

## ОТЗЫВ

официального оппонента, заведующего кафедрой фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет», доктора медицинских наук, профессора, член-корреспондента РАН Марьяндышева Андрея Олеговича на диссертацию Колесниковой Анастасии Тимуровны «Совершенствование подходов диагностики туберкулеза в пульмонологической практике», представленной к официальной защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.26. Фтизиатрия

### **Актуальность темы диссертации**

Молекулярно-генетические исследования являются одними из главных методов диагностики инфекционных заболеваний. Быстрые диагностические тесты должны быть ключевыми в обследовании всех лиц с предполагаемым туберкулезом для диагностики легочного туберкулеза (ТБ), множественного лекарственно-устойчивого туберкулеза (МЛУ-ТБ), ВИЧ-ассоциированного ТБ и туберкулезного менингита. Лабораторные инициативы Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) рекомендуют странам отдавать предпочтение быстрым молекулярным тестам вместо традиционных методов: микроскопии, посевов и фенотипических тестов лекарственной чувствительности (ТЛЧ). Это позволит обеспечить доступность ранней и точной диагностики. Традиционную микроскопию следует использовать в качестве начального диагностического теста только в лабораторных условиях, без возможностей проведения быстрых молекулярных тестов и при отсутствии систем для своевременной транспортировки лабораторных образцов туда, где эти методы доступны. Тем не менее, в клинических рекомендациях Российского общества фтизиатров первым тестом диагностики туберкулеза является микроскопия мазка мокроты. В условиях высокого риска передачи ТБ и/или МЛУ-ТБ в стационарных отделениях общепрофильных больниц, пульмонологических отделениях и других медико-социальных учреждениях скрининг мокроты кашляющих больных

методом ПЦР позволит предупредить распространение нозокомиальной инфекции и своевременно поставить правильный диагноз заболевания и изолировать пациента.

Важным этапом диагностики является не только нахождение ДНК возбудителя, но и одновременное определение лекарственной чувствительности. Изониазид и рифампицин являются ключевыми противотуберкулезными препаратами для лечения чувствительного туберкулеза. Быстрая диагностика лекарственной чувствительности молекулярно-генетическим методом позволяет через несколько часов назначить необходимый режим терапии. Диагностика устойчивости к рифампицину может позволить выявить МЛУ туберкулез, изолировать больного в профильное МЛУ-ТБ отделение и назначить своевременную, адекватную терапию. Таким образом, диссертация Колесниковой Анастасии Тимуровны посвящена актуальной современной проблеме дифференциальной диагностики легочных заболеваний в пульмонологическом стационаре, применения молекулярно-генетического метода для подтверждения диагноза туберкулеза и определения множественной лекарственно-устойчивой формы заболевания. Необходимость создания системного методологического подхода и изменения алгоритма бактериологической диагностики туберкулеза в клинических рекомендациях страны обуславливает чрезвычайную актуальность исследования.

Диссертация выполнена в «Самарском государственном медицинском университете» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также в государственном бюджетном учреждении здравоохранения Самарской области «Самарская городская больница №4» г. Самара. На основании результатов работы сформированы практические рекомендации по комплексной диагностике туберкулеза с включением в диагностический минимум картриджной технологии GeneXpert MTB/RIF для пациентов с

пневмонией при высокой степени риска туберкулеза в пульмонологическом отделении многопрофильной больницы.

**Целью исследования** явилось повышение эффективности диагностики туберкулеза в пульмонологической практике путем разработки новых подходов с применением картриджной технологии GeneXpert MTB/RIF. Для выполнения цели сформулированы четыре задачи, решение которых позволило провести комплексное, цельное исследование, позволившее разработать алгоритм обследования врача-пульмонолога для проведения дифференциальной диагностики пневмонии специфической, неспецифической этиологии и создать математическую модель дифференциальной диагностики туберкулеза и пневмонии.

**Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.**

Положения, выносимые на защиту, позволяют научно обоснованно представить содержание диссертационного исследования и соответствуют специальности 3.1.26 Фтизиатрия. Обоснованность исследования подтверждается комплексным изучением проблемы с хорошим анализом литературы, посвященной этой теме. Научные методы обоснования полученных результатов и логично вытекающие из них выводы, рекомендации представлены автором в полной мере.

Колесникова А. Т. глубоко и качественно использует научные статистические методы для обоснования полученных результатов, выводов и рекомендаций. Для решения поставленных задач автор проанализировал статистически значимое количество наблюдений - 159 пациентов с высоким риском подозрения на туберкулез, что составило 13% от всех госпитализируемых в пульмонологическое отделение за период проведения исследования. Дизайн работы хорошо спланирован, проводилось обследование когорты всех больных с подозрением на туберкулез, поступивших в пульмонологическое стационарное отделение Самарской

городской больницы №4, оказывающей круглосуточную экстренную помощь жителям города.

При анализе данных использованы методы параметрической и непараметрической статистики, реализуемых с помощью пакета статистических программ программы IBM SPSS Statistics, version 22.0. Доверительные границы к частотам рассчитывали на основе биномиального распределения. Достоверность различия частот определялась при помощи критерия хи-квадрат, при попарном сравнении – в точном варианте Фишера. Используются 95%-ные доверительные интервалы частот (95%ДИ). Достоверность различия средних определялась с помощью дисперсионного анализа распределений – при помощи критерия Колмогорова-Смирнова. Различия считали статистически значимыми (достоверными) при  $p < 0,05$ .

Проведение исследования с качественным статистическим анализом позволило автору получить статистически и клинически значимые результаты. Автор сформулировала 4 положения, выносимые на защиту. Анализ данных позволил аргументировать научные положения работы, которые обоснованы и полно раскрыты. Выводы и практические рекомендации исследования логичны, лаконичны и последовательны, отражают цель и задачи, являются чрезвычайно важными для усовершенствования алгоритма бактериологического обследования на туберкулез в Российских клинических рекомендациях. Практические рекомендации изложены конкретно и могут служить руководством в клинической практике пульмонолога пульмонологического отделения.

### **Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации**

Диссертационное исследование Колесниковой А.Т. обладает несомненной научной новизной.

- Сроки выявления туберкулеза в пульмонологическом отделении при применении стандартного диагностического минимума в среднем составляют

от двух недель до месяца, в течение первых 3-х дней выявляется до 20%, что составляет ~ 30% от всех выявленных в стационаре.

- В пульмонологическом отделении, оказывающем экстренную пульмонологическую помощь, туберкулез выявляется в основном у пациентов молодого работоспособного возраста, имеющих социально отягощенный анамнез, из которых 63,0% - пациенты с ВИЧ-инфекцией.

- Метод бактериоскопии мазка с окраской по Цилю-Нильсену отличается низкой информативностью. Выявление кислотоустойчивых микобактерий методом микроскопии мокроты окраской по Цилю-Нильсену, применяемого в диагностическом минимуме первичного обследования пациента, недостаточное для выявления туберкулеза и составляет 18,2%.

- Положительный результат теста с аллерген туберкулезным рекомбинантным у пациентов, имеющих общие анамнестические, социальные и рентгенологические данные в дифференциальной диагностике пневмонии и туберкулеза легких по чувствительности превосходит результат бактериоскопии в 3 раза. При оценке связи с уровнем иммунодефицита по количеству CD4+-лимфоцитов у пациентов с положительным результатом пробы с Диаскинтестом медиана числа клеток 240, с отрицательным результатом – 62,  $p < 0,001$ .

- Проба с аллерген туберкулезным рекомбинантным в алгоритме дифференциальной диагностики туберкулеза легких и внебольничной пневмонии является ранним индикатором необходимости углубленного обследования пациентов, в том числе с коморбидной патологией ВИЧ-туберкулез. У пациентов с положительным результатом пробы с Диаскинтестом и отрицательным анализом бактериоскопии мокроты в 92,6% случаев установлено наличие ДНК МБТ в мокроте методом картриджной технологии GeneXpert MTB/RIF.

- В практике врача-пульмонолога стационарного отделения при проведении дифференциальной диагностики пневмонии специфической и неспецифической этиологии использование алгоритма прогноза вероятности

туберкулеза (ПВТ) с включением в обследование аллергена туберкулезного рекомбинантного (Диаскинтест) позволяет рационально использовать картриджную технологию GeneXpert MTB/RIF, что сокращает сроки диагностики туберкулеза и снижает материальные затраты на лечение в непрофильных медицинских организациях.

### **Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов**

Диссертационная работа Колесниковой А.Т. имеет научную и большую практическую значимость. На основании результатов работы сформированы практические рекомендации по диагностике туберкулеза при дифференциальной диагностике с пневмонией с включением в диагностический минимум картриджной технологии GeneXpert MTB/RIF. Быстрая диагностика туберкулеза позволит уменьшить сроки нахождения больного в пульмонологическом отделении, своевременно изолировать пациента в противотуберкулезное учреждение и назначить терапию в соответствии с тестом лекарственной чувствительности микобактерии.

Практическая значимость работы имеет теоретическое обоснование оценки клинических признаков заболевания больного с пневмонией и туберкулезом. Комплексная оценка разнообразных факторов риска, клинических, лабораторных и рентгенологических данных позволила усовершенствовать алгоритм дифференциальной диагностики, ключевым методом которого является использование картриджной технологии молекулярно-генетического тестирования.

### **Структура и основное содержание работы:**

Диссертация Колесниковой А.Т. опубликована на 143 страницах, иллюстрирована 45 таблицами, 33 рисунками. Приводятся 2 клинических примера. Работа состоит из введения, обзора литературы, главы "Материал и методы исследований", собственных наблюдений, представленных в 6 главах, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов,

практических рекомендаций. Список литературы содержит 151 наименование, из которых 101 отечественных авторов.

**Обзор литературы** отражает актуальность избранной темы исследования, хорошее знание автором отечественной и иностранной литературы. Всесторонне проанализированы трудности и сложности диагностики туберкулеза при обращении больных за медицинской помощью. Тщательно изучены публикации по клиническим, лабораторным и рентгенологическим проявлениям заболевания. Продемонстрированы факторы риска возникновения туберкулеза. Много внимания уделено изучению одного из главных факторов риска туберкулеза - ВИЧ инфицирования. Представлены методы бактериологической диагностики туберкулеза, используемые пульмонологами. Изучены мета анализы публикаций, показывающие высокую аккуратность молекулярно-генетической диагностики, с высокой специфичностью и чувствительностью использования картриджной технологии GeneXpert.

Показано, что при существующем алгоритме диагностики туберкулеза, наблюдаются диагностические ошибки у врачей общей практики и пульмонологов. Отмечается задержка по времени диагностики туберкулеза, которая приводит к угрозе распространения нозокомиальной инфекции и ухудшению состояния больного. Доказана необходимость усовершенствования алгоритма диагностики туберкулеза в общепрофильных больницах, в пульмонологических отделениях.

**В главе 2** представлена характеристика материала и методов исследования. Набор пациентов и формирование групп пациентов для исследования проводились в пульмонологическом стационарном отделении Самарской городской больницы №4 на 150 коек, оказывающих ежедневно круглосуточно экстренную пульмонологическую помощь жителям города. Критерием включения в первую группу были: направительный диагноз для госпитализации в стационар «Внебольничная пневмония», информированное согласие пациента. В исследование включались пациенты, поступившие с

диагнозом «внебольничная пневмония» с подозрением туберкулеза и нуждающихся в дифференциальной диагностике.

Сформированы группы больных с диагнозом «туберкулез» (1 группа – 118) и диагноз «пневмония» (2 группа – 40 больных). В контрольную группу вошли 40 здоровых молодых людей, соответствующих по полу и возрасту без признаков поражения легких. Проведен сравнительный анализ по данным обследования: пол, возраст, социальные факторы, клинические проявления. Учитывая, что мокрота была не у всех пациентов, для поиска МБТ использовалась БАЛЖ

В главе подробно описан дизайн, применяемые методы исследования. Подробно представлены методы статистической обработки данных, использованные в диссертационном исследовании.

**В главе 3 «Результаты данных анамнеза и изучение факторов риска развития заболевания»** исследовались и определялись критерии формирования потока на консультацию к фтизиатру в реальной пульмонологической практике.

Из 1214 больных с диагнозом внебольничная пневмония было отобрано 159 (13%) пациентов с высоким риском подозрения на туберкулез. Проведен полный однофакторный анализ группы с подозрением на туберкулез. Доказано, что среди пациентов, поступающих на стационарное лечение в пульмонологическое отделение с диагнозом «пневмония» выявляются факторы риска, характерные для туберкулеза. Можно отметить общность социальных факторов, являющихся факторами риска в большей степени для туберкулеза, но показаниями для поступления в пульмонологическое отделение были признаки внебольничной пневмонии по клинической и рентгенологической картине.

**В главе 4 «Характеристика жалоб, клинических проявлений и данных обследования»** проведен классический врачебный анализ клинических симптомов интоксикации и грудных жалоб, характерных для заболеваний легких, в соотношении с сопутствующей патологией - ВИЧ



инфекцией, потреблением инъекционных психоактивных веществ и наличием гепатита. По данным исследования можно отметить, что характеристика группы пациентов с пневмонией, поступивших на стационарное лечение в пульмонологическое отделение, имеет факторы, позволяющие заподозрить туберкулез, но при этом не позволяющие исключить туберкулёзную инфекцию.

**В главе 5 «Изучение ВИЧ-инфекции как фактора риска заболевания пневмонией и туберкулезом»** проведен анализ основного фактора риска как туберкулеза, так и пневмонии.

Одним из самых частых патологических состояний, выявленных у обследованных больных, было наличие ВИЧ-инфекции. Данный фактор риска изучался как причина развития пневмонии и туберкулеза при наличии иммуносупрессии. ВИЧ - инфекция оказалась самым распространенным фактором риска среди пациентов, поступивших с внебольничной пневмонией, требующих дифференциальной диагностики с туберкулезом, но достоверных связей с изучаемыми анамнестическими данными, клиническими симптомами не выявлено, кроме приема антивирусной терапии и соответственно уровня CD4 клеток.

**В главе 6 «Характеристики общего анализа крови, используемого в диагностическом минимуме»** исследованы параметры общего анализа крови, доступные пульмонологу в первые часы поступления больного в стационарное отделение. Показано, что клинический анализ крови не позволяет выявить значимые дифференциально-диагностические критерии при обследовании пациента с внебольничной пневмонией и высокой степенью подозрения на туберкулез, но может использоваться в алгоритме формирования группы риска по туберкулезу. При этом, являясь важнейшим общеклиническим лабораторным исследованием, параметры которого позволяют оценить изменения, характерные для воспалительных заболеваний легких.

В главе 7 «Оценка эффективности специфических методов диагностики туберкулеза при проведении дифференциальной диагностики в условиях пульмонологического стационара» проведен качественный анализ всех методов подтверждения туберкулеза. Первым осуществлялась оценка чувствительности иммунодиагностики туберкулезной инфекции методом «Диаскинтест». Исследование проводилось в группе ВИЧ позитивных и ВИЧ негативных пациентов. При сравнительном анализе результатов обнаружены статистически значимые связи с наличием ВИЧ-инфекции. При оценке результатов «быстрых» методов диагностического минимума, положительный результат Диаскинтеста был почти в три раза чаще метода бактериоскопии мазка мокроты с окраской по Цилю-Нильсену. При этом положительный результат бактериоскопии не всегда совпадал с положительным результатом Диаскинтеста.

Абсолютным критерием подтверждения диагноза туберкулез являлся молекулярно-генетический метод и метод посева. Наиболее быстрым и информативным методом являлся GХpert. Анализ данных показал, что у части пациентов исследование БАЛЖ оказалось более результативным, чем анализ мокроты. Таким образом, использование бронхоскопического исследования с взятием лаважной жидкости повышает эффективность микробиологической диагностики туберкулеза всеми бактериологическими методами.

В данной главе с помощью однофакторного анализа были найдены 8 факторов, достоверно коррелирующие с дифференциальным диагнозом «наличие ТБ». На основе этих факторов построена таблица перевода величины прогноза в вероятность ТБ. При величине прогноза 0,6-0,8 и более вероятность диагноза туберкулез приближается к 100%. Разработанный способ позволяет быстро и информативно прогнозировать туберкулез у пациентов в общей лечебной сети.

Получение результатов прогнозирования требует подтверждение диагноза. Тем не менее получение абсолютного диагностического критерия

«обнаружение микобактерии туберкулеза» является сложной задачей. При существующем алгоритме, утвержденном клиническими рекомендациями, проведение верификации туберкулеза бактериоскопическим методом составило всего 31% случаев.

Внедрение методики GeneXpert MTB/RIF в диагностический минимум обследования пациентов в пульмонологическом стационаре позволило значительно повысить процент верификации диагноза, сократить сроки выявления туберкулеза и своевременно направлять пациента в профильное медицинское учреждение.

**В главе 8 «Экономическая составляющая внедрения молекулярно-генетического метода в диагностический минимум при подозрении на туберкулез»** рассчитана экономическая эффективность метода GeneXpert. Для расчёта экономической составляющей оценивалась средняя стоимость одного дня госпитализации в пульмонологическом стационаре. Показана стоимость не диагностированного больного туберкулезом, которая составляет более 2 тысяч рублей за одни сутки, при этом время госпитализации составляет выше 18 дней. Были даны расчеты по 4 примерам нахождения пациента в пульмонологическом отделении с подозрением на туберкулез, выбран оптимальный режим.

Проведение молекулярно-генетического метода в первый день поступления у пациента с высоким риском развития туберкулеза, вычисленным по формуле, значительно уменьшает стоимость затрат на одного больного туберкулезом.

**Заключение.** Исследование показало, что специфических клинических симптомов туберкулеза не существует. Использование 8 факторов, достоверно коррелирующих с дифференциальным диагнозом «наличие ТБ» позволяет осуществлять перевод величины прогноза в вероятность ТБ. Впервые разработан алгоритм по обследованию, позволяющий осуществить перевод величины прогноза в вероятность ТБ. Внедрение методики GeneXpert MTB/RIF в диагностический минимум обследования пациентов в

пульмонологическом стационаре позволит сократить сроки выявления туберкулеза и своевременно направить пациента в профильное медицинское учреждение.

В диссертационном исследовании показана низкая чувствительность микроскопии мазка мокроты при высокой специфичности метода. Информативность метода микроскопии мазка мокроты значительно варьирует и зависит от множества факторов, в том числе от иммунного статуса пациента с ВИЧ-инфекцией и уровня лаборатории, в которой проводится исследование при коинфекции ВИЧ/ТБ.

Применение в общей лечебной сети молекулярно-генетических методов в диагностике туберкулеза, как экспресс-метода, для поиска МБТ представляется перспективной в учреждениях, где отмечается выявление туберкулеза по обращаемости с жалобами, что позволит сократить сроки выявления туберкулеза и своевременно направить пациента в профильное медицинское учреждение.

В заключении кратко и последовательно отражены все разделы диссертационного исследования. Восемь выводов и практические рекомендации соответствуют цели и задачам научной работы. Выводы научно обоснованы большим количеством наблюдений, правильной методологией исследования и статистически достоверны, аргументированы. Рекомендацию необходимо использовать в деятельности врачей пульмонологического отделения.

Автореферат диссертационной работы соответствует всем требованиям к его оформлению, а также содержанию и выводам диссертации.

Результаты диссертационного исследования внедрены в работу ГБУЗ СО «СГБ №4» - акты внедрения результатов научной работы (2022), получены патенты РФ на регистрацию программы для ЭВМ (2020, 2021) и свидетельство о государственной регистрации базы данных (2020).

По теме проведенных исследований опубликовано 19 работ, включающих 9 статей в журналах, включенных ВАК в перечень

рецензируемых научных изданий, в том числе 6 статей в журналах Scopus и 3 свидетельства ФИПС о регистрации программы ЭВМ.

В ходе рецензирования диссертационного исследования возникли вопросы, требующие ответа автором:

Отмечая важность, научную новизну, оригинальность и своевременность проведенного диссертационного исследования необходимо провести дискуссионное обсуждение изменения алгоритма обследования пульмонолога при подозрении на туберкулезе в клинических рекомендациях страны и возникает потребность получения ответов автора на следующие вопросы:

1. Считаете ли Вы необходимым включить в клинические рекомендации РОФ/РАФ двухкратное исследование мокроты методом GХpert и одного культурального анализа методом MGIT всех пациентов общелечебных учреждений с кашлем более 3-х недель?
2. Возможно ли заменить картриджную технологию на исследование ДНК МБТ отечественных молекулярно-генетических методов?
3. Необходимо ли оставить микроскопическое исследование мокроты на МБТ только после получения положительного теста ДНК микобактерии?

Диссертационная работа Колесниковой Анастасии Тимуровны на тему: «Совершенствование подходов диагностики туберкулеза в пульмонологической практике», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук является завершённой квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи современной фтизиатрии по сокращению сроков диагностики туберкулеза в общей практике, путем разработки новых подходов с применением картриджной технологии GeneXpert MTB/RIF, что имеет важное значение для медицинской науки, для фтизиатрии и пульмонологии в частности.

Диссертационная работа Колесниковой Анастасии Тимуровны «Совершенствование подходов диагностики туберкулеза в пульмонологической практике», по своей актуальности, научной новизне,

теоретической и практической значимости, обоснованности основных положений и выводов, научно-методическому уровню соответствует критериям, установленным в п. 9 и 10 раздела II «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 (редакция от 1 октября 2018 года №1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.26. – Фтизиатрия.

Заведующий кафедрой  
фтизиопульмонологии Федерального  
государственного бюджетного образовательного  
учреждения высшего образования «Северный  
государственный медицинский университет»,  
Министерства здравоохранения Российской  
Федерации профессор, доктор медицинских наук,  
член-корреспондент РАН по специальности  
3.1.26. - Фтизиатрия

 Марьяндышев Андрей Олегович

Подпись профессора А.О. Марьяндышева  
заверяю:

Ученый секретарь ученого совета  
Федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего  
образования «Северный государственный  
медицинский университет», Министерства  
здравоохранения Российской Федерации кандидат  
медицинских наук, доцент

 Бондаренко Елена Георгиевна.

Адрес: пр. Троицкий 51, г. Архангельск, 163061  
телефон: +78182 28 57 91 e-mail: info@nsmu.ru

21.11.2022

