



МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение

**«ИНСТИТУТ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
МЕДИЦИНЫ»
(ФГБНУ «ИЭМ»)**

ул. Академика Павлова, 12, Санкт-Петербург, 197022
телефон: +7 (812) 234-6868, факс: +7 (812) 234-9489
e-mail: iem@iemrams.ru; https://iemspb.ru/
ОКПО 01897179 ОГРН 1037828000198
ИНН/КПП 7813045787/781301001

23.01.2023 № 424-4/04-21
на № _____ от _____

«Утверждаю»

Директор

Федерального государственного

бюджетного научного учреждения

«Институт экспериментальной медицины»

доктор биологических наук

профессор РАН

Дмитриев Александр Валентинович



Еввафел 2023 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

О научно-практической значимости диссертационной работы

Мартенс Эльвиры Акрамовны на тему «Фенотипическая и генотипическая характеристика *Neisseria meningitidis*, выделенных от больных генерализованными формами инфекции и носителей», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по научной специальности: 1.5.11. – Микробиология (медицинские науки).

Актуальность темы выполненной работы

Несмотря на успехи вакцинопрофилактики, менингококковая инфекция остается серьезной проблемой общественного здравоохранения. Усугубляет проблему распространение антибиотикорезистентности возбудителя, что должно

учитываться системой управления здравоохранением. Молекулярно-эпидемиологическая идентификация клональных кластеров *N. meningitidis* с установленными спектрами антибиотикорезистентности штаммов, требуются для более полного понимания особенностей эпидемиологии менингококковой инфекции и своевременной корректировки стратегии терапии и профилактики. Результаты эпидемиологических и микробиологических исследований способствуют разработке оптимальных стратегий контроля за менингококковой инфекцией.

С ростом глобального распространения лекарственной устойчивости среди возбудителей инфекционных заболеваний в настоящее время предпринимаются усилия по изучению генетических механизмов, приводящих к формированию резистентности у бактерий. Создаются системы национального и международного надзора за распространением резистентности к антибиотикам и ее связи с конкретными клонами, гипервирулентными линиями бактерий.

Поскольку характер течения менингококковой инфекции является молниеносным, ранняя диагностика и лечение, включая назначение антибиотиков, имеют решающее значение.

N. meningitidis относится к высоко изменчивым видам бактерий, что определяет обширное генетическое разнообразие менингококков.

Таким образом, проведение исследований по изучению свойств *N. meningitidis*, циркулирующих среди больных и здоровых конкретного региона с использованием современных технологий с последующим детальным анализом полученных данных, является крайне необходимым.

В связи с вышеизложенным, тема диссертационного исследования Мартенс Э.А. является актуальной, поскольку посвящена детальной бактериологической, серологической и молекулярно-генетической характеристике клинических

штаммов *N. meningitidis*, выделенных от больных с генерализованными формами инфекции и носителей в Санкт-Петербурге. Важно также, что полученные результаты позволяют оценить и спрогнозировать эффекты вакцинации против *N. meningitidis* в данном регионе.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научная новизна выполненных исследований заключается в следующем: впервые детально охарактеризована структура популяции *N. meningitidis*, циркулирующих в Санкт-Петербурге; установлена высокая гетерогенность менингококков по ядерному геному (12 сиквенс-типов и 8 клональных комплексов); при этом три сиквенс-типа (ST-1136, ST-2146 и ST-9126) и три клональных комплекса (cc174, cc198, cc1136) ранее в России не встречались; установлено, 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, которая, в свою очередь, делится 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.

Автором впервые проведена оценка соответствия антигенного состава субкапсулярных вакцин 4CMenB и rLP2086 и менингококков, циркулирующих в регионе. Установлено, что нетипируемые изоляты *N. meningitidis*, несущие locus *cnI*, распространены в основном среди здоровых носителей, но могут вызывать генерализованную инфекцию у детей в возрасте от 0 до 17 лет. В результате исследования впервые установлено, что снижение чувствительности к пенициллину у менингококков, циркулирующих в регионе, связано с мутациями в гене *penA*. Автор выявила взаимосвязь 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 этими мутациями.

Связь новизны исследования с планами соответствующих отраслей науки

Новизна результатов проведенного научного исследования вполне укладывается в программу фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021 - 2030 годы), утвержденной распоряжением Правительства Российской Федерации от 31 декабря 2020 г. № 3684-р по направлению 3.4.3. Микробиология, так как проведенная работа позволяет охарактеризовать генетическую структуру микробной популяции *N.meningitidis* в России, определить спектр лекарственной устойчивости потенциальных возбудителей к антимикробным препаратам, а также предоставить новую информацию о перспективности таргетной вакцинной профилактики и оптимизированных методов диагностики.

Тема диссертации соответствует пункту 20(в) приоритетных направлений Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации, утвержденной Указом Президента Российской Федерации от 1 декабря 2016 года, № 642: переход к персонализированной медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям здоровьесбережения, в том числе за счет рационального применения лекарственных препаратов (прежде всего антибактериальных).

Значимость для науки и практики результатов, полученных автором диссертационной работы

Полученные автором сведения существенно дополняют наши знания о циркулирующих штаммах *N. meningitidis* в Санкт-Петербурге, теоретические представления о распространении глобальных генетических линий и их эволюции на локальном уровне, а также позволяют обосновать стратегию профилактики и лечения менингококковых инфекций. Выявлено преобладание изолятов серогруппы В среди менингококков, циркулирующих в регионе, что обосновывает необходимость внедрения в практику иммунопрофилактики менингококковых инфекций вакцин, обеспечивающих защиту от инфицирования бактериями этой серогруппы.

Практическая значимость диссертационной работы состоит в том, что в качестве надежного средства эмпирической терапии менингококковых инфекций может рассматриваться цефтриаксон, поскольку устойчивости к этому антибиотику среди менингококков не выявлено. Негативная тенденция, заключающаяся в снижении чувствительности к пенициллину, обусловленная мутациями в гене *penA* пенициллинсвязывающего белка, может быть начальным этапом формирования устойчивости к цефалоспорином, что обосновывает необходимость внедрения стандартных и воспроизводимых методов оценки чувствительности менингококков к антибактериальным средствам. Установлено, 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.

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 диссертационной работы 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 клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней» Федерального медико-биологического агентства (Акт внедрения от 23.09.2021г.), специализированной централизованной бактериологической лаборатории СПбГБУЗ «Детская городская больница №22 (Акт внедрения от 24.09.2021).

Достоверность и апробация результатов исследования, в том числе публикаций в рецензируемых изданиях

Достоверность научных положений и выводов основывается на достаточных по объему полученных данных и количеству материала с использованием общепринятых и современных методов исследования

(фенотипических, молекулярно-генетических). Полученные результаты согласованы с данными других исследователей. Эксперименты проведены с соответствующими контролями с последующей надлежащей статистической обработкой результатов.

По теме диссертации Мартенс Э.А. 10 научных работ, из которых 3 –/ статьи в рецензируемых изданиях, 5 статей – в других изданиях, 2 тезисов в материалах конференций.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Для определения антибиотикочувствительности изолятов *N. meningitidis* методом использованием МИС-полосок (Е-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, цефтриаксон или рифампицин с учетом возрастных ограничений.

При микробиологической диагностике менингококковой инфекции целесообразно проводить углубленное молекулярно-генетическое изучение выделенных изолятов для выявления родственных связей с глобальными гипервирулентными генетическими линиями, а также для отслеживания динамики антибиотикорезистентности изолятов *N. Meningitidis*.

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.

Исходя из полученных данных можно предположить, что современные субкапсулярные вакцины 4СMenВ 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 соответствующей антигенному составу менингококков, циркулирующих в регионе.

Соответствие специальности

Тема диссертации, цели, задачи, основные положения и выводы, сформулированные автором, полностью соответствуют научной специальности 1.5.11.-Микробиология (медицинские науки).

Оценка содержания и оформления диссертации

Диссертационная работа изложена на 136 страницах машинописного текста, иллюстрирована 6 таблицами и 30 рисунками. Диссертация состоит из следующих структурных элементов: введения, обзора литературы, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспективы дальнейшей разработки темы, списка сокращений, списка литературы, включающего 206 источников, из которых 17 – отечественные, а 189 – зарубежные.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Личное участие соискателя заключалось в постановке цели, формулировке

и разработке путей решения задач в рамках диссертационной работы. Результаты экспериментов, приведенные в диссертации, получены лично автором, либо при его непосредственном участии. Диссертант лично произвел анализ и интерпретацию результатов исследования, сделал обоснованные выводы.

Автор осуществил подготовку статей к публикации, написание глав диссертационной работы. Мартенс Эльвира Акрамовна лично участвовала в апробации результатов исследования.

Достоинства и недостатки по содержанию, оформлению, общая оценка диссертации

Представленный в диссертационной работе материал изложен последовательно, логично и аргументировано. Обзор литературы отражает осведомленность автора об изучаемой проблеме. К обзору имеется два небольших замечания. Хотелось бы после обзорной части увидеть заключение, какие в свете современных знаний новые факты будут рассмотрены и освещены в ходе диссертационной работе.

Также в описании вакцин к менингококкам диссертант пишет о существовании только двух вариантов вакцин – полисахаридных и конъюгированных, при этом описывает разработки, связанные с использованием рекомбинантных белковых вакцин.

В качестве дискуссионного вопроса к диссертанту предлагаю следующий: в работе серотипирование осуществлялось с использованием ПЦР метода, о чем указано в материалах и методах. При этом автор указывает на несоответствие классической серодиагностики молекулярной. Хотелось бы знать мнение автора относительно адекватности выбранного подхода.

Сильной стороной работы является анализ большого количества штаммов *N. meningitides* на предмет антибиотикоустойчивости, а также на проведенный

существенный объем работ по анализу структуры геномов менингококковых штаммов. В работе имеются опечатки и ненужные англицизмы типа «предикаты», но их немного, и они не мешают пониманию сути получаемых результатов. Заключение по данной работе написано очень профессионально и может быть представлено в виде неплохой обзорной статьи, интересной для многих специалистов.

В целом диссертационная работа Мартенс Э.А. имеет законченный характер и заслуживает высокой оценки.

Заключение

Диссертационная работа Мартенс Эльвиры Акрамовны на тему: «Фенотипическая и генотипическая характеристика *Neisseria meningitidis*, выделенных от больных генерализованными формами инфекции и носителей», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. – Микробиология, выполненная под руководством члена-корреспондента РАН, доктора медицинских наук, профессора Сидоренко Сергея Владимировича, является завершенной научно-квалификационной работой и содержит новое решение актуальной научной задачи (проблемы) – стратегии вакцинопрофилактики. По актуальности, новизне и практической значимости диссертационная работа Мартенс Эльвиры Акрамовны отвечает высоким требованиям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539, с изменениями, внесенными Постановлением Правительства РФ № 751 от 26.05.2020, от 26.09.2022 № 1690 «О внесении изменений в

Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор, Мартенс Эльвира Акрамовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11.– Микробиология (медицинские науки).

Отзыв заслушан и одобрен на заседании отдела молекулярной микробиологии (протокол заседания № 6 от 13.12.2022).

Главный научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» (ФГБНУ «ИЭМ»). Адрес: 197022, Санкт-Петербург, улица Академика Павлова, 12, тел.: +7 (812) 234-68-68, e-mail: iem@iemspb.ru

Доктор медицинских наук, профессор
академик РАН



Тотолян Артем Акопович

Подпись Тотоляна Артема Акоповича заверяю.

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» (ФГБНУ «ИЭМ»). Адрес: 197022, Санкт-Петербург, улица Академика Павлова, 12, тел.: +7 (812) 234-68-68, e-mail: iem@iemspb.ru

Доктор биологических наук



Пшенкина Надежда Николаевна