

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Червинец Юлии Вячеславовны на диссертационную работу Самойленко Ирины Евгеньевны на тему «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 исследования

Клещевые трансмиссивные инфекции (КТИ), к числу которых относятся и клещевые риккетсиозы (КР), представляют серьезную проблему для здравоохранения во многих регионах России и мира. Среди риккетсиозов, передаваемых клещами в нашей стране, наибольшее распространение имеет сибирский клещевой тиф, с этиологическим агентом *Rickettsia sibirica*, с преимущественной локализацией очагов в Северной Азии. В ряду клещевых трансмиссивных инфекций в России по распространенности клещевые риккетсиозы занимают лидирующие позиции вместе с клещевым энцефалитом и иксодовыми клещевыми боррелиозами. В настоящее время накоплен значительный материал по изучению эпидемиологии передаваемых клещами природно-очаговых инфекций и экологии их возбудителей. Кроме давно известных этиологических агентов выявлен ряд микроорганизмов, относящихся к классу альфа-протеобактерий (эрлихии, анаплазмы, бартонеллы), в том числе патогенные для человека. Актуальным является совершенствование микробиологического мониторинга за природными очагами. Использование комплекса классических микробиологических и современных экспериментальных методов позволит изучить экологию альфа-протеобактерий на примере риккетсий и бартонелл и оптимизировать методологические подходы к выявлению спектра и распространения этих инфекционных агентов, их роли в инфекционной патологии.

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

В диссертационной работе, автором впервые описан новый вид риккетсий группы клещевой пятнистой лихорадки – *Rickettsia raoultii* с характеристикой генетических (секвенирование фрагментов генов 16S рРНК) и фенотипических (серотипическая специфичность, особенности культивирования, ультраструктура клетки) свойств.

Впервые с использованием клещевой экспериментальной модели выделены штаммы представителей всех трех генотипов вида *R. raoultii*: DnS14, DnS28, RpA4, и на примере *R. raoultii* и *R. sibirica* экспериментально подтверждены конкурентные отношения риккетсий различных видов в паразитарных системах природных очагов. Установлено, что клещи, содержащие *R. raoultii*, не могут быть дополнительно заражены *R. sibirica* (патент RUS 2723410).

Впервые с использованием культуры клеток изолированы штаммы *Candidatus R. tarasevichiae* (патент на изобретение RUS 2354691).

Автором впервые выявлен на основании молекулярно-генетических исследований не принадлежащий к известным видам новый генотип бартонелл, циркулирующий в популяции мелких диких млекопитающих в Омской области, который идентифицирован с применением молекулярно-биологических методов и описан как *Candidatus Bartonella rudakovii*.

Выявлен и изучен новый природный очаг клещевых риккетсиозов в Называевском районе Омской области. Установлена циркуляция двух видов патогенных риккетсий – *R. sibirica* и *R. raoultii*, установлены переносчики риккетсий в данном очаге – *D. marginatus*, *D. reticulatus*, а также выявлена сероконверсия к *R. sibirica* у пациентов с клиникой сибирского клещевого тифа. Впервые в России молекулярно-биологическими методами верифицирована смешанная инфекция *R. sibirica* и *Candidatus R. tarasevichiae* в случае риккетсиоза с летальным исходом.

Достоверность полученных результатов диссертационной работы Самойленко И.Е. не вызывает сомнений и определяется методологически верифицированными исследованиями, выполненными с применением классических риккетсиологических, молекулярно-биологических и экспериментальных, а также статистических методов исследования для всестороннего изучения природных очагов клещевых риккетсиозов. Размер выборок, использованных в работе, был достаточным для получения статистически значимых данных, и методы обработки данных соответствовали общепринятым стандартам.

Степень достоверности и обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций подтверждается значительным объемом проведенных исследований и репрезентативностью выборок экспериментального материала, использованием современных апробированных методов, сертифицированного и поверенного оборудования, и адекватной статистической обработкой. Основные положения, выводы и рекомендации обоснованы и отражают проведенные исследования.

Все это позволяет заключить, что достоверность и новизна

исследования, а также полученных соискателем результатов, выводов и рекомендаций не вызывает сомнений.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Результаты исследования, полученные Самойленко И.Е., расширяют теоретическое представление о конкурентных отношениях различных видов риккетсий на примере *R. sibirica* и *R. raoultii* и их влиянии на лоймопотенциал сочетанных природных очагов риккетсиозов. Показано, что иксодовые клещи рода *Dermacentor* являются компетентным вектором *R. raoultii*. Выявлен и изучен новый природный очаг клещевого риккетсиоза в Называевском районе Омской области с циркуляцией как классического патогена *R. sibirica*, так и нового патогена *R. raoultii*, что является подтверждением продолжающегося процесса формирования нозоареала этой инфекции.

Теоретически обоснована и практически подтверждена целесообразность применения комплекса молекулярных и культуральных методов исследования для всестороннего изучения природных очагов клещевых риккетсиозов. Разработан алгоритм микробиологического мониторинга природных очагов клещевых риккетсиозов с использованием комплекса методов: классических риккетсиологических, молекулярно-биологических и экспериментальных методов, в котором даны рекомендации по оценке спектра риккетсий и подходы к повышению эффективности микробиологического мониторинга популяции риккетсий в природных очагах клещевых риккетсиозов.

Результаты исследований включены в монографии и вошли в материалы Государственного доклада «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2023 году» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Материалы диссертации используются в учебном процессе в программах высшего образования по специальностям «лечебное дело», «медико-профилактическое дело» и «педиатрия» на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (акт внедрения от 02.10.2023 г.) и Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (акт внедрения от 02.10.2023 г.).

**Апробация результатов исследования,
в том числе публикаций в рецензируемых изданиях**

Работа выполнялась в рамках научно-исследовательской работы ФБУН Омского НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора: «Оптимизация системы эпидемиологического надзора на основе уточнения этиологической роли новых клещевых альфа-протеобактерий и боррелий в инфекционной патологии населения Сибири в сочетанных природных очагах» № ГР. 01.2.007 03766; «Совершенствование системы комплексного мониторинга природных очагов и лабораторной диагностики инфекций, вызываемых альфа-протеобактериями, боррелиями и другими бактериальными патогенами» № ГР: 01.200.1 12522; «Разработка алгоритмов мониторинга природных очагов и лабораторной диагностики клещевых риккетсиозов на основе молекулярно биологических и твердофазных методов» (01.2016-12.2020) АААА-А16-116021210007-9; «Молекулярно-эпидемиологический мониторинг и оценка современного состояния очагов клещевых риккетсиозов в Российской Федерации» № ГУ НИОКТР 121020500116 1. Диссертация апробирована на заседании Ученого совета ФБУН Омский НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора (протокол № 9 от 30.11.2023 г.). Материалы диссертации доложены и представлены на международных, всероссийских и региональных научно-практических конференциях.

По теме диссертации опубликованы 40 печатных работ, в том числе 31 статья в изданиях, входящих в перечень, рекомендованный ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации и в зарубежных журналах, входящих в международные системы цитирования, 2 статьи в других изданиях, 3 тезиса в рецензируемом издании, 2 монографии в соавторстве, 2 тезиса в материалах международных конференций.

Оценка содержания, завершенности и оформления диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, 5 глав собственных исследований, заключения, выводов и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 234 страницах, содержит 15 рисунков и 13 таблиц. Список литературы содержит 489 источников: 37 отечественных и 452 зарубежных.

Обзор литературы информативен, в нем подробно освещены необходимые для понимания сути работы факты и гипотезы. Цели и задачи сформулированы четко и корректно. В разделе «Методология и методы исследования» дана подробная информация о примененных методиках, а также методы статистического анализа результатов исследования.

Результаты собственных исследований последовательно изложены в

пяти главах. Во второй главе описан дизайн диссертационного исследования поэтапно в виде схем и доступных для понимания рисунков.

Вторая глава диссертационного исследования посвящена описанию *R. raoultii* – нового вида риккетсий группы клещевой пятнистой лихорадки, включающей в себя характеристику генотипов *R. raoultii*, особенности культивирования *R. raoultii* с использованием биологических моделей (морские свинки, куриные эмбрионы, культуры клеток и экспериментальная клещевая модель), особенности взаимоотношений риккетсий нового вида *R. raoultii* и переносчиков с использованием клещевой экспериментальной модели, а также экспериментальное изучение межвидового взаимодействия риккетсий на примере *R. raoultii* и *R. sibirica*.

В третьей главе дана характеристика биологических свойств *Candidatus R. tarasevichiae* с использованием экспериментальных методов. Было показано, что оптимальные условия для изоляции и культивирования *Candidatus R. tarasevichiae* наиболее полноценно обеспечивает использование клеточных культур и КЭМ (клещевой экспериментальной модели).

В четвертой главе диссертантом показана роль новых видов риккетсий в инфекционной патологии человека: описаны случаи клещевого риккетсиоза, ассоциированные с *R. raoultii* в Омской области, описаны случаи клещевого риккетсиоза с летальным исходом, ассоциированные с *Candidatus R. tarasevichiae* и *R. sibirica* в Красноярском крае, описаны новые очаги клещевых риккетсиозов в Омской области. Диссертант с использованием комплекса серологических и молекулярно-биологических методов подтвердил наличие природного очага риккетсиоза с циркуляцией двух видов риккетсий группы КПЛ: классического патогена *R. sibirica* и нового патогена *R. raoultii*.

В пятой главе дана характеристика спектра альфа-протеобактерий (риккетсии и бартоanelлы), циркулирующих среди мелких диких млекопитающих в природных очагах омской области с применением молекулярно-генетических методов.

В шестой главе подробно изложен новый подход к микробиологическому мониторингу природных очагов риккетсиозов с использованием экспериментальных и молекулярно-биологических методов. Предлагаемый диссертантом алгоритм микробиологического мониторинга природных очагов клещевых риккетсиозов включающий четыре этапа: скрининг ДНК риккетсий в клещах и мелких диких млекопитающих; изучение видового разнообразия риккетсий, циркулирующих в очаге, в том числе в материале от больных; изучение биологических свойств риккетсий в популяции конкретного очага; изучение механизмов сохранения популяции риккетсий в очаге (в том числе изучение экологической связи риккетсий и переносчиков, изучение характера

взаимодействия различных видов риккетсий с выявлением потенциальных их взаимоотношений) позволяет в полном объеме получать адекватную информацию о состоянии природного очага и прогнозировать его развитие.

Главы, посвященные собственным исследованиям, хорошо иллюстрированы 15 рисунками, 13 таблицами и содержат всю необходимую для анализа и оценки информацию.

В заключении аргументированы основные научные положения. Содержание работы соответствует поставленной цели.

Выводы и практические рекомендации логично следуют из поставленных задач и соответствуют основным положениям диссертации, полностью отражают результаты исследования, отличаются четкостью формулировок и обоснованностью.

Соответствие специальности

Автореферат соответствует существующим требованиям, достаточно полно отражает содержание диссертации, содержит научные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации, список, опубликованных автором публикаций и патентов. Диссертация, выполненная Самойленко Ириной Евгеньевной, соответствует паспорту специальности 1.5.11. – микробиология (медицинские науки).

Основные замечания и вопросы по рассматриваемой работе

Диссертационная работа Самойленко И.Е. выполнена на высоком уровне.

1. *Замечания по тексту.* Замечаний по тексту не обнаружено.
2. *Замечания к рисункам и таблицам.* Замечаний не обнаружено.
3. *Вопросы:*

- Как Вы думаете, как часто появляются новые генотипы риккетсий на территории России?
- Как Вы думаете, утяжеляется ли течение клинической картины заболеваний у человека, вызванное новыми генотипами риккетсий?

Заключение

Диссертационная работа Самойленко Ирины Евгеньевны на тему «Обоснование совершенствования микробиологического мониторинга за природными очагами инфекций, вызываемых риккетсиями и бартонеллами», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 1.5.11. – микробиология (медицинские науки), является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится

решение актуальной научной проблемы по всестороннему изучению природных очагов риккетсиозов, включающее в себя использование «Алгоритма микробиологического мониторинга природных очагов клещевых риккетсиозов», содержащего комплекс риккетсиологических, молекулярно-биологических и экспериментальных методов, а также поэтапное исследование, от скрининга ДНК риккетсий в клещах и мелких диких млекопитающих до изучения механизмов сохранения популяции риккетсий. По актуальности, новизне и практической значимости диссертационная работа Самойленко Ирины Евгеньевны отвечает требованиям 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 № 751, от 20.03.2021 № 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»), предъявляемым к диссертациям 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:

заведующий кафедрой микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Тверской государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 170100, г. Тверь, ул. Советская, д. 4.

Тел. +7 960-703-01-25, e-mail: julia_chervinec@mail.ru

доктор медицинских наук, профессор  Юлия Вячеславовна Червинец

16.10.2023

Подпись Юлии Вячеславовны Червинец заверяю:

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

Адрес: 170100, г. Тверь, ул. Советская, д. 4.

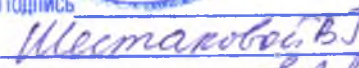
Тел. +7 910-647-15-10, e-mail: vgshestakova@tvgmu.ru

доктор медицинских наук

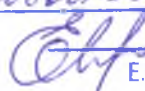


Валерия Геннадьевна Шестакова

Подпись

 удостоверяю

Зам. нач. управления

 Е.Е. Лучникова