

РЕЦЕНЗИЯ

на диссертационную работу Колосковой Е.А.:

«Характеристика серотипов *Streptococcus pneumoniae*, циркулирующих на отдельных территориях Республики Казахстан среди носителей и больных пневмококковой инфекцией», предоставленную на соискание степени PhD
(Специальность 6D110100 – Медицина)

1. Актуальность темы исследования и ее связь с общественными и общегосударственными программами (запросами практики и развития науки и техники.

Актуальность выбранной диссертационной работы подтверждается высокими цифрами заболеваемости и смертности детей раннего возраста в результате пневмококковой инфекции. Безусловный интерес представляет оценка роли условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) в развитии гнойно-воспалительных заболеваний (ГВЗ) дыхательных путей [Авдеев С.Н, Чучалин А.Г. 2000; Синопальников А.И. 2001; Яковлев С.В. 2002]. *Streptococcus pneumoniae* – микроорганизм, является лидирующим этиологическим агентом развития целого ряда неспецифических воспалительных заболеваний: пневмоний, менингитов и острых средних отитов [Ермолина Г.Б., 2013]. Особенности инфекционных процессов, вызванных УПМ, существенно изменяют проведение и оценку микробиологических исследований по сравнению с исследованиями при заболеваниях, вызванных истинно патогенными микробами. Отсутствие полных данных об этиологической структуре и биологических свойствах возбудителей, смене микробного пейзажа при заболеваниях дыхательной системы приводит к низкой эффективности консервативного лечения, что актуализирует данную проблему.

В настоящее время ВОЗ выделяет две глобальные причины детской смертности во всем мире – пневмония и диарея, и рекомендует в качестве одного из основных компонентов стратегии сокращения детской смертности иммунизацию против пневмококковой инфекции. Несмотря на широкую изученность проблемы, до сих пор существует интерес к изучению биологических свойств *S. pneumoniae*, обуславливающих наряду с развитием заболевания и длительную их персистенцию в организме пациента. Результаты исследований клинической микробиологии должны соответствовать современным требованиям клиники и эпидемиологии с учетом расширения спектра микроорганизмов и их адаптационных возможностей, молекулярно-генетической характеристики штаммов пневмококков для алгоритмизации совместных исследований, с позиции взаимодействия двух дисциплин: эпидемиологии и микробиологии. По сведениям новой Глобальной системы по надзору за устойчивостью к противомикробным препаратам (GLASS) ВОЗ, *S. pneumoniae* признана одним из самых распространенных резистентных микроорганизмов, усиливающих интерес к изучению не только биологических свойств патогена в каждой стране мира, но восприятие его как потенциально опасного «госпитального» этиопатогена особенно у детей раннего возраста.

Внедрение вакцинации против пневмококковой инфекции в Казахстане основывалось на положительном опыте зарубежных стран, однако до сих пор в Республике минимизированы опубликованные официальные данные о распространенности пневмококковых заболеваний и циркуляции лидирующих серотипов штаммов *S. pneumoniae*, несмотря на проводимую вакцинацию против пневмококковой инфекции; не проводится официальная статистическая регистрация пневмококковой инфекции как вакциноуправляемой, что затрудняет мониторингирование в группах риска для оптимизации эпидемического надзора в РК.

В данной связи диссертационное исследование проведено органично взаимосвязанных дисциплин – эпидемиологии и микробиологии, и затрагивает ряд актуальных вопросов современной медицины Казахстана, решая важные прикладные задачи здравоохранения.

2. Научные результаты в рамках требований к диссертациям (пп. 2.5.6 "Правил присуждения ученых степеней" и паспортов соответствующих специальностей научных работников).

Данная диссертационная работа является квалифицированным научным трудом, и результаты, полученные в рамках этого исследования, соответствуют требованиям Правил присуждения ученых степеней приказа Министра образования и науки Республики Казахстан № 226 от 18 мая 2012 года и 214 от 30 мая 2013 года, Приложения 1 № 127 от 31 марта 2011 года (пп. 2,5, 6).

Диссертация изложена в традиционной форме, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, собственных исследований, включающих эпидемиологический анализ и собственные микробиологические исследования, обсуждение полученных результатов и заключения.

Во введении автором четко раскрыта актуальность данной работы для мирового здравоохранения, в том числе для Республики Казахстан. Автором четко конкретизированы цель и задачи исследования, сформулированы пункты научной новизны, практическая значимость и положения, выносимых на защиту.

В обзоре литературы автором продемонстрирована актуальность выбранной темы, которая выражена в детальном и качественном анализе зарубежных источников по распространенности пневмококковых инфекций и пневмококкового бактерионосительства. Освящен вопрос диагностики пневмококковой инфекции с использованием разных методов, включая классический микробиологический, а также современный метод молекулярной диагностики – ПЦР. В разделе значение серотипов при разных клинических формах пневмококковой инфекции четко продемонстрирована связь между конкретным серотипом и клинической формой пневмококковой инфекции, а также показана связь между циркулирующими серотипами и изучаемой территорией страны. Кроме того, в литературном обзоре освещена проблема изученности биологических свойств возбудителя: противоречивость данных авторов в работах, посвященных адгезивной активности, синтеза биопленок показывает необходимость тщательного изучения этого вопроса. Особую приоритетность имеет освещение проблемы антибиотикорезистентности штаммов *S. pneumoniae*, которые включены в группу патогенов ВОЗ, в отношении них требуется немедленная разработка антибактериальных средств.

Из главы «Материалы и методы» понятно, что данная работа выполнена в рамках научно-технического проекта «Мониторинг циркуляции серотипов *S. pneumoniae* на различных территориях Республики Казахстан и проведена оценка эффективности проводимой вакцинации против пневмококковой инфекции» при финансовой поддержке ООО «Вакцинология». В главе продемонстрирован дизайн исследования, сформулированы критерии включения и исключения в соответствии с международными стандартами диагностики, указан объем собственных бактериологических исследований с указанием всех микробиологических методик, используемых в работе.

В основу диссертационной работы была положена интеграция двух дисциплин – микробиологии и эпидемиологии, что показано в двух главах собственных исследований: эпидемиологического анализа пневмококк-ассоциированных заболеваний и изучения распространенности пневмококковых заболеваний в возрастной группе до 5 лет в регионе без вакцинации, а также назофарингеального носительства у детей до 2 лет в областях с разной длительностью вакцинации против пневмококковой инфекции, с последующим изучением серотипов выделенных штаммов *S. pneumoniae*, и их биологических свойств.

В работе дана детальная характеристика примененных современных статистических методов, описание построения прогноза развития эпидемиологической ситуации, расчет статистических показателей и определение потенциала серотипа вызывать пневмококковые заболевания в результате носительства.

Проведенное исследование изложено в следующих результатах:

1) Проведением эпидемиологического анализа рубрик младенческой смертности, смертности детей 1-го года жизни от ОРВИ, гриппа и пневмоний, заболеваемости пневмониями детей 1-го года и 5 лет жизни, заболеваемости болезнями уха и сосцевидного отростка и заболеваемости другими бактериальными менингитами был выявлен косвенный положительный эффект проводимой вакцинации против пневмококковой инфекции, который был выражен в результатах темпов снижения в анализируемых регионах до и после начала вакцинации, а также по данным статистически значимых различий среднесуточных показателей в периоды до и после начала вакцинации в Республике в рубриках «Младенческая смертность», «Смертность детей 1-го года от ОРВИ, гриппа и пневмоний», «Болезни уха и сосцевидного отростка» в особенности в Карагандинской области ($p < 0,05$) с выявлением достоверной тенденции к снижению младенческой смертности ($R^2 = 0,7502$) и смертности детей 1-го года от ОРВИ, гриппа и пневмоний ($R^2 = 0,9037$). Составленный прогноз развития ситуации при отсутствии вакцинации в стране демонстрирует ухудшение эпидемиологической ситуации в связи с увеличением показателей смертности и заболеваемости в указанных рубриках.

2) Второй результат показывает впервые установленную частоту носительства *S. pneumoniae* у детей в возрасте до 2 лет до и после начала вакцинации против пневмококковой инфекции в г. Алматы и г. Караганда и демонстрирует изменение циркуляции серотипов на фоне проводимой вакцинации: элиминация эпидемиологически значимых штаммов и появление невакцинных серотипов.

3) Впервые установлена доля *S. pneumoniae* в развитии значимых клинических форм в педиатрической практике: 21,1% в этиологической структуре пневмоний, 24,1% в этиологии отитов, в 35,1% случаев обструктивных бронхитов выделен *S. pneumoniae*, а также впервые установлен потенциал развития пневмококковых заболеваний у серогруппы 10F/C/33C, характерной для определенных регионов Казахстана.

4) Впервые в Казахстане изучены свойства выделенных штаммов *S. pneumoniae*, обусловленные персистирующим потенциалом и способностью к развитию пневмококковых заболеваний: адгезия, синтез биопленки, образование капсул и антибиотикочувствительность.

5) Проведено сравнение двух методов лабораторной диагностики, которые продемонстрировали высокую информированность и взаимодополняемость.

6) Путем сравнения выделения штаммов *S. pneumoniae* до и после начала вакцинации была установлена эффективность проводимой вакцинации и обоснована необходимость ее продолжения.

7) Внедрение методик диагностики пневмококковой инфекции в бактериологические лаборатории г. Алматы и г. Караганда показывают высокую практическую ценность проведенного исследования.

Достаточный уровень выполнения диссертационного исследования обеспечен руководством трёх ведущих специалистов в области изучения пневмококковой инфекции: доктора медицинских наук, профессора Рамазановой Б.А., доктора медицинских наук, профессора Сидоренко С.В. и MD, PhD, FIDSA Heinz-Josef Schmitt

Таким образом, тема диссертации соответствует одному из приоритетных направлений современной медицины Республики Казахстан и способствует решению ключевых задач государственных программ по снижению заболеваемости и смертности детей раннего возраста («Денсаулық 2016-2020»).

3. Степень обоснованности научных положений, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Степень обоснованности и достоверности полученных результатов объясняется соответствием решенных задач, цели, сформулированных выводов, соответствующих поставленным задачам и практических рекомендаций к содержанию диссертации, а также

широкой выборкой объектов исследования (1800 детей), использованием современных микробиологических, молекулярно-генетических методов исследования (ПЦР-диагностика и ПЦР-серотипирование), статистической обработки результатов, анализом литературных источников.

4. Степень новизны каждого научного положения, выводов и рекомендаций. Практическая значимость результатов исследования

Степень новизны представленного научного труда заключается в том, что изучение пневмококковой инфекции и биологических свойств возбудителя на территории современного Независимого Казахстана проведено впервые за последние 20 лет.

Автором впервые на основе ретроспективного анализа за десятилетний период была дана характеристика динамики показателей заболеваемости и смертности от заболеваний, ассоциированных с пневмококком среди детей до 5 лет, в Республике Казахстан; представлен сравнительный анализ двух регионов с разной историей вакцинации против пневмококковой инфекции (Алматы и Карагандинская области) с соответствующим прогнозом развития эпидемиологической ситуации.

В соответствии с актуальностью проблемы, автором в двух регионах Республики Казахстан, впервые на большом фактическом материале, установлены циркулирующие штаммы *S. pneumoniae*, в том числе эпидемиологически значимые (включенные в конъюгированные вакцины), и доказана эффективность проводимой вакцинации против пневмококковой инфекции. Кроме того, автором изучены биологические свойства выделенных штаммов *S. pneumoniae* на фоне проводимой иммунизации, включая их персистентный потенциал: адгезивная активность, способность к формированию биопленок, степень резистентности штаммов к антибиотикам, рекомендованным зарубежными экспертами в соответствии с международными стандартами.

Вопрос пневмококковой инфекции проанализирован разносторонне, учтены все существенные факторы и получены научно-обоснованные результаты:

1) Выявлена тенденция к фактическому снижению показателей в рубриках «Младенческая смертность», «Заболеваемость пневмониями детей 1 и 5 лет жизни», «Болезни уха и сосцевидного отростка» на фоне вакцинации.

2) Установлена частота пневмококкового бактерионосительства в регионах с разной длительностью проводимой вакцинации и были идентифицированы циркулирующие серотипы штаммов *S. pneumoniae* с их динамикой на ее фоне.

3) Установлена доля пневмококка и его серотипов как этиологического агента в развитии пневмоний, острых средних отитов и частоты выделяемости при острых обструктивных бронхитах.

4) Выявлена уникальная для Республики Казахстан серогруппа 10F/C/33C с достоверно значимым потенциалом вызывать пневмококковые заболевания.

5) Изучены биологические свойства штаммов *S. pneumoniae*, которые обеспечивают их сохранение в окружающей среде и реализацию потенциальной способности вызывать пневмококковые заболевания за счет адгезии, биопленкообразования и антибиотикорезистентности.

6) Проведенная сравнительная оценка характеристик двух методов выделения *S. pneumoniae* – классического микробиологического и современного метода – ПЦР, позволяет выявить высокий процент совпадений

7) Обоснована микробиологическая эффективность проводимой вакцинации в двух регионах РК.

Данная работа представляет интерес с научной точки зрения, а также имеет практическую ценность по применению результатов исследования в организациях здравоохранения Республики Казахстан.

1. Разработанные методические рекомендации по забору клинического материала и его лабораторной диагностики на пневмококковую инфекцию внедрены в

медицинские учреждения РК. Полученные своевременные данные о распространенности заболеваний пневмококковой этиологии среди детей до 5 лет (пневмонии, острые средние отиты и обструктивные бронхиты), обосновывают достоверность проведения микробиологического мониторинга, а также диктуют необходимость статистической регистрации пневмококковых инфекций.

2. Применение методики ПЦР-идентификации *S. pneumoniae* как в клиническом материале, так и в чистой культуре с последующим его ПЦР-серотипированием в бактериологических лабораториях позволяет получать данные о смене серотиповой циркуляции штаммов *S. pneumoniae* с выявлением доминирующих вариантов для оценки эффективности проводимой вакцинации против пневмококковой инфекции.

3. Разработанный триплет может быть использован в дальнейшем для проведения санитарно-просветительной работы среди населения по вопросам профилактики пневмококковых инфекций в детской популяции. Полученные результаты настоящего исследования способны оказаться одним из ключевых звеньев в достижении целей и задач Государственных программ здравоохранения Республики Казахстан

5. Оценка внутреннего единства полученных результатов.

Диссертационная работа Колосковой Екатерины Александровны представляет единое целое, логически выстроена и представлена в виде развернутого доказательства положений, вынесенных на защиту. Главы диссертаций представлены как основные структурные единицы текста. Каждая из них направлена на решение поставленных цели и задач. Они взаимосвязаны между собой и систематизированы, в дальнейшем логически обосновывают сделанные выводы и практические рекомендации, которые аргументированы, конкретизированы и вытекают из существа выполненной работы. В работе грамотно проанализированы литературные источники в количестве 219 ссылок, из них 166 - иностранные; использованные современные методы диагностики обеспечивают объективность полученных результатов. Прилагаемый иллюстрационный материал (схемы, таблицы, графики, фотографии) четко представляет результаты выполненной работы.

В целом, работа написана на достаточно академичном, высоко исследовательском уровне, ее отличает грамотность изложения и легкость восприятия.

6. Направленность полученных соискателем результатов на решение соответствующей актуальной проблемы, теоретической и прикладной задач.

Результаты проведенного исследования имеют теоретико-практическую значимость для врачей различного профиля. Результаты, сделанные выводы и практические рекомендации направлены на решение одной из актуальных проблем современной медицины Казахстана. Итоги работы предусматривают дальнейшее проведение углубленных исследований по проблемам пневмококковой инфекции и использование в как в практическом здравоохранении, так и в образовательных медицинских учреждениях Республики. Достоверность полученных результатов подтверждается проведенным статистическим анализом. Практическая ценность и направленность выполненной работы не вызывает сомнений.

7. Подтверждение достаточной полноты публикаций основных положений, результатов, выводов диссертации.

По материалам диссертационной работы было опубликовано 12 работ, из которых 4 – в журналах, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК, 1 публикация в журнале, индексируемом в базе данных Scopus, 5 публикаций в материалах международных зарубежных конференций, индексируемых в базах данных РИНЦ, Scopus и Conference Proceedings Citation Index by Thomson Reuters, одно методическое пособие и информационный буклет для родителей. Получено 4 акта

внедрения в практическое здравоохранение. Основные результаты диссертации были доложены на семи международных научно-практических конференциях.

8. Недостатки по содержанию и оформлению диссертации

В целом работа представляет законченный научный труд. Несмотря на положительный отзыв имеется ряд вопросов и предложений:

Вопросы:

1. Встречались ли среди выделенных штаммов *Streptococcus pneumoniae* авирулентные штаммы (например, безкапсульные) и с измененными фенотипическими свойствами (R-формы колоний)?
2. Чем Вы объясняете достаточно большой процент нетипируемых штаммов в исследовании, несмотря на применение высокочувствительного современного метода исследования – ПЦР?
3. С чем Вы связываете снижение выделения штаммов *S. pneumoniae* бактериологическим методом после начала вакцинации?
4. При каких нозологических формах был идентифицирован выделенный Вами «уникальный» штамм 10F/C/33C: Были ли изучены его биологические свойства?
5. Как Вы считаете, каков потенциал нетипируемых штаммов в развитии пневмококковых заболеваний?
6. Чем Вы объясните высокий процент адгезивной активности штаммов пневмококка, выделенных из носоглотки в сравнении со штаммами, выделенных при острых средних отитах?

Предложения:

1. Таблица 5 раскрывает состав использованных в работе праймеров, что представляет интерес для молекулярной диагностики. Было бы верным вынести таблицу в приложения.
2. В настоящей диссертации замечены единичные опечатки.
3. В научной новизне пункт 3 – «Впервые в Казахстане были изучены биологические свойства выделенных штаммов *S. pneumoniae*...» предлагается иная формулировка как «изучен персистирующий потенциал выделенных штаммов *S. pneumoniae*».

Вынесенные замечания носят рекомендательный характер и не влияют на общую положительную оценку работы.

9. Соответствие диссертации предъявляемым требованиям "Правил присуждения ученых степеней" Комитета по контролю в сфере образования и науки МОН РК.

Диссертационная работа Колосковой Екатерины Александровны соответствует требованиям «Правил присуждения ученых степеней» Комитетом по контролю в сфере образования и науки Министерства образования Республики Казахстан, а сам автор заслуживает присуждения искомой степени доктора по профилю 6D110100 – Медицина

Заведующий кафедрой:
«Гигиены, эпидемиологии,
микробиологии» КазМУНО,
к.м.н., доцент:

