

Отзыв на диссертацию в виде научного доклада Филипенко Максима Леонидовича «Молекулярно-генетическое типирование *Mycobacterium tuberculosis*, выявление мутаций генома, вызывающих резистентность к противотуберкулезным препаратам», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология

Туберкулез (ТБ) остается основной причиной смерти от инфекционных заболеваний: ежегодно регистрируется более 8 миллионов новых случаев и более 2 миллионов смертей. Борьба с туберкулезом в значительной степени зависит от улучшения возможностей микробиологической диагностики, доступности лекарств и строгого соблюдения адекватной стратегии лечения. Борьбу с туберкулезной инфекцией также осложняют эпидемия СПИДа, ограниченные возможности здравоохранения в странах, остро нуждающихся в них, и рост множественной лекарственной устойчивости. Миграция людей из районов с высокой распространенностью ТБ, которая усиливается с развитием транспортной системы и глобализации экономики, увеличивает опасность распространения туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью. Это диктует необходимость молекулярно-эпидемиологического мониторинга с целью раннего выявления новых вспышек заболевания. Для этого необходимы более глубокие знания о эпидемиологически активных клонах микобактерий, (например, таких как Beijing), которые могут иметь разную степень вирулентности и приобретенной устойчивости к антитуберкулезным препаратам. Собственно это определяет актуальность выбранной г-ном Филипенко темы исследований.

Российская Федерация является очагом туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ). Эта ситуация частично объясняется некоторыми различиями в молекулярной структуре популяций циркулирующих штаммов микобактерий туберкулеза, которые, в свою очередь, были сформированы множеством факторов, как связанных с миграцией людей, осуществлением санитарного контроля, так и окружающей средой. В диссертационной работе М.Л. Филипенко представлены первые данные о клональной структуре изолятов *M. tuberculosis* в Западно-Сибирском регионе, изучен спектр мутаций определяющих резистентность к основным лекарственным препаратам. В исследованиях, проведенных автором диссертационной работы, показано, что Пекинский генотип чаще встречается в образцах МЛУ-ТБ (71%) по сравнению с общим туберкулезом (47%) в Западной Сибири. Что касается евроамериканской линии, то данная работа показывает, что ее российские изоляты в основном принадлежат к семействам LAM, Ural, Haarlem (надо иметь в виду что «семейство T» де факто не существует т.к. это полифилетическая группа штаммов в рамках Линии 4). Авторский коллектив, возглавляемый М.Л. Филипенко впервые изучил молекулярный профиль изолятов с XDR, циркулирующих на территории Западной Сибири. В диссертационной работе предложен ряд оригинальных методических подходов для выявления основных частотных мутаций, вызывающих лекарственную резистентность у микобактерий туберкулеза.



Интересным и важным является исследование возможности использования мазков буккального эпителия для выявления микобактериальной ДНК у бактериовыделителей, которые легче собрать по сравнению с получением мокроты или БАЛ. Пока чувствительность такого анализа ограничена (76% для образцов ДНК выделенных с помощью модифицированного нами гомогенного экспресс метода с использованием 2-метокси этанола с последующим выявлением микобактериальной ДНК посредством ПЦР в режиме реального времени), но это может являться отправной точкой для оптимизации и продвижения данной технологии в сторону внедрения.

Результаты, полученные автором диссертационной работы представлены на конференциях и в периодической печати. Опубликованы 22 статьи в рецензируемых журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus и 7 в журналах базы данных РИНЦ; получены 5 патентов на изобретение РФ.

Вместе с тем, возник ряд замечаний и вопросов которые сформулированы ниже.

(1) С. 2. Говоря о Сибирском регионе можно было бы отметить как отягощающий фактор высокий уровень ВИЧ коинфекции и особые условия тюремной системы особенно способствующие, по крайней мере, в прошлом веке, ускоренной передачи отдельных наиболее успешных и трансмиссивных генотипов. Как известно, профиль IS6110-RFLP штамма B0/W148 был впервые описан в статье по тюремным штаммам из различных тюрем Сибири (Portaels et al., 1999).

(2) С 12. Приоритет автора в открытии некоторых локусов VNTR, и в целом, в развитии этого направления в России и мире, полагаю, общепризнан. Но не могу согласиться что VNTR-типирование быстрый и удобный метод. Он удобен в определенных ситуациях, но не следует ожидать всегда четкий результат при анализе например контаминации, смены штамма и т.п. в России где половина штаммов относится к генотипу Beijing, причем большинство относится к типам 100-32 и 94-32. В результате нужно применять даже не просто международную схему из 24 обычных локусов, но и гипервариабельные локусы, которые были валидированы в международном мультицентровом исследовании (Allix-Beguec et al. 2014). Вряд ли это быстрый анализ в форме ПЦР+агарозный гель. Вряд ли это дешевый анализ в формате использования секвенатора или платформы QiaPLEX.

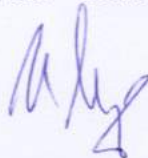
(3) С.13. Автор использует старое определение ШЛУ. С начала 2021 г ВОЗ одобрила новое и более адекватное реальности. В России пока оно не учитывается в статистических формах (будет только с 2023 года), но по крайней мере про это следовало бы упомянуть.

(4) Следовало бы указать сразу в начале, а не в середине текста источник терминологии названий типов в частности M2 M11. Тоже касается определения наименования Beijing (van Soolingen 1995), LAM (Sola 2001) или сослаться на базу данных SITVIT, MIRU-VNTRplus.

(5) Небольшие опечатки. Индекс Хантера-Гастона (Hunter Gaston) иногда назван индексом Гюнтера-Хадсона (с.8, 3я строка сверху).

Данные замечания не уменьшают ценности представленной диссертации и ее полного соответствия требованиям по докторским диссертациям.

Диссертационная работа Филипенко Максима Леонидовича является цельным завершенным научным исследованием, полностью соответствует требованиям и критериям, установленным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени доктора биологических наук. Диссертационная работа в виде научного доклада оформлена в соответствии с Приложениями № 5 и 6 Положения о диссертационных советах Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, а сам Филипенко Максим Леонидович, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология.



Мокроусов Игорь Владиславович, д.б.н.
зав. лабораторией молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера
Ул. Мира 14, Санкт-Петербург 197101 Россия
Тел.: (812) 6446380
E. mail: imokrousov@mail.ru

Подпись И.В. Мокроусова заверяю:

Ученый секретарь НИИЭМ им. Пастера к.м.н. Г.Ф. Трифонова

