

исх. № 4 от 19.03.2018 г.

## РЕЦЕНЗИЯ

на диссертационную работу Колосковой Екатерины Александровны на тему  
«Характеристика штаммов *Streptococcus pneumoniae*, циркулирующих на отдельных  
территориях Республики Казахстан среди носителей и больных пневмококковой  
инфекцией» по специальности 6D110100 – Медицина

### 1. Актуальность темы исследования

Диссертация посвящена изучению свойств *Streptococcus pneumoniae*, как наиболее частого этиологического фактора развития тяжелых инфекционных заболеваний у детей с высоким уровнем неблагоприятного исхода. Так, по данным ВОЗ, *Streptococcus pneumoniae* – причина часто встречающихся инфекций респираторного тракта у детей до 5 лет. Несмотря на то, что эту бактерию впервые обнаружили более 100 лет назад, до сих пор существуют сложности в культивировании пневмококка и определении его биологических свойств, приводящих к развитию болезни и длительной персистенции возбудителя в организме человека.

До настоящего времени в Республике Казахстан отсутствует развернутая эпидемиологическая картина по пневмококковой инфекции, так как лабораторная диагностика осуществляется лишь в рамках постановки диагноза. Довольно часто практическая медицина диагностирует то или иное инфекционное заболевание без идентификации возбудителя, и тем более без определения его серотипа.

Значение диагностики сероварианта в масштабах страны определяет тактику иммунизации населения против пневмококковой инфекции, т.е. создание и внедрение «подходящей» вакцины. Штаммы, выделенные от здоровых носителей, так же могут иметь высокий уровень резистентности к антибиотикам, но в тоже время, служат источником горизонтального распространения инфекции среди людей, поддержания ее на высоком уровне и формирования антибиотикорезистентности. Например, по данным разных авторов, *Streptococcus pneumoniae* является причиной более 80% пневмоний, при этом около 90% внутригоспитальной пневмококковой инфекции вызывается антибиотикорезистентными возбудителями. Антибиотикорезистентность на сегодня является одной из глобальных проблем мировой медицины, так как ежегодная летальность составляет 700 000 смертей среди всех возрастных категорий, а прогнозируемая учеными смертность к 2050 году составит почти 10 млн. человек. Частое назначение врачами антибиотиков, бесконтрольное использование пациентами, привело на седьмом десятии их применения к появлению «супербактерий» рефрактерных к большому спектру антибактериальных препаратов. Поэтому внедрение вакцинации против пневмококковой инфекции на основе доказательства является действенным механизмом контроля снижения уровня смертности и заболеваемости среди детей раннего возраста, а также «здорового», но небезопасного бактерионосительства.

В связи с этим тема исследования является актуальной как с позиции фундаментальной медицины, так как в результате диссертационного исследования определены микробиологические и молекулярно-генетические характеристики штаммов *Streptococcus pneumoniae* с учетом географии страны. Актуальность темы подтверждена демонстрацией значимости и эффективности разных методов идентификации возбудителя и определением антибиотикоустойчивости штаммов *Streptococcus pneumoniae* до и после вакцинации. Всю очередь прикладное значение темы диссертации определяет важность иммунизации детского населения и выбор рациональной фармакотерапии пневмококковых заболеваний.

## **2. Научные результаты в рамках требований к диссертации**

Весь объем работы по данному исследованию выполнен самим докторантом при научном консультировании д.м.н., проф. Рамазановой Б.А. (Казахстан) и зарубежных консультантов д.м.н., проф. Сидоренко С.В. (Россия), Heinz-Josef Schmitt, MD, PhD, FIDSA (Fellow Infectious Disease Society of America).

Исследование выполнялось в рамках научно-технического проекта «Мониторинг циркуляции *Streptococcus pneumoniae* на отдельных территориях Республики Казахстан и оценка эффективности проводимой вакцинации против пневмококковой инфекции» (в период 2014-2016 гг.) и одобрено Локальной этической комиссией Казахского национального медицинского университета.

Тема диссертации, цель и задачи, соотношение их с дизайном исследования и методологической основой, практический выход, подтверждают соответствие исследования специальности 6D110100 – Медицина.

Результаты, достигнутые докторантом, нашли отражение в «положениях, выносимых на защиту» и соответствуют требованиям Правил присуждения ученых степеней, утвержденных приказом Министра образования и науки Республики Казахстан от 13 мая 2011 года № 6951.

Научная новизна работы включает 4 пункта, в которых отражены основные достижения, полученные докторантом. Не вызывает сомнения, что все 7 выводов получены на основе продуманной тактики исследования, большом материале (1800 детей), современных методах диагностики, а практические рекомендации успешно внедрены в лабораторную и практическую медицину для улучшения диагностики пневмококкового бактерионосительства, повышения чувствительности и специфичности выделения возбудителя из исходного материала и достоверности бактериологической идентификации в спорных случаях. Статистические данные по пневмококковой инфекции у детей Казахстана и научно-методологические подходы определения серогрупп патогена внедрены в образовательный процесс медицинского университета. Основные положения диссертации были озвучены на 7-ми международных и республиканских форумах, что подчеркивает достоверность данного фундаментального труда.

Основные положения проведенного диссертационного исследования изложены в следующих результатах:

*Результат 1* демонстрирует показатель достоверного снижения уровней младенческой смертности, заболеваемости детей 1 и 5 лет жизни, болезней уха и носоглоточного отростка у детей на фоне проводимой вакцинации против пневмококковой инфекции. Данный результат получен благодаря впервые проведенному ретроспективному эпидемиологическому анализу среднесрочных показателей в периоды 2005-2010 гг. и 2011-2015 гг. по всем регионам Казахстана.

*Результат 2* впервые показывает частоту пневмококкового бактерионосительства у детей <2 лет до и после вакцинации. При этом у детей г. Алматы после вакцинации отмечена элиминация вакцинных штаммов 3, 4, 7F, 9V/A, 19A и тенденция к снижению частоты серотипов 6B, 6ABC, хотя до вакцинации уровень носительства составлял 15,6%. У детей г. Караганды уровень носительства патогена был всего 4,7%, так как на момент

исследования вакцинация проводилась 3 года и выявлена элиминация вакцинного штамма 23F, снижение частоты 19F с появлением серотипов 6В, 6АВС и 19А. Эти данные говорят в пользу необходимости выявления бактериносительства у детей и взрослых и проведения всесторонней вакцинации против пневмококковой инфекции.

*Результат* Завляется новым и свидетельствует о значимости *Streptococcus pneumoniae* в развитии пневмонии (21,1%), острых средних отитов (24,1%), обструктивных бронхитов (35,1%) и роли уникальной для Казахстана серогруппы 10F/C/33С с потенциалом патогенности в отношении развития пневмококк-ассоциированных заболеваний у детей. Таким образом, лабораторные диагносты и клиницисты могут ориентироваться на серотипические особенности пневмококка и ожидать появление пневмококк-ассоциированных заболеваний.

*Результат 4* получен при изучении выделенных штаммов *Streptococcus pneumoniae* у детей, с получением данных о его патогенных свойствах, а, именно, адгезии, образовании капсулы и формировании биопленки. Интересен и новый факт, что наиболее высокие адгезивные качества обнаружены у патогена, выделенного из носоглотки (50±16%). Это имеет практическую значимость при диагностике бактериносительства и его роли в сохранении высокого уровня пневмококковой заболеваемости у детей. Ранее известные данные о резистентности *Streptococcus pneumoniae* к ряду антибиотиков, в выводах докторанта получили новую характеристику, в частности, выделенный у детей группы исследования «казахстанский» штамм пневмококка, к сожалению, не «реагирует» на антибиотики в прошлом наиболее часто использованные в клинической практике (пенициллины, тетрациклин, триметоприм) и «чувствует» антибиотики группы резерва (рифампицин, фторхинолоны, ванкомицин).

*Результат 5* свидетельствует о взаимодополняющих качествах бактериологического и молекулярно-генетического (ПЦР) методов исследования свойств *Streptococcus pneumoniae* с высокой степенью достоверности и совпадения результатов при пневмониях, обструктивных бронхитах и бактериносительстве пневмококка.

*Результат 6* отметил разницу в уровне выделения *Streptococcus pneumoniae* у детей в до- и поствакцинальный период с изменением композиции вакцинных и невакцинных штаммов пневмококка в гг. Алматы и Караганда. Этим самым обосновывается актуальность и необходимость проведения иммунизации детей раннего возраста и групп риска по развитию пневмококковых заболеваний.

*Результат 7* отражает практическую ценность диссертационного исследования в плане внедрения в двух лабораториях страны (гг. Алматы, Караганда) международной схемы выделения пневмококка и его серогрупп, позволяющей своевременно получить данные по циркуляции актуальных серотипов патогена в конкретном регионе республики. Данный методологический подход необходимо внедрить в других лабораториях Казахстана.

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

Результатом диссертационного исследования явилось определение: 4 пунктов научной новизны и 3 положений, 7 выводов, что соответствует 7 поставленным задачам исследования, разработка 4 практических рекомендаций.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов, рекомендаций, предложенных в диссертационной работе, обусловлена проведенным автором проспективным нерандомизированным мультицентровым эпидемиологическим и микробиологическим исследованием. Всего обследовано 1800 детей. На первом этапе обследовано 300 детей, в том числе 30 с гнойными менингитами, 109 с рентген-подтвержденной пневмонией, 77 с обструктивными бронхитами, 83 пациента острым средним отитом. Изучался разный биоматериал – кровь, мазок из носоглотки, жидкость среднего уха, мокрота, ликвор. Второй этап включал оценку распространенности

пневмококкового бактерионосительства у 1500 здоровых детей < 2-х лет до и после начала вакцинации в крупных городах республики Алматы и Караганда в рамках научно-технического проекта «Мониторинг циркуляции Streptococcus pneumoniae на отдельных территориях Республики Казахстан и оценка эффективности проводимой вакцинации против пневмококковой инфекции» (в период 2014-2016 гг.).

Предложенные автором научные и практические результаты основаны также на ретроспективном эпидемиологическом анализе, анализе многолетней динамики разных статистических показателей в контексте пневмококковой инфекции, изучении достаточного объема научных источников по эпидемиологической ситуации в мире и стране в отношении пневмококковой инфекции, проблемам идентификации того или иного серотипа бактерии и связи его с тяжестью заболеваний или формирования назофарингеального бактерионосительства у детей до 5 лет.

*Научная новизна 1* вытекает из объемного ретроспективного анализа за десятилетний период и позволяет впервые охарактеризовать динамику показателей заболеваемости и смертности от заболеваний, ассоциированных со Streptococcus pneumoniae в стране с целью прогнозирования эпидемиологической обстановки на фоне наличия или отсутствия вакцинации против пневмококковой инфекции у детей.

*Научная новизна 2* основывается на большом фактическом материале как ретроспективного, так и проспективного изучения циркуляции патогенных серотипов пневмококка с обнаружением именно невакцинных штаммов, что свидетельствует с пользой необходимости вакцинопрофилактики.

*Научная новизна 3* опирается на продуманный дизайн исследования и высокотехнологичные методы диагностики в результате которых получены уникальные серотипы Streptococcus pneumoniae (10F/C/33C), характерные для детей Казахстана. Это в свою очередь несет практическую ценность, так как этот серотип имеет потенциал развития пневмококковой инфекции.

*Научная новизна 4* обоснована результатами углубленного изучения разных серотипов патогена, выделенных у детей Казахстана с учетом проводимой иммунизации, с применением микробиологических и молекулярно-генетических методов диагностики.

Полученные результаты не вызывают сомнений, так как диссертант имеет советующую квалификацию и владеет навыками сбора и подготовки биоматериала к исследованию. Референс-штамм Streptococcus pneumoniae был предоставлен вторым научным консультантом докторанта проф. Сидоренко С.В. (ФГБУ «Научно-клинический центр инфекционных болезней у детей Федерального Медико-биологического агентства» г. Санкт-Петербург, РФ).

#### **4. Степень новизны каждого научного положения, выводов и рекомендаций, практическая значимость результатов исследований**

В диссертации вынесено 3 Положения, определяющие актуальность, новизну и значимость данного исследования для фундаментальной и прикладной медицины.

Результат, сформулированный в *положении 1*, обладает новизной, так в результате анализа многолетней динамики младенческой смертности, и смертности детей от пневмококк-ассоциированных заболеваний, а так же ретроспективного анализа распространённости заболеваний, вызванных Streptococcus pneumoniae, возможно с большой долей вероятности прогнозировать положительную динамику эпидситуации по пневмококковой инфекции на фоне продолжения вакцинации. Результаты исследований по г. Алматы и г. Караганды позволяют экстраполировать полученные данные на все регионы Казахстана. Обоснование новизны положения 1 основывается на охвате анализом показателя младенческой смертности по всем областям РК до введения вакцинации и после. Это заключение вытекает из того, что, несмотря на внедрение в РК несколько лет назад вакцинации от пневмококковой инфекции, до настоящего времени не

ведется официальная регистрация и мониторинг вакциноуправляемых пневмококковых инфекций.

*Положение 2* свидетельствует о новизне результата, так как это первое в Республике Казахстан исследование серотипового пейзажа *Streptococcus pneumoniae* и его динамики в разных биологических средах детей, что дает стимул для дальнейшего изучения патогена в других регионах Казахстана. Научная новизна положения и в том, что выявлен уникальный для РК серотип пневмококка, свидетельствующий об эффективности антипневмококковой вакцинации. Следовательно, имеется высокая степень новизны данного научного положения.

*Положение 3* содержит элементы новизны, так как примененный автором комплекс «классических» бактериологических и молекулярно-генетических методов диагностики серотипов патогена проводится многими исследователями, но в отношении выявления пневмококка у детей в разных биосредах до и после вакцинации ранее не одушевлялось. В результате этого автор объясняет тенденцию к развитию разных клинических форм пневмококковой инфекции у детей раннего и дошкольного возраста, а также причину бактерионосительства *Streptococcus pneumoniae*.

Каждый из 7-ми выводов соответствует поставленной задаче и вытекает из научно-обоснованного подхода к выполнению научной работы. Выполнение работы в рамках научного проекта обеспечило высокий уровень и качество проводимого исследования. Диссертантом применены современные микробиологические и молекулярно-генетические методы исследования, включая ПЦР-серотипирование с помощью наборов «АмплиСенс ДНК-сорб» и «АмплиСенс PCR» (Россия). Результаты статистически обработаны.

Практическая значимость работы бесспорна и направлена на решение важной прикладной задачи – улучшение диагностики пневмококковой инфекции, оценки эффективности проводимой вакцинации у детей и распространению знаний о данной проблеме среди населения страны.

Практические рекомендации данной диссертации включают обоснованный лабораторный алгоритм забора биологического и клинического материала, изучение биологических свойств пневмококка и его профиля антибактериальной резистентности с целью получения своевременных данных о распространенности заболеваний пневмококковой этиологии и проведения микробиологического и медико-генетического (ПЦР-идентификация) мониторинга на фоне вакцинопрофилактики. Автором разработано, издано и распространено в медицинские учреждения Республики Казахстан методическое пособие «Лабораторная диагностика пневмококковой инфекции».

Докторантом обоснован и практически реализован санитарно-просветительский подход в работе с населением по вопросам профилактики пневмококковой инфекции, особенно у детей, в частности роль вакцинопрофилактики и необходимости создания популяционного иммунитета. С этой целью разработана информационный буклет (триплет) для родителей и разместила его в поликлиниках г.Алматы и г.Караганды.

## **5. Оценка внутреннего единства полученных результатов**

Диссертация Колосковой Е.А. обладает внутренним единством, логикой изложения, начиная с постановки целей, определения задач и содержания обзора литературы, заканчивая обсуждением результатов собственных исследований и практическими рекомендациями. Структура диссертационной работы обеспечила возможность достижения диссертантом поставленных цели и задач исследования. Каждый последующий раздел научной работы плавно вытекает из предшествующей главы.

Диссертация написана на достаточно высоком исследовательском уровне с применением высокотехнологичным методов диагностики патогена, материал изложен последовательно и легко воспринимается при прочтении.

Всего в диссертационном исследовании 5 глав объемом 143 стр. (без учета приложений), в том числе такие авторские разделы, как «Анализ многолетней динамики

младенческой смертности, смертности от пневмонии, заболеваемости пневмонией, острыми средними отитами и менингитами, до и после начала специфической иммунизации против пневмококковой инфекции в Республике Казахстан» и глава «Микробиологические и клинико-эпидемиологические характеристики пневмококковой инфекции у детей до 5 лет наотельных территория РК». Список литературы состоит из 219 источников, в том числе более половины зарубежных. Диссертация сопровождается качественным иллюстративным материалом, диаграммами, таблицами, приложениями, содержит иллюстрации в виде цветных фотографий, схем, таблиц.

При проведении исследования соблюдены требования и регламенты нормативной документации и стандартов, утвержденных Правительством Республики Казахстан и Министерства Здравоохранения Республики Казахстан.

В процессе изложения диссертантом официальной статистики по заболеваемости, эпидемиологии пневмококковой инфекции в мире, характеристики разных методов идентификации бактерии и опыта вакцинации в разных странах мира, не выявлено каких-либо разночтений или неправильной интерпретации.

Диссертационное исследование Колосковой Е.А. представляет собой целостную и содержательную работу, выполненную с использованием достаточного объема теоретического и практического материала.

#### **6. Направленность полученных результатов на решение соответствующей актуальной проблемы, теоретической и прикладной задачи**

Результаты диссертационного исследования имеют несомненную теоретико-практическую значимость. Содержащиеся в диссертации заключения и практические рекомендации могут быть полезны как для проведения углубленных исследований по распространённости разных штаммов и серотипов *Streptococcus pneumoniae* в популяции с обязательной оценкой антибиотикорезистентности, так и для мониторинга эффективности вакцинации против пневмококковой инфекции. Полученные данные могут с успехом применяться в образовательном процессе для всех категорий обучающихся (студенты, интерны, магистранты, резиденты) медицинских учреждений и научно-исследовательских институтов.

Значение результатов диссертационного исследования в использовании данных аналитического обзора по эпидемиологии пневмококковых инфекций (ПИ), распространённости инвазивных и неинвазивных ПИ, факторах риска бактерионосительства *Streptococcus pneumoniae*, микробиологических и молекулярно-генетических характеристик патогена, опыта применения вакцин против ПИ, и в особенности, рекомендаций и выводов по фактическому материалу при разработке лекционного материала, учебных пособий, программы семинарских и практических занятий, составлению кейсов по дисциплинам «микробиология», «пульмонология», «клинико-лабораторная диагностика» и другим.

Полученные результаты отвечают критериям актуальности, статистической достоверности, научной новизны и практической значимости диссертации, что подтверждается документально выводами, достигнутыми диссертантом, творческим подходом к исследованию, а также очевидностью ее практической направленности.

В целом полученные докторантом Колосковой Е.А. результаты способствуют решению эпидемиологических и клинических задач, а также развитию лабораторной диагностики и профилактики антибиотикорезистентности при лечении пневмококк-ассоциированных заболеваний у детей.

#### **7. Подтверждение достаточной полноты публикаций основных положений, результатов, выводов и заключения диссертации**

Диссертантом выполнены требования пункта 7 «Правил присуждения ученых степеней», утвержденных приказом Министра образования и науки Республики Казахстан

от 31 марта 2011 года № 127 (с учетом Приказа Министра образования и науки Республики Казахстан от 25 июля 2016 года № 4680 внесении изменений в приказ Министра образования и науки Республики Казахстан от 31 марта 2011 года № 127 «Об утверждении Правил присуждения ученых степеней»).

Основные выводы и предложения диссертационного исследования опубликованы в 12 (двенадцати) работах, в том числе: 4 - в изданиях, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК, 1 - в журнале, индексируемом Scopus, 5 - в материалах международных конференций (индексируются РИНЦ, Scopus и Conference Proceedings Citation Index by Thomson Reuters). Автором разработано методическое пособие «Лабораторная диагностика пневмококковой инфекции» и информационный буклет для родителей. Имеется 4 (четыре) Акта внедрения в практическое здравоохранение: «Методика взятия мазка из носоглотки для диагностики пневмококкового бактерионосительства», «Методика ПЦР-идентификации *Streptococcus pneumoniae* из исходного материала и чистой культуры», «Методика ПЦР-серотипирования *Streptococcus pneumoniae* из исходного материала и чистой культуры».

В процессе выполнения диссертации и по ее завершению, диссертант выступила с результатами на 7-ми республиканских и международных конференциях, конгрессах и съездах.

#### **8. Недостатки по содержанию и оформлению диссертации**

Содержание и оформление диссертации полностью соответствует предъявляемым требованиям. Однако наряду с достоинствами исследовательской работы имеются отдельные недостатки, которые носят дискуссионный характер и в целом не меняют моей положительной оценки диссертации. В числе пожеланий и вопросов следующие:

- 1) Учитывая высокий уровень младенческой смертности и заболеваемости респираторной и воспалительной патологией, вероятно, ассоциированной с ПИ в Кызылординской области (также в Акмолинской, Костанайской, Алматинской), представляется наиболее интересным изучение характеристик штаммов *Streptococcus pneumoniae* и их встречаемости в данном регионе, по сравнению с г. Карагандой, где все перечисленные показатели значительно меньше.
- 2) Почему выбран конкретный спектр антибиотиков для исследования бактериочувствительности, так как тот же триметоприм (в основном против грамотрицательных бактерий, во всех клинических рекомендациях предназначен для лечения ИМВП!), эритромицин (известен факт резистентности пневмококка к 14-ти членным макролидам), тетрациклин (запрещен детям до 8 лет). Эти антибиотики не входят в стандарты терапии заболеваний, вызванных ПИ и не применяются в детской практике. Автор ссылается на рекомендации The Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI/CIIA), но перечисленный спектр антибиотиков, по моему мнению, основанному на клинических протоколах лечения детей с ПИ-ассоциированными заболеваниями, не совсем актуален для казахстанской клинической практики. Несомненно, исследования должны опираться на международные рекомендации (стандарты), но быть адаптированы к местным особенностям.
- 3) Чем обусловлен выбор возрастной группы детей до 24 мес. 29 дней в качестве группы исследования бактерионосительства *Streptococcus pneumoniae* и возрастной группы детей до 60 мес. 29 дней для изучения ПИ?

- 4) Чем обусловлен низкий показатель (11,8%) совпадений, а значит и взаимодополнения и информативности, результатов бактериологического и ПЦР-методов в г.Караганде на фоне проводимой вакцинации?
- 5) К разделу «Заключение», выводб. Выделение пневмококка у детей с пневмониями до вакцинации 50%, а после -11,1%, тогда какой возбудитель пневмонии имеет место? Также в отношении острого среднего отита. Из данного вывода следует, что нозологические формы (пневмония, острый средний отит) развиваются, но имеют иную этиологию?

**9. Заключение о соответствии диссертации требованиям Правил присуждения степеней и возможности присуждения докторанту степени доктора философии (PhD) специальности 6D110100-Медицина.**

Диссертационное исследование на тему «Характеристика штаммов *Streptococcus pneumoniae*, циркулирующих на отдельных территориях Республики Казахстан среди носителей и больных пневмококковой инфекцией» имеет важное теоретическое значение и практическую реализацию. Исследование проведено на основе доказательной базы и квалифицируется как новое достижение в области медицины.

В соответствии с Правилами присуждения ученых степеней, утвержденными приказом Министра образования и науки Республики Казахстан от 31 марта 2011 года № 127, диссертационная работа и ее автор, Колоскова Екатерина Александровна, заслуживает присвоения ученой степени доктора философии (PhD) по специальности 6D110100 – Медицина.

**Официальный рецензент:**

**Генеральный директор  
«Евразийского Центра Аккредитации  
и обеспечения качества образования  
и здравоохранения»,  
доктор медицинских наук,  
ассоциированный профессор, МВА**



**Сарсенбаева С.С.**