

Заключение комиссии Диссертационного совета 64.1.004.01 при Федеральном бюджетном учреждении науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по кандидатской диссертации Мартенс Эльвиры Акрамовны на тему: «Фенотипическая и генотипическая характеристика *Neisseria meningitidis*, выделенных от больных генерализованными формами инфекции и носителей» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности: 1.5.11. – Микробиология.

Научный руководитель:

Сидоренко Сергей Владимирович - член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук (03.02.03. – микробиология), профессор, заведующий научно-исследовательским отделом медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России, Санкт-Петербург).

Диссертационная работа Мартенс Э.А. соответствует специальности: 1.5.11. – Микробиология (медицинские науки).

Работа посвящена проведению сравнительной оценки классических культуральных и молекулярных методов детекции и серотипирования изолятов *N. meningitidis*, выделенных от носителей и больных генерализованными формами менингококковой инфекции, методов оценки чувствительности *N. meningitidis* к антибактериальным препаратам, характеристике распространенности и механизмам резистентности изолятов, выделенных от носителей и больных, изучению структуры популяции *N. meningitidis*, циркулирующих в Санкт-Петербурге среди носителей и больных и ее взаимосвязи с глобальными генетическими линиями, обоснованию направления оптимизации вакцинопрофилактики и этиотропной терапии менингококковой инфекции.

В ходе диссертационного исследования впервые охарактеризована структура популяции *N. meningitidis*, циркулирующих в Санкт-Петербурге. Выявлена высокая гетерогенность менингококков по ядерному геному, 53 жизнеспособных изолята относились к 12-ти сиквенс-типам и 8-ми клональным комплексам. При этом три сиквенс-типа (ST-1136, ST-2146 и ST-9126) и три клональных комплекса (cc174, cc198 и cc1136) ранее в России не встречались.

Впервые выявлено, что российские изоляты серогруппы W, относящиеся к ST-11 (W-ST11), образуют отдельную генетическую линию, тесно связанную с англо-французской и шведской кладами кластера Hajj. Эта линия, в свою очередь, была разделена на три сублинии: одна - изоляты из Москвы и две - изоляты из Санкт-Петербурга.

В серогрупповом составе менингококков, циркулирующих в Санкт-Петербурге, выявлено преобладание серогруппы B. Впервые проведена оценка соответствия антигенного состава субкапсулярных вакцин 4CMenB и rLP2086 и менингококков, циркулирующих в Санкт-Петербурге. Установлено, что нетипизируемые изоляты *N. meningitidis*, несущие locus *cnI*, распространены в основном среди здоровых носителей, но могут вызывать и генерализованные формы менингококковой инфекции у детей в возрасте от 0 до 17 лет.

Диссертантом установлено, что снижение чувствительности к пенициллину у менингококков, циркулирующих в Санкт-Петербурге, связано с формированием мутаций в гене *penA*. Выявлена корреляция между указанными мутациями и повышенными значениями МПК пенициллина, определяемыми методами серийных разведений в агаре и градиентной диффузии. Повышенные значения МПК пенициллина, определяемые методом серийных разведений в бульоне, не коррелировали с указанными мутациями.

На основании анализа полученных данных для определения антибиотикочувствительности изолятов *N. meningitidis* метод с использованием MIC-полосок (E-тест) и метод разведений в агаре могут быть рекомендованы для использования в лабораторной практике

здравоохранения. Для лечения генерализованных форм менингококковой инфекции в качестве препаратов выбора следует рекомендовать цефалоспорины третьего поколения (цефтриаксон или цефотаксим), а для профилактики – ципрофлоксацин или цефтриаксон или рифампицин с учетом возрастных ограничений. При микробиологической диагностике менингококковой инфекции целесообразно проводить углубленное изучение выделенных изолятов для выявления родственных связей с глобальными гипервирулентными генетическими линиями, а также для отслеживания динамики антибиотикорезистентности изолятов *N. meningitidis*.

На основании полученных данных оптимизированный алгоритм исследования рекомендуется использовать для идентификации и типирования *N. meningitidis* как изолятов, так и для обнаружения возбудителя в биологических образцах (кровь, цереброспинальная жидкость) больных генерализованными формами менингококковой инфекции и носителей (назофарингеальные мазки) в практических лабораториях здравоохранения.

Теоретическая значимость работы заключается в том, что полученный комплекс генетических и фенотипических характеристик популяции менингококков, циркулирующих в Санкт-Петербурге, дополняет теоретические представления о распространении глобальных генетических линий и их эволюции на локальном уровне, а также позволяет обосновать стратегию профилактики и лечения менингококковых инфекций.

Обнаружение доминирования изолятов серогруппы В среди менингококков, циркулирующих в Санкт-Петербурге, обосновывает необходимость внедрения в практику иммунопрофилактики менингококковых инфекций вакцин, обеспечивающих защиту от инфицирования бактериями этой серогруппы. В то же время, на основании полученных данных можно предположить, что современные субкапсулярные вакцины 4CMenB и rLP2086 могут обеспечить протективный эффект в отношении соответственно 28,6% и 42,9% менингококков серогруппы В, циркулирующих в Санкт-Петербурге. Очевидна необходимость разработки отечественной вакцины в большей степени соответствующий антигенному составу менингококков, циркулирующих в регионе.

Показано, что в настоящее время цефтриаксон может рассматриваться в качестве надежного средства эмпирической терапии менингококковых инфекций, поскольку устойчивости к этому антибиотику среди менингококков не выявлено. Однако снижение чувствительности к пенициллину, обусловленное мутациями в гене *penA* белка, может быть начальным этапом формирования устойчивости к цефалоспорином. Указанная негативная тенденция обосновывает необходимость внедрения стандартных и воспроизводимых методов оценки чувствительности менингококков к антибактериальным препаратам.

Практическая значимость работы заключается в том, что методы оценки чувствительности менингококков в агаре (серийных разведений и градиентной диффузии), позволяют получить более достоверные результаты по сравнению с методом серийных разведений в бульоне. Методы оценки чувствительности в агаре могут быть рекомендованы для использования в лабораторной практике здравоохранения.

Показано, что внедрение молекулярных методов в алгоритм диагностики менингококковых инфекций и типирования возбудителя позволяет существенно сократить срок исследования и обеспечить идентификацию и типирование как жизнеспособных изолятов *N. meningitidis*, так и их ДНК непосредственно из биологического материала.

Материалы диссертации внедрены в образовательный процесс кафедры медицинской микробиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» МЗ РФ при проведении сертификационных циклов повышения квалификации для врачей по специальности «Бактериология» и дополнительные профессиональные программы повышения квалификации врачей «Бактериальные менингиты», «Резистентность микроорганизмов к антимикробным препаратам», а также в лекционный материал при обучении врачей-ординаторов (Акт внедрения от 28.09.2021).

Предложения по совершенствованию лабораторной диагностики менингококковой

инфекции внедрены в работу клиничко-диагностической лаборатории ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней» Федерального медико-биологического агентства (Акт внедрения от 23.09.2021г.), специализированной централизованной бактериологической лаборатории СПб ГБУЗ «Детская городская больница № 22 (Акт внедрения от 24.09.2021).

Диссертационная работа выполнена с использованием совокупности современных методов исследований. Достоверность результатов обеспечена достаточным массивом фактических данных, адекватно сформулированными целями и задачами, корректно проведенным статистическим анализом результатов, обоснованными выводами, положениями, рекомендациями. Научные положения и выводы, сформулированные Мартенс Э.А., логически вытекают из результатов, полученных в ходе диссертационной работы.

По объему проведенных исследований, их новизне и практической значимости работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности: 1.5.11. – Микробиология (медицинские науки).

Комиссия не установила в диссертации и автореферате фактов некорректного заимствования материалов без ссылок на первоисточники. Отчет о проверке на заимствования с помощью системы «Антиплагиат» на сайте [www.antiplagiat.ru](http://www.antiplagiat.ru) показал, что оригинальность текста составляет 91,99%, самоцитирование - 0%, цитирование - 0%, заимствование – 7,37%.

Материалы исследования и основные положения диссертационной работы обсуждались на десяти конференциях различного уровня, в том числе с международным участием.

Диссертация содержит достоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации. По материалам диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых изданиях.

Диссертация соответствует профилю Диссертационного совета 64.1.004.01.

В качестве **ведущей организации** предлагается утвердить: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины» (ФГБНУ «ИЭМ»)

Согласие ведущей организации имеется.

В качестве **официальных оппонентов** предлагаются:

Чеботарь Игорь Викторович - доктор медицинских наук (03.02.03 – микробиология), заведующий лабораторией молекулярной микробиологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва)

Жуховицкий Владимир Григорьевич – кандидат медицинских наук (03.02.03 – микробиология), заведующий лабораторией индикации и ультраструктурного анализа микроорганизмов, ведущий научный сотрудник отдела бактериальных инфекций Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский Центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи).

Согласия оппонентов имеются.

**Заключение:** комиссия Диссертационного совета 64.1.004.01. рекомендует диссертацию Мартенс Эльвиры Акрамовны «Фенотипическая и генотипическая характеристика *Neisseria meningitidis*, выделенных от больных генерализованными формами инфекции и носителей» по специальности: 1.5.11- микробиология (медицинские науки) к приему к защите.

Заключение подготовили члены комиссии Диссертационного совета 64.1.004.01:


**Председатель:**

Директор института  
ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора  
доктор биологических наук

 С.Ю. Комбарова

**Члены комиссии:**

Главный научный сотрудник  
лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии  
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,  
Заслуженный деятель науки РФ,  
доктор медицинских наук, профессор

 С.С. Афанасьев

Руководитель отдела медицинской биотехнологии  
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,  
доктор биологических наук, доцент

 Е.А. Воропаева

Профессор кафедры микробиологии,  
вирусологии педиатрического факультета  
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова,  
доктор медицинских наук, профессор



Б.А. Ефимов