

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук Кафтыревой Лидии Алексеевны на диссертационную работу Самойленко Ирины Евгеньевны «Обоснование совершенствования микробиологического мониторинга за природными очагами инфекций, вызываемых риккетсиями и бартонеллами», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.11. – микробиология.

Актуальность темы выполненной работы

Сибирский клещевой тиф (СКТ), вызываемый *Rickettsia sibirica*, относится к природно-очаговым инфекциям, распространяемых через присасывание клещей, и продолжает оставаться актуальной проблемой во многих регионах Российской Федерации. В настоящее время отмечено распространение на территории России ранее не известных представителей рода *Rickettsia*, таких как *Rickettsia raoultii* и *Candidatus Rickettsia tarasevichiae*. Из клещевых трансмиссивных инфекций по распространенности клещевые риккетсиозы занимают лидирующие позиции, включая клещевой энцефалит и иксодовые клещевые боррелиозы. Взаимосвязи с биологическими характеристиками клещей, микробиологические особенности культивирования, и патогенетический потенциал возбудителей требуют дальнейшего изучения. Данный аспект определяет актуальность исследований, проведенных диссертантом Самойленко И.Е. Разнообразие антигенных и генетических характеристик риккетсий диктует необходимость комплексного применения классических, и современных молекулярно-генетических методов для детального углубленного изучения биологии возбудителей клещевых риккетсиозов.

На территориях с зарегистрированными случаями СКТ, а также в регионах, в которых ранее заболевания не регистрировали, выявлено разнообразие патогенных и потенциально патогенных риккетсий. Это подчеркивает необходимость разработки новых стратегий

микробиологического контроля природных очагов риккетсиозов и углубленного изучения экологических аспектов в циркуляции возбудителей.

В Российской Федерации зафиксирована циркуляция ранее не известных представителей рода *Rickettsia* (*Rickettsia raoultii*, *Candidatus Rickettsia tarasevichiae*), поэтому детальное изучение их биологических характеристик, включая особенности культивирования, и «патогенетический» потенциал вирулентности требует дальнейшего изучения. Приведенные факты определяют актуальность исследований, проводимых диссертантом.

Для детального изучения гетерогенности популяции возбудителей необходимо применение комплекса методов (классических микробиологических, современных экспериментальных, а также молекулярно-генетических) клещевых риккетсиозов для эпидемиологических и микробиологических заключений.

Кроме известных патогенов, на территории Российской Федерации идентифицированы «новые» микроорганизмы, входящие в класс альфа-протеобактерий (эрлихии, анаплазмы, бартоanelлы), которые могут вызывать заболевания человека. Исследования по изучению распространения бартоanelл на территориях Российской Федерации проводят, но видовой состав данного рода бактерий, выделенных на территории России, в настоящее время не установлен.

В связи с тем, что в одних и тех же эктопаразитах могут одновременно присутствовать вирусные и бактериальные патогены, важной задачей является изучение экосистем, в которых присутствуют возбудители различных трансмиссивных клещевых инфекций. Это требует совершенствования микробиологического мониторинга природных очагов, что позволит достоверно оценивать эпидемиологическую ситуацию и конкретизировать профилактические и противоэпидемические мероприятия.

Учитывая сказанное, диссертационная работа Самойленко И.Е., посвященная изучению «микрoэкологии» представителей рода *Rickettsia* (*Rickettsia raoultii* и *Candidatus Rickettsia tarasevichiae*), экологических

особенностей *Rickettsia raoultii*, взаимного влияния риккетсий различных видов в природных очагах, а также изучению спектра бартонелл в природных очагах на юге Западной Сибири с использованием молекулярно-биологических методов, представляет актуальное микробиологическое и эпидемиологически значимое исследование.

Степень новизны исследований, обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научная новизна диссертационной работы подчёркивается рядом оригинальных результатов. Впервые при непосредственном участии автора идентифицирован «новый» вид риккетсий «*Rickettsia raoultii*», относящийся к группе клещевых пятнистых лихорадок, проведено исследование его генетических и фенотипических особенностей.

Исследование, проведенное на экспериментальной модели (лабораторные клещевые линии) позволило охарактеризовать фенотипические свойства трех генотипов *Rickettsia raoultii*: DnS14, DnS28 и RpA4. Комплекс молекулярно-биологического и микробиологического исследований позволил выявить особенности взаимодействия риккетсий с клещами-переносчиками и сделать вывод о высокой значимости данных штаммов в экологии клещевых риккетсиозов. Получены три патента на изобретение (RUS 2235769; RUS 2616287; RUS 2704449). Экспериментально подтверждено наличие конкурентных взаимоотношений между риккетсиями различных видов в паразитарных системах природных очагов. Установлено, что клещи, зараженные *Rickettsia raoultii*, проявляют устойчивость к последующему инфицированию *Rickettsia sibirica*. Впервые, используя культуры клеток Vero, выделены штаммы *Candidatus Rickettsia tarasevichiae* (патент RUS 2354691).

Применение молекулярно-генетического метода позволило достоверно установить конкретные виды бактерий рода *Bartonella* (*B. grahamii* и *B. taylorii*). Проведенные исследования позволили выявить штаммы *Bartonella*,

принадлежащих к генотипу, которые ранее не встречались в популяции российских штаммов *Bartonella*. Штаммы этого генотипа обнаружены у мелких диких млекопитающих, обитающих в Омской области.

Молекулярно-генетические исследования позволили установить циркуляцию известных видов рода *Bartonella* (*B. grahamii* и *B. taylorii*) у мелких диких млекопитающих на юге Западной Сибири. Выявлен также штамм, который относился к ранее не известному генотипу (автор называет «новый генотип»). В результате идентификации методом мультилокусного анализа генотип получил название «*Candidatus Bartonella rudakovii*».

В процессе выполнения диссертационного исследования выявлен и всесторонне изучен «новый» природный очаг клещевых риккетсиозов на территории Называевского района Омской области: включал два вида патогенных риккетсий – *Rickettsia sibirica* и *Rickettsia raoultii*.

Впервые в России в лабораторной практике, используя современные молекулярно-биологические методы, подтверждена возможность формирования ко-инфекции – «смешанная инфекция», вызванная двумя видами *Rickettsia sibirica* и *Candidatus Rickettsia tarasevichiae*. Заболевание протекало в тяжелой форме с летальным исходом.

Нуклеотидные последовательности генов *Rickettsia raoultii* и *Candidatus Bartonella rudakovii* депонированы в NCBI GenBank. Запатентован (промышленный образец № 134323 от 01.12.2022) «Алгоритм микробиологического мониторинга природных очагов клещевых риккетсиозов».

Созданы электронные базы данных, содержащие информацию о штаммах риккетсий группы клещевой пятнистой лихорадки из коллекции ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора и результатах серологических исследований пациентов на клещевые риккетсиозы.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Диссертационное исследование внесло значительный вклад в теоретическое и в практическое понимание проблемы клещевых риккетсиозов, расширив научные знания о сложных взаимодействиях между видами риккетсий и их переносчиками в природных очагах, а также о механизмах поддержания жизнеспособности популяций риккетсий в естественных резервуарах.

Теоретическая значимость работы заключается в получении новых данных (полученных экспериментально), о конкурентных отношениях двух видов риккетсий: *Rickettsia sibirica* и *Rickettsia raoultii*. Исследование вносит ясность в понимание, как взаимодействия возбудителей могут влиять на эпидемиологическую ситуацию в целом по риккетсиозам на территориях Российской Федерации, в которых регистрируют «природные очаги».

В ходе проведения исследований выявлен и охарактеризован «новый» природный очаг клещевого риккетсиоза в Называевском районе Омской области, в котором совместно «циркулируют» (сосуществуют) классический патоген *Rickettsia sibirica* и сравнительно недавно зарегистрированный *Rickettsia raoultii*. Этот факт демонстрирует продолжающуюся экспансию ареала распространения данной риккетсиозной инфекции.

Выявлены специфические особенности клинической картины заболевания в таких очагах, что позволяет повысить эффективность диагностики и лечения пациентов.

Обоснован и практически подтвержден оптимальный подход к изучению природных очагов клещевых риккетсиозов: комплексное применение молекулярных и культуральных методов. Такой подход позволил диссертанту определить наличие риккетсий в компонентах экосистемы (клещи, мелкие млекопитающие), оценить вирулентность возбудителя, а также экологические особенности природного очага.

Практическая ценность исследования заключается в разработке алгоритма постоянного мониторинга природных очагов, который позволяет

анализировать «пространственно-временную» структуру популяции риккетсий, а также динамику распространения инфекции. Электронные базы данных позволяют наблюдать изменения генетических и фенотипических свойств риккетсий в период наблюдения и своевременно реагировать на изменения в эпидемиологической ситуации на конкретной территории.

Научная значимость заключается в использовании материалов диссертационной работы в образовательном процессе, а также при подготовке различных методических документов. Результаты работы изложены в материалах двух монографий, а также практическое использование результатов – в развитии системы борьбы с клещевыми риккетсиозами.

Достоверность результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях

Результаты, представленные автором, достоверны, что обусловлено разработанной методологией, сфокусированной на достижении поставленной цели исследований. Для обеспечения валидности и надежности полученных данных в рамках исследования был применен комплекс современных микробиологических (риккетсиологических), молекулярно-биологических и серологических методов, отличающихся точностью и специфичностью.

Основные результаты диссертационной работы были представлены и обсуждены на 29 научных и научно-практических конференциях международного, всероссийского и межрегионального уровней.

По теме диссертации опубликовано 40 печатных работ, из них 31 статья в изданиях, включенных в перечень, рекомендованный ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации, а также в зарубежных журналах, индексируемых международными системами цитирования. Материалы диссертации изложены в двух монографиях (в соавторстве), пяти тезисах – в материалах международной конференции и в рецензируемом издании.

Получены 5 патентов на изобретения, 1 патент на промышленный образец, зарегистрированы 2 базы данных, разработаны 3 нормативно-

методических документа.

Опубликованные работы полностью соответствуют тематике диссертационного исследования. Отражают основные научные результаты, ключевые положения и выводы, представленные к защите.

Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации

Диссертационная работа И.Е. Самойленко оформлена в соответствии с требованиями ВАК, предъявляемыми к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук. Работа изложена на 234 страницах, состоит из введения, включающего методологию и методы исследования, обзора литературы, 5 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и списка цитируемой литературы. Список литературы содержит 489 источников: 37 отечественных и 452 зарубежных. Диссертация содержит 13 таблиц и иллюстрирована 15 рисунками.

В «Введение» диссертант аргументирует актуальность исследуемой проблемы, проводит всесторонний анализ степени ее разработанности в научной литературе, формулирует цель и задачи исследования, изложены научная новизна, теоретическая и практическая значимость.

В разделе «Материалы и методы» представлен объем проведенных исследований, определены методологические подходы и аргументирована их эффективность для достижения поставленных задач. Выделены сведения о личном вкладе автора, апробации исследования и полноте его представления в публикациях.

В разделе «Обзор литературы» представлена информация о новых видах риккетсий, их распространении и роли в инфекционной патологии, сведения о видовом спектре бартоanelл и их роли в патологии человека, подробно изложены биологические модели, используемые для изучения риккетсий. В обзоре отмечены значимость темы, нерешенные вопросы и изложены новые направления изучения природно-очаговых инфекций.

Раздел «Результаты собственных исследований» включает пять глав, в которых представлен объем и анализ всех проведенных экспериментов. Во второй главе дано описание «нового» вида риккетсий группы клещевой пятнистой лихорадки *Rickettsia raoultii* sp. nov., представлены характеристика генотипов *Rickettsia raoultii* и особенности культивирования этого вида риккетсий с использованием биологических моделей, определены оптимальные модели для его изоляции и культивирования. Сформулированы экологические особенности *Rickettsia raoultii* (представлены результаты изучения взаимоотношений *Rickettsia raoultii* и переносчиков с использованием клещевой экспериментальной модели). В работе подведены результаты экспериментального изучения межвидового взаимодействия риккетсий на примере *Rickettsia raoultii* и *Rickettsia sibirica*, а также выявлены механизмы сохранения риккетсий данного вида в природных очагах.

Третья глава посвящена с использованием экспериментальных методов изучению биологических свойств *Candidatus Rickettsia tarasevichiae*. Представлен анализ целесообразности использования различных биологических моделей для выделения (автор пишет «изоляции») и культивирования штаммов данного вида риккетсий (культура клеток Vero, морские свинки, сосунки беспородных белых мышей, а также «клещевая» экспериментальная модель), определены оптимальные модели для изучения *Candidatus Rickettsia tarasevichiae*, выявлены перекрестное «реагирование» *Candidatus Rickettsia tarasevichiae* с антителами к риккетсиям групп клещевой пятнистой лихорадки и сыпного тифа, установлен уровень трансовариальной передачи.

В четвертой главе представлены материалы по изучению роли «новых» видов риккетсий в инфекционной патологии человека. Случаи клещевого риккетсиоза, ассоциированные с *Rickettsia raoultii*, подтверждены детекцией ДНК этой риккетсии в клещах, снятых с пациентов в Омской области, а также выявлением антител к *Rickettsia raoultii* (генотипы RpA 4 и DnS 28) у серонегативных к *Rickettsia sibirica* больных с клиническими проявлениями

после присасывания клещей в Новосибирской области и в Алтайском крае.

Описан первый в России случай клещевого риккетсиоза с летальным исходом, ассоциированный с *Candidatus Rickettsia tarasevichiae* и *Rickettsia sibirica* в Красноярском крае. Клинические симптомы ко-инфекции «смешанной» инфекции, представленные в этом исследовании, отличаются от типичных СКТ наличием выраженного менингеального синдрома, воспаления сосудов головного и спинного мозга. Выявлен и изучен новый природный очаг риккетсиозов на территории Омской области с циркуляцией двух видов риккетсий группы КПУ: классического патогена *Rickettsia sibirica* и «нового» патогена *Rickettsia raoultii*, что подтверждено молекулярно-биологическими и серологическими методами.

Пятая глава посвящена изучению «спектра» альфа-протеобактерий, циркулирующих среди мелких млекопитающих в природных очагах Омской области, с применением молекулярно-генетических методов. В образцах из селезенок «полевых-экономов» обнаружен «новый» микроорганизм, входящий в семейство *Rickettsiaceae*, окончательно установить, входит ли эта новая бактерия в род *Rickettsia* или является кандидатом в «новый» род диссертанту не удалось. В органах красных и рыжих полевых автором выявлены бартонеллы близкие к валидированным видам *Bartonella grahamii* и *Bartonella taylorii*, а также образцы, не принадлежащие к известным видам. В результате проведенного мультилокусного анализа автором описан кандидат в «новые» виды бартонелл *Candidatus Bartonella rudakovii*.

В шестой главе представлены новые подходы к проведению микробиологического мониторинга природных очагов риккетсиозов с использованием экспериментальных и молекулярно-биологических методов. Предлагаемый автором алгоритм микробиологического мониторинга природных очагов клещевых риккетсиозов обеспечивает получение достоверной информации об их лиймопотенциале и позволяет прогнозировать динамику их развития. Данный подход базируется на комплексном анализе популяций переносчиков и резервуаров инфекции, циркулирующих штаммов

риккетсий, что в совокупности определяет эпидемиологическую обстановку на конкретной территории. Реализация алгоритма способствует своевременному выявлению изменений в активности очага и разработке эффективных мер профилактики клещевых риккетсиозов.

В разделе «Заключение» представлен всесторонний анализ полученных результатов, проведена их оценка в контексте современной научной литературы, а также подчеркнута теоретическая и практическая значимость проведенного исследования.

Выводы в полной мере соответствуют поставленной цели и задачам, определенным в диссертационной работе Самойленко И.Е., подкреплены конкретными данными, собранными в процессе проведенного исследования, что обеспечивает их обоснованность и достоверность.

В разделе «Практические рекомендации» автор выделяет наиболее значимые предложения, которые могут быть полезными для научных работников и специалистов эпидемиологической службы.

Автореферат диссертационной работы Самойленко И.Е. в полной мере отражает содержание, результаты и выводы диссертации, соответствует тексту диссертационного исследования, текст в достаточной мере подкреплен иллюстрациями и табличными данными. Содержание диссертации и автореферата отвечает установленным требованиям, предъявляемым Высшей аттестационной комиссией Российской Федерации.

Соответствие специальности

По тематике, методам исследования, научным положениям и выводам диссертационная работа соответствует паспорту специальности научных работников 1.5.11. – микробиология (медицинские науки): пункты 1 – «Систематика и филогения микроорганизмов», 8 – «Микробная экология и биогеохимия» и 12 – «Патогенные микроорганизмы, факторы вирулентности и патогенности».

В процессе рассмотрения работы возникли следующие вопросы.

1. Возможно ли использование клещевой экспериментальной модели в прикладных целях?
 2. Можно ли называть *Rickettsia raoultii* «новым» видом, а *Candidatus R. tarasevichiae* кандидатом в новый вид или это ранее не известные науке виды?
 3. В чем заключаются геномные особенности разных генотипов возбудителей?
- Принципиальных замечаний нет, есть три опечатки (пропущенные буквы).

Заключение

Докторская диссертация Самойленко Ирины Евгеньевны «Обоснование совершенствования микробиологического мониторинга за природными очагами инфекций, вызываемых риккетсиями и бартоanelлами», представляет собой завершенное научное исследование, в котором на основании выполненных автором исследований осуществлено решение актуальной научно-практической проблемы – разработан комплексный подход к совершенствованию микробиологического мониторинга за клещевыми риккетсиозами на основе применения молекулярно-генетических методов, использования биологических моделей, включая клещевую экспериментальную модель, обеспечивающий получение достоверной информации о природных очагах. Выполненная работа вносит существенный вклад в развитие микробиологии природно-очаговых инфекций, что имеет важное медико-социальное значение.

По критериям актуальности, научной новизны и практической ценности, диссертационное исследование Самойленко Ирины Евгеньевны в полной мере удовлетворяет требованиям, изложенным в п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в соответствии с Постановлением Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 26.05.2020 г. № 751, от 20.03.2021 г. № 426, от 10.02.2021 г. № 1539, от 26.09.2022 г. № 1690,

от 26.01.2023 г. № 101, от 18.03.2023 г. № 415, от 26.10.2023 г. № 1786, от 25.01.2024 г. № 62, от 16.10.2024 г. № 1382 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), которые предъявляются к диссертациям, представляемым на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а ее автор, Самойленко Ирина Евгеньевна, заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.11. – микробиология.

Официальный оппонент:

Заведующая отделом микробиологии, ведущий научный сотрудник группы эпидемиологии брюшного тифа Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Адрес: 197101, г. Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14.

Тел. +7 921-652-94-91

e-mail: kaflidia@mail.ru

доктор медицинских наук


21.10.2025

Кафтырева Лидия Алексеевна

Подпись Кафтыревой Лидии Алексеевны заверяю:

Ученый секретарь Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

кандидат медицинских наук



Трифонова Галина Федоровна