаційної роботи, їх зміст логічно віддзеркалює узагальнення результатів досліджень і висвітлює рішення поставлених в дисертації завдань.

Практичні рекомендації логічно випливають з матеріалів, викладених в дисертації, обґрунтовані. Вони чітко сформульовані та містять нові важливі науково-практичні положення. Розробки автора впроваджені в мережі бактеріологічних лабораторій ПТЗ України.

Список використаних джерел складено за порядком цитування, та оформлено згідно вимог ДАК України.

Крім згаданого вище, в процесі ознайомлення з дисертаційною роботою виникли наступні запитання що потребують пояснень у ході наукової дискусії.

- 1). Чому Ви проводили інкубацію в термостаті пробірок без корд- фактору протягом лише 4- х діб?
- 2). Під час роботи Ви виділяли нетуберкульозні мікобактерії. Поясніть нам, як Ви проводили їх ідентифікацію? Чи проводили ви тест медикаментозної чутливості для цих бактерій?

- 3). Як Ви оцінюєте випадки резистентності до ізоніазіду в системі GenoType та її відсутності в системі BACTEC?
- 4). Чи використовували Ви в своїй роботі традиційні ідентифікаційні тести, які рекомендовані для визначення МБТ в практичних лабораторіях з діагностики туберкульозу: тест з саліциловокислим натрієм, паранітробензольною кислотою, ніациновий тест, каталазний тест та інш.?
- 5). Які на вашу думку переваги та недоліки молекулярно-генетичних методів?

Автореферат дисертаційної роботи оформлено згідно вимог ДАК України, відповідає її змісту та повно висвітлює результати та основні наукові положення дисертаційної роботи.

Підсумовуючи викладене вище слід зазначити, що зроблені зауваження ніяк не заперечують новизни і науково-практичної значимості роботи та її позитивної оцінки в цілому.

## ВИСНОВОК

Дисертаційна робота Алієвої Н. М. «Виявлення *M. tuberculosis* і визначення їх медикаментозної стійкості в умовах використання нових фено-генотипічних методів», подана на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія, є закінченим науковим дослідженням, присвяченим вирішенню конкретного науково-практичного завдання – підвищенню ефективності методів лабораторної діагностики туберкульозу.

За методичним рівнем виконання, актуальністю, науковою новизною та науково-практичним значенням висновків дисертація та автореферат відповідають вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 р., № 1159 від 30.12.2015 р., № 567 від 27.07.2016 р.), що висуваються до дисертаційних робіт, поданих на здобуття наукового ступеня кандидата наук, а її автор заслуговує на присвоєння наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія.

Доктор медичних наук,  
професор, завідувач кафедри  
товарознавства, експертизи  
та торговельного підприємництва  
Вінницького торговельно-економічного  
інституту КНТЕУ



Відгук надійшов до співробітника 20.09.2017р.  
більшій секретар, к. med.н. О. А. Назарчук