

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Мартыновой Алины Викторовны на диссертационную работу Оганесяна Айка Наириевича «Молекулярно-генетическая характеристика *Streptococcus pneumoniae* и эпидемиологические аспекты пневмококковых менингитов у детей», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология

### Актуальность темы исследования

Несмотря на постоянное изучение, пневмококковые менингиты у детей остаются значимой проблемой в структуре детской заболеваемости и смертности до настоящего времени. Непрерывающиеся усилия медицинского сообщества во всем мире по достижению так называемых Целей тысячелетия (Millennium Development Goal (MDG)), сформулированных в Декларации тысячелетия Организацией Объединенных Наций, направленных, в том числе, и на снижение минимум на 2/3 смертности детей младше 5 лет, тем не менее, сталкиваются с проблемой пневмококковых инфекций, которыми обусловлены не менее чем 800 тысяч детских смертей ежегодно во всем мире (ВОЗ, 2017). Особое место в группе пневмококковых инфекций занимает пневмококковый менингит, характеризующийся помимо тяжелого клинического течения, высокой летальностью, в том числе и по сравнению с бактериальными менингитами другой этиологии. При этом, пневмококковый менингит является причиной смерти или инвалидизации более 60000 детей младше 5 лет. По ориентировочной оценке, показатели заболеваемости в мире колеблются от 1-2 до 20 случаев на 100 тысяч населения, при этом, общероссийский показатель (исходя из числа лабораторно подтвержденных случаев) составляет 0,25 на 100 тысяч. По мнению российских специалистов, в 2018 году (по сравнению с 2017 годом) заболеваемость внебольничной пневмонией среди российских детей выросла на 22,6%, а пневмококковыми менингитами в разных возрастных

группах – на 19,3 %, летальность от пневмококковых менингитов может достигать 32%. В настоящее время для профилактики пневмококковых инфекций, и в том числе, пневмококковых менингитов, предложены полисахаридные и пневмококковые конъюгированные 10-ти и 13-ти валентные вакцины, однако эффективность их применения связана напрямую с проблемой качества микробиологического мониторинга циркулирующих штаммов *Streptococcus pneumoniae*, что связано с внутривидовой вариабельностью данного возбудителя и определяется широким разнообразием серотипов и серогрупп данного микроорганизма, включающим более 90 серовариантов, циркулирующих на различных территориях.

Во многом это связано с тем, что малоизученными остаются микробиологические свойства *Streptococcus pneumoniae*, определяющие циркуляцию вирулентных штаммов, редко учитывается фактор колонизации дыхательных путей штаммами пневмококков различных серотипов, что проявляется таким явлением, как носительство. В практическом здравоохранении продолжают быть актуальными проблемы организации микробиологического мониторинга антибиотикорезистентных изолятов, а также молекулярно-эпидемиологического мониторинга с учетом результатов генотипирования выделенных штаммов пневмококков, необходимого для получения информации о характере распространения данного возбудителя и его эпидемических свойствах для популяционного анализа циркулирующих штаммов. Одним из методов, применяющихся в настоящее время с этой целью, является мультилокусное сиквенс-типирование, позволяющее сделать вывод о принадлежности циркулирующих возбудителей к определенным сиквенс-типам и клональным комплексам и дающее возможность прогнозировать эпидемическое неблагополучие, а также необходимость и эффективность применения вакцин.

## **Степени новизны, обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Автором модифицирован протокол проведения мультиплексной полимеразной цепной реакции с детекцией в агарозном геле, основанный на использовании четырёх комбинаций праймеров, оптимизированного состава реакционной смеси и условий амплификации, обеспечивающих специфичность реакций и позволяющих получать ампликоны разных размеров для их одновременной идентификации. Данная модификация несомненно позволит оптимизировать идентификацию штаммов пневмококка и ускорит диагностику бактериальных менингитов.

Разработан научно обоснованный двухэтапный алгоритм серотипирования с применением полимеразной цепной реакции, основанный на идентификации генов-мишеней: *wzy*, *wzx*, *wzg* (*cpsA*), *galU*, *wciP*, *wcwL*, *wcrG*, *wciL*, *wcwV*, *wcrH*, позволяющий определить 41 серотип и серогруппу за 11 реакций. Данная разработка безусловно является достижением автора, вносит неоспоримый вклад в изучение проблемы, так как изучение внутривидовой вариабельности такого убиквитарного микроорганизма как *Streptococcus pneumoniae* является одной из важнейших теоретических проблем современной микробиологии. В настоящее время предложены различные варианты серотипирования данного возбудителя: в более ранних работах мультиплексная ПЦР позволяла идентифицировать 20 и 26 различных серотипов, в настоящее время схемы, предложенные исследовательскими группами США и Латинской Америки, позволяют идентифицировать 40 различных серотипов. Однако схема мультиплексной реакции, предложенная Оганесяном А.Н., позволяет уже на первых этапах проведения исследования идентифицировать штаммы наиболее значимых серотипов именно для обследуемого им региона, включающего Азербайджанскую Республику, Республику Армения, Республику Беларусь, Грузию, Узбекистан и Украину, что свидетельствует об уникальности предложенного автором подхода.

Охарактеризован серотиповой пейзаж циркулирующих *S. pneumoniae* на исследуемых территориях, выявлены преобладающие серотипы (6А/В, 14, 19F, 23F) и определен процент покрытия исследованных серотипов 10 валентной пневмококковой конъюгированной вакциной, который составил 52%. Полученные автором данные о серотиповом пейзаже можно считать впервые выявленными, так как именно в данной работе определено распространение серотипов с учетом регионального аспекта Кавказского региона (Азербайджан, Армения, Грузия), а также Украины и Белоруссии, а не с учетом изолированного административного подхода, что, впрочем, также является редкостью в отношении исследования серотипового пейзажа штаммов, в том числе и входящих в 10-валентную пневмококковую конъюгированную вакцину.

В результате анализа серотипового пейзажа *S. pneumoniae* на исследуемых территориях определены начальные изменения в структуре циркулирующих серотипов в странах, где вакцинация пневмококковыми конъюгированными вакцинами проводится в плановом порядке, а также показано отсутствие изменений в структуре серотипового состава *S. pneumoniae* при вакцинации только по эпидпоказаниям. Данные сведения, выявленные Оганесяном А.Н., вносят вклад в рационализацию профилактических мероприятий в отношении пневмококковой инфекции, и позволяют оптимизировать дальнейшую схему вакцинации, в том числе, и с учетом регионального компонента.

С помощью метода мультилокусного сиквенс-типирования охарактеризована популяционная структура изученных штаммов *S. pneumoniae*, вызывающих гнойный бактериальный менингит, и впервые выявлены 4 новых сиквенс-типа возбудителя, которые импортированы в международную базу Streptococcus PubMLST (<https://pubmlst.org>) под идентификационными номерами: 42328 (СТ 14372); 42334 (СТ 14386); 42335 (СТ 14387); 42336 (СТ 14388), что безусловно показывает уникальность выявленных Оганесяном А.Н. сведений, так как до настоящего времени в вышеуказанной международной базе

данных сведения о сиквенс-типах, выявленных на территории, с которой были выделены изученные автором штаммы, практически отсутствуют.

С применением филогенетического анализа выявлены два тесно связанных кластера и один клональный комплекс *S. pneumoniae*, что свидетельствует о близком родстве исследованных штаммов и позволяет сделать выводы о миграции пневмококка. Результаты автора, по сути, можно охарактеризовать как впервые полученные, так как до настоящего времени миграция штаммов пневмококка по территории, на которой были выделены изученные автором штаммы также не оценена. Полученные результаты безусловно ценны в плане теоретического изучения генетического разнообразия и мобильности микробиома.

Данные опорных пунктов Азербайджанской Республики и Республики Армения за период с 2010 по 2017 гг. и с 2013 по 2017 гг. соответственно позволили оценить заболеваемость на данных территориях, которая составила в среднем 0,9 и 1,96 случая на 100 тыс. детского населения, среди которого преобладала группа детей первого года жизни. Безусловно, этиологический подход, примененный Оганесяном А.Н., позволил оценить заболеваемость с учетом этиологического фактора на территориях Азербайджана и Армении, что было невозможно, в условиях отсутствия данных об этиологической диагностике бактериальных менингитов до проведения исследования Оганесяном А.Н.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Актуальные данные о динамике циркуляции *S. pneumoniae* в исследуемых странах позволяют расширить представление об изменчивости серотипового пейзажа в условиях проведения плановой вакцинации, и в перспективе будут способствовать формированию полноценного представления о влиянии вакцинопрофилактики на изменение состава серотипов циркулирующего возбудителя, что необходимо для принятия управленческих решений по выбору вакцинного препарата при организации иммунопрофилактики. Отсутствие

данных о распространении пневмококков на территории Армении (Sahakyan G, Grigoryan S, 2018), немногочисленные данные – с территории Грузии (Chlikadze R, Kopaleishvili N, 2011,2017) и Айзербаджана позволяет считать результаты, полученные автором, новыми и чрезвычайно актуальными для науки и практики: во-первых, позволяют выявить закономерности циркуляции возбудителя в данном регионе и в отношении практики – оценить перспективу эпидемиологического надзора.

С учетом информативности генов-мишеней: *wzy*, *wzx*, *wzg* (*cpsA*), *galU*, *wciP*, *wcwL*, *wcrG*, *wciL*, *wcwV*, *wcrH*, разработан двухэтапный алгоритм серотипирования с применением полимеразной цепной реакции, сокративший число реакций с 15 до 11 и время исследования до 18 часов, и дающий возможность идентифицировать серотипы в 78% проб, содержащих *S. pneumoniae*. Применение предложенной модифицированной схемы мультиплексной полимеразной цепной реакции позволяет оптимизировать микробиологический мониторинг *S. pneumoniae* в системе эпидемиологического надзора за счет ускорения процесса серотипирования, что безусловно позволяет рационализировать и, в дальнейшем, шире распространить в практике разработанную автором схему. Более того, уникальность схемы Оганесяна А.Н., разработанной под руководством Воропаевой Е.А. и Мельниковой А.А., позволяет идентифицировать наиболее значимые штаммы пневмококка, благодаря чему возможно планирование вакцинации. Дальнейшее применение разработанной схемы на практике позволило выявить, что применение ПКВ10 на исследуемых территориях по эпидпоказаниям не оказало влияния на серотиповой пейзаж циркулирующих штаммов *S. pneumoniae*, что свидетельствует о целесообразности применения пневмококковых конъюгированных вакцин по плановым показаниям.

Помимо результатов, безусловно значимых в эпидемиологическом плане, чрезвычайно актуальным является и создание рабочей коллекции ДНК *S. pneumoniae*, которую можно использовать в дальнейших исследованиях с целью

прогнозирования распространения эпидемически значимых штаммов и молекулярно-генетического мониторинга популяции возбудителя. Коллекция безусловно требует дальнейшего пополнения, что позволит иметь актуальную информацию.

Результаты проведенных исследований были импортированы в базу Всемирной организации здравоохранения по эпидемиологическому надзору за гнойными бактериальными менингитами в ряде стран Европейского региона Всемирной организации здравоохранения. Полученные Оганесяном А.Н. результаты включены в ежегодно издаваемый эпидемиологический бюллетень Всемирной организации здравоохранения по наблюдению за гнойными бактериальными менингитами в ряде стран Европейского региона Всемирной организации здравоохранения (WHO Global Invasive Bacterial Vaccine-Preventable Disease and Rotavirus and Pediatric Diarrhea Surveillance Networks Bulletin, January 2019), что является значимым достижением как автора, так и руководителей, представляющих полученные результаты на международном уровне, что говорит об их несомненной значимости.

Кроме того, результаты исследований и разработок внедрены в научно-исследовательскую работу Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (акт внедрения от 09.01.2019 г.).

В дальнейшем результаты и выводы данного исследования могут использоваться в учебном процессе кафедр профилактического, терапевтического профиля медицинских ВУЗов, при проведении тематических семинаров и практических занятий с различными категориями медперсонала лечебных учреждений всех типов.

В целом, перспектива дальнейшей разработки темы определена автором, исходя из того, что: 1. Дальнейший филогенетический анализ циркулирующих

штаммов *S. pneumoniae* необходим для совершенствования системы эпиднадзора за пневмококковой инфекцией; 2. Продолжение исследований по изучению молекулярно-генетических механизмов антибиотикорезистентности у штаммов *S. pneumoniae*; 3. Для снижения уровней заболеваемости бактериальными гнойными менингитами у детей, необходимы исследования по выявлению возможных источников инфекции среди их ближайшего семейного окружения. Безусловно, избранное автором направление чрезвычайно важно, значимо и требует дальнейшего продолжения для рационализации проблем микробиологической диагностики и эпидемиологического надзора.

### **Достоверность и апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях**

Достоверность результатов исследования и обоснованность сделанных автором выводов подтверждается достаточным объемом выборки анализируемых образцов (3303 образцов СМЖ и 36 штаммов *S. pneumoniae*), использованием сертифицированных бактериологических, иммунохимических и молекулярно-генетических методов, которые характеризуются высокой специфичностью и чувствительностью, использованием адекватных статистических методов анализа полученных результатов. Автором применены современные методы обработки хроматограмм, полученных в результате секвенирования, таких как BioEdit Alignment Editor, при этом, использовался и традиционный подход: анализ последовательностей генов «домашнего хозяйства» с определением сиквенс-типов проводили с использованием базы данных МЛСТ (<http://spneumoniae.mlst.net>), клоальность исследуемых штаммов изучалась с применением алгоритма eBURSTv3, интегрированного в программный пакет PHYLOViZ. Склеивание полученных нуклеотидных последовательностей проводили с применением программы «Vector NTI Suite v. 9», выравнивание последовательностей - с помощью сервиса BLAST. Построение филогенетической дендограммы осуществляли методом оценки филогенетических взаимоотношений на основе генетических дистанций



(UPGMA- методом невзвешенного попарного среднего).

В качестве основных объектов исследования автором были определены молекулярно-генетические и филогенетические свойства циркулирующих штаммов *S. pneumoniae*, вызывающих гнойный бактериальный менингит (ГБМ), а также некоторые проявления эпидемического процесса пневмококкового менингита, в качестве предмета исследования автор определил ДНК и штаммы *S. pneumoniae*, выделенные из спинномозговой жидкости (СМЖ) детей больных ГБМ, а также данные регистрации случаев заболевания и результаты лабораторных исследований.

Следует отметить, что представленная работа выполнена в рамках программы Европейского регионального бюро Всемирной организации здравоохранения по дозорному эпиднадзору за инвазивными бактериальными заболеваниями, управляемыми вакцинацией, в отдельных странах Европейского региона Всемирной организации здравоохранения за период с 2010 по 2018 гг. (письмо Роспотребнадзора № 01/11049-9-39 от 05.08.2009, Меморандумы о взаимопонимании между Европейским региональным бюро Всемирной организации здравоохранения и Федеральным бюджетным учреждением науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора) от 12.05.2009 г. и 29.03.2012 г.).

Безусловным достоинством работы является то, что основополагающая роль при этом исследовании отводилась этиологической диагностике, что позволяет классически диагностировать случаи бактериального гнойного менингита, а также определять их эпидемиологическую значимость и обосновывать проведение вакцинации, а также определять характер вакцинации в отношении пневмококковой инфекции. Доказательная база диссертации основана на фактических данных, полученных автором, представленных в таблицах, анализ которых позволил сформулировать выводы, изложенные в

работе.

Диссертация апробирована на заседании секции Учёного Совета эпидемиология, микробиология, клиника инфекционных болезней ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора (протокол №2 от 25.04.2019). Полученные автором результаты широко представлены в открытой печати: опубликовано 9 печатных работ, в том числе 3 публикации в рецензируемых изданиях, 1 публикация в тезисах рецензируемых изданий, 1 публикация на электронном ресурсе конференции, 4 – в материалах конференций.

### **Оценка содержания, завершения и оформления диссертации**

Материалы диссертации изложены на 145 страницах машинописного текста, иллюстрированы 18 таблицами, 37 рисунками. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, 4 глав описания результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспективы дальнейшей разработки темы, списка сокращений и списка использованной литературы. Библиографический указатель включает 195 источников литературы, из них 51 отечественных и 144 иностранных авторов.

Во введении четко сформулирована актуальность проблемы, цель и задачи исследования, научная новизна, практическая значимость работы. Основные материалы диссертации обсуждались на международных симпозиумах, международных и российских конференциях.

В разделе «Методология и методы исследования» подробно отражены основные направления исследования, описаны контингент, материалы и методы исследования; подробно приведены особенности статистической обработки материалов, примененной автором в данном исследовании. Особенно необходимо отметить структурированное описание молекулярно-генетических методов (мультиплексная ПЦР и мультилокусное сиквенс-типирование), а также эпидемиологического анализа заболеваемости бактериальными менингитами у детей.

Литературный обзор изложен на 22 страницах и содержит сведения о биологических свойствах и факторах патогенности *S.pneumoniae*, молекулярно-генетических методах исследования этого микроорганизма, возможностях лабораторной диагностики пневмококковой инфекции, молекулярно-генетическом мониторинге пневмококковой инфекции в условиях вакцинопрофилактики. В целом, литературный обзор демонстрирует хорошее знание работ отечественных и зарубежных исследователей в этом направлении.

В 2 главе «Модификация протокола мПЦР с детекцией в агарозном геле и разработка двухэтапного алгоритма ПЦР-серотипирования *S. pneumoniae*» необходимо отметить оригинальное решение проблемы разработки алгоритма ПЦР-серотипирования пневмококков, позволяющим снизить число реакций с 15 до 11, определять 41 серотип *S. pneumoniae* и сократить время проведения исследования до 18 часов, что на 22% быстрее используемой ранее схемы ПЦР-серотипирования.

В третьей главе «Серотиповая характеристика и оценка изменений серотипового пейзажа *S. pneumoniae* в условиях вакцинопрофилактики в ряде стран Европейского, Закавказского и Азиатского регионов» автор представляет данные о выявлении серогрупп и серотипов пневмококка на территориях Айзербайджанской Республики, Украины и Армении. Определено количество штаммов пневмокока, серотипы которых входят в состав распространенных на данных территориях конъюгированных пневмококковых вакцин ПКВ10 и ПКВ13. В отношении ситуации, сложившейся на Украине, автор отмечает, что средний темп прироста процента вакцинных штаммов, составивший 2,4%, свидетельствует об отсутствии каких-либо объективных изменений в серотиповом пейзаже *S. pneumoniae* на территории Украины. Из чего допустимо сделать вывод о перспективе включения ПКВ в национальный календарь прививок по плановым показаниям и открывает перспективу дальнейшего молекулярно-микробиологического мониторинга.

В четвертой главе «Генотипическая характеристика и филогенетический

анализ штаммов *S. pneumoniae*» представлены данные о филогенетическом родстве штаммов, выделенных на исследуемых территориях: Армении, Азербайджанской Республике, Украине. Штаммы новых СТ14388 и СТ14386, выявленные на территории Республики Армения, являются близкородственными со штаммом СТ320, являющимся высоко инвазивным и циркулирующим по всему миру, включая Российскую Федерацию. Штамм нового СТ14372 имеет близкое родство со штаммом СТ235, встречающимся в основном на Европейской территории. Полученные результаты получены впервые и открывают перспективу дальнейшей организации мониторинга.

Это иллюстрирует и тот факт (выявленный также автором), что штамм нового СТ14387, выявленный на территории Республики Армения, имеет близкое родство со штаммом редкого СТ2436, зарегистрированного только на территории Соединенного Королевства Великобритании и Северной Ирландии, а в настоящем исследовании выявленным на территории Украины. Данный факт требует дополнительной оценки и обсуждения, а также дальнейшего изучения с применением современных методов молекулярно-генетического мониторинга.

Благодаря внесению впервые определенных СТ в международную базу Streptococcus PubMLST, были расширены данные о молекулярно-генетическом разнообразии *S. pneumoniae*, что, в свою очередь, повышает качество дальнейшего изучения возбудителя, позволяя более широко оценивать происходящие генетические изменения в популяциях. Эта информация является впервые выявленной автором, и позволяет формировать базу данных о сиквен-типах штаммов пневмококка, выделенных на обследуемых территориях, с учетом международных требований и с целью возможности сопоставления полученных результатов с результатами международного сообщества, вовлеченного в изучение динамики и распространения штаммов пневмококка, вызвавших бактериальный менингит, и с целью планирования вакцинации с применением современных вакцин.

Кластеризация с использованием eBURST анализа результатов

мультилокусного сиквенс-типирования с учетом исследуемых территорий показала, что штаммы полученных сиквенс-типов образуют две тесно связанные группы. В группу I вошли штаммы сиквенс-типов, распространённых в основном на Украине, при этом штамм СТ246, широко распространенный в Японии и в некоторых Европейских странах, является родственным для большинства штаммов, входящих в данную группу. Так же в эту группу вошёл штамм СТ14387, обнаруженный на территории Республики Армения.

В группу II вошли в основном штаммы сиквенс-типов, распространённых в Кавказском регионе, а также штамм СТ473, который был обнаружен как на территории Азербайджанской Республики, так и на территории Украины. Штаммы данного сиквенс-типа являются широко распространенными по всему миру. В данной группе центральным сиквенс-типом является высоко инвазивный штамм широко распространенного по всему миру СТ320. Таким образом, полученные данные позволяют проводить оценку миграции эпидемиологически значимых штаммов, что особенно значимо в целях организации профилактических мероприятий.

В пятой главе «Анализ данных дозорного эпиднадзора и характеристика уровней заболеваемости пневмококковым менингитом детей до 5 лет», благодаря республиканскому уровню выбранных стационаров в качестве опорных пунктов надзора, была показана репрезентативность выборки детей по данной инфекционной патологии по отношению ко всему детскому населению стран. При отсутствии официальной регистрации случаев пневмококкового менингита, данные, полученные при использовании дозорного эпиднадзора, позволяют оценить пораженность самой уязвимой группы детского населения – до 5 лет и в последующем – влияние вакцинации на заболеваемость пневмококковым менингитом. Безусловно, данные Оганесяна А.Н. должны служить основой для дальнейшего планирования оптимизации микробиологической диагностики, и далее – планирования профилактических мероприятий с учетом результатов молекулярно-микробиологического

мониторинга для выявления циркулирующих серотипов, входящих в состав применяемой поливалентной конъюгированной вакцины.

Таким образом, установлено, что необходимо регулярное совершенствование надзора в исследуемых странах путем увеличения потока информации с труднодоступных территорий, повышения качества выявляемости для получения более полной картины заболеваемости по странам, совершенствование микробиологической диагностики, что позволит прежде всего организовать учет заболеваемости бактериальными менингитами с учетом этиологического фактора, что полностью соответствует принятым международным рекомендациям.

Кроме того, Оганесяном А.Н., как автором научной работы, выполненной под руководством д.б.н. Воропаевой Е.А. и к.м.н. Мельниковой А.А., получены важные сведения о заболеваемости пневмококковыми менингитами у детей до 5 лет на территории Армении, Азербайджана, Грузии, Украины: на территории Республики Армения был отмечен самый высокий уровень заболеваемости пневмококковым менингитом (2,38 случаев на 100 тыс. населения детей до 5 лет) среди исследуемых стран. Самый высокий уровень летальности за весь период наблюдения был отмечен автором на территории Азербайджанской Республики – 10 случаев (16,4%). На территории Украины, по данным автора, летальность составила 6 случаев (11,1%), а на территории Республики Армения - 1 случай (5%).

Кроме того, интересным также представляется и тот факт, что преобладающие серотипы *S. pneumoniae* среди возрастных групп заболевших детей были сопоставимы с общим серотиповым пейзажем исследуемых регионов. На территории Республики Армения и Украины все случаи пневмококкового менингита (за исключением 1 на территории Украины) были среди девочек.

На территории Украины был обнаружен наибольший процент случаев заболевания пневмококковым менингитом, выявленных среди детей до 1 года

(50,9%), что может быть связано с отсутствием плановой иммунизации. На территории Азербайджанской Республики и Республики Армения проценты случаев заболевания пневмококковым менингитом, выявленных среди детей до 1 года, составили 44,3% и 40,0% соответственно. Вероятно, это связано с недостаточным уровнем иммунной прослойки детей.

Таким образом, по мнению автора, применяемая тактика прививок по эпидемическим показаниям не обеспечивает должного увеличения популяционного иммунитета, что требует ее рационализации с учетом данных мониторинга циркулирующих серотипов.

Полученные эпидемиологические данные как ретроспективные, так и проспективные, должны быть основаны на результатах широкого внедрения и широкого применения модификации протокола микробиологической диагностики бактериальных менингитов, предложенной Оганесяном А.Н.

В целом, работа является самостоятельно выполненным, завершенным исследованием, обладающим научной новизной и практической значимостью. Представленные результаты необходимы для совершенствования микробиологической диагностики и организации молекулярно-эпидемиологического мониторинга пневмококковых менингитов у детей и могут быть внедрены в работу лечебных и медико-профилактических учреждений. Автореферат полностью соответствует содержанию работы.

### **Соответствие специальности**

Кандидатская диссертация Оганесяна А.Н. полностью соответствует специальности, по которой предоставляется к защите 03.02.03 – микробиология.

В процессе рецензирования возникло несколько вопросов:

1. Каким образом автор оценивает перспективу молекулярно-эпидемиологического мониторинга бактериальных пневмококковых менингитов в деятельности медико-профилактических учреждений?

2. Какое место, по мнению автора, должен занимать в системе эпидемиологического надзора такой метод как серотипирование, насколько он

перспективен в практике в сравнении с существующими молекулярно-генетическими методами типирования?

3. Влияют ли на серотиповой пейзаж в популяции различия в сроках проведения вакцинации против пневмококковой инфекции в течение первого года жизни?

4. Существуют ли фенотипические различия в штаммах пневмококка, вызвавших пневмококковый менингит? Коррелируют ли различия в патогенности штаммов пневмококка и клинической картиной?

5. В чем состоит преимущество предложенной автором модифицированной схемы мультиплексной полимеразной цепной реакции по сравнению с имеющимися схемами?

Выявленные замечания и поставленные вопросы не снижают общей высокой оценки научной и практической ценности рецензируемой работы.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Оганесяна Айка Наириевича «Молекулярно-генетическая характеристика *Streptococcus pneumoniae* и эпидемиологические аспекты пневмококковых менингитов у детей», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология, является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора биологических наук Воропаевой Е.А. и кандидата медицинских наук Мельниковой А.А., и содержит решение актуальной научно-практической задачи: совершенствование системы микробиологического и молекулярно-эпидемиологического мониторинга штаммов пневмококка, выделенных при бактериальных менингитах у детей.

Диссертационная работа Оганесяна Айка Наириевича на тему «Молекулярно-генетическая характеристика *Streptococcus pneumoniae* и эпидемиологические аспекты пневмококковых менингитов у детей» по актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему



проведенных исследований соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации N 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации N 335 от 21 апреля 2016 года, N 748 от 2 августа 2016 года, N 650 от 29 мая 2017 года, N 1024 от 28 августа 2017 года, N 1168 от 01 октября 2018 года), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор – Оганесян Айк Наириевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

### **Официальный оппонент**

Профессор кафедры эпидемиологии и военной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор

### **Мартынова Алина Викторовна**

690002, Приморский край, Владивосток, пр. Острякова, 2.  
Тел: +7 (423) 242-97-78, e-mail: clinmicro@yandex.ru

Дата: «18» сентября 2019 года

Подпись доктора медицинских наук, профессора Мартыновой Алины Викторовны заверяю

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Доктор медицинских наук, профессор



Е.В. Просекова