

ОТЗЫВ

официального оппонента академика РАН, профессора, доктора медицинских наук Куличенко Александра Николаевича на диссертационную работу Колясниковой Надежды Михайловны «Совершенствование эпидемиологического надзора за клещевым энцефалитом и бактериальными инфекциями, передающимися иксодовыми клещами», представленную к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.2.2. Эпидемиология и 1.5.10. Вирусология.

Актуальность темы диссертационной работы

Проблема заболеваемости трансмиссивными клещевыми инфекциями в Российской Федерации (РФ) обусловлена многообразием возбудителей, вызывающих заболевания различной природы (вирусной, бактериальной, протозойной), которые могут закончиться инвалидизацией, хронизацией, нередко смертью больного, а также отсутствием четких алгоритмов ранней диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами, особенно в условиях сочетанности природных очагов. Генетическое разнообразие трансмиссивных клещевых инфекций обуславливает клинические и эпидемиологические особенности, вызываемых ими заболеваний. Для некоторых возбудителей патогенный потенциал изучен недостаточно. Поэтому потребность в совершенствовании диагностического обеспечения (совершенствование информационной и диагностической подсистем) эпидемиологического надзора за инфекциями, передающимися иксодовыми клещами, и оптимизацией профилактических мероприятий делают работу Колясниковой Н.М. актуальной и современной.

Целью исследования явилось совершенствование эпидемиологического надзора за клещевым энцефалитом и бактериальными инфекциями, передающимися иксодовыми клещами, в условиях сочетанности природных очагов, на основе молекулярно-биологического мониторинга и внедрения алгоритма их дифференциальной диагностики. В процессе работы автором поставлены и решены 8 задач.

1. Провести анализ проявлений эпидемического процесса клещевым энцефалитом (КЭ), болезнью Лайма (БЛ), моноцитарным эрлихиозом

человека (МЭЧ), гранулоцитарным анаплазмозом человека (ГАЧ) на территории РФ и отдельно – Свердловской области.

2. Оценить социально-экономическое бремя КЭ и БЛ в РФ.
3. Разработать, оптимизировать и апробировать ПЦР-методики в режиме реального времени для выявления вируса КЭ и возбудителей бактериальных инфекций, передающихся иксодовыми клещами.
4. Провести молекулярно-биологический мониторинг распространения вируса КЭ и возбудителей бактериальных инфекций, передающихся иксодовыми клещами.
5. Выявить эпидемиологические, клинико-лабораторные и молекулярно-генетические особенности КЭ и бактериальных инфекций, передающихся иксодовыми клещами, в условиях сочетанности природных очагов.
6. Оценить возможности специфической лабораторной диагностики КЭ и бактериальных инфекций, передающихся иксодовыми клещами.
7. Изучить этиологическую роль и патогенный потенциал доминирующего на территории РФ сибирского подтипа вируса КЭ.
8. Научно обосновать пути совершенствования эпидемиологического надзора за КЭ и бактериальными инфекциями, передающимися иксодовыми клещами, включающие молекулярно-биологический мониторинг и алгоритм дифференциальной диагностики.

Научная новизна исследования

В представленной диссертационной работе автором определены вероятные причины выраженного снижения заболеваемости КЭ, БЛ, МЭЧ и ГАЧ в РФ и по субъектам в период пандемии COVID-19, а также дана оценка современной эпидемиологической ситуации по данным инфекциям, характеризующаяся тенденцией к снижению заболеваемости за 17-летний период (2005-2021 гг.).

Впервые проведена оценка социально-экономического бремени КЭ и БЛ в РФ. Сделан вывод о том, что рассчитанный социально-экономический ущерб обусловлен как числом заболевших, так и стоимостью медицинской помощи в регионах РФ.

Впервые разработаны две методики для одновременного выявления с помощью ПЦР в режиме реального времени 4 клещевых патогенов (вируса КЭ, боррелий комплекса *Borrelia burgdorferi* s.l., *Anaplasma phagocytophilum*,

Ehrlichia chaffeensis/Ehrlichia muris), а также *Borrelia miyamotoi* в клещах и клиническом материале.

Впервые проведена комплексная дифференциальная диагностика КЭ и схожих с ним по эпидемиологическим и клинико-лабораторным данным бактериальных клещевых инфекций, изучена этиология безэритемных форм боррелиоза на эндемичной территории (Свердловская область), определены молекулярно-генетические характеристики возбудителей.

Разработан и оптимизирован протокол, позволивший впервые выделить из крови пациентов культуры (штаммы) нового возбудителя безэритемных форм боррелиоза – *B. miyamotoi*.

Впервые при остром и хроническом КЭ у вакцинированных пациентов выявлены три варианта динамики гуморального иммунитета (по IgG): сероконверсия, стабильные титры антител, обратная (негативная) динамика антител, а также определены критерии специфической лабораторной диагностики КЭ у привитых.

Определена этиологическая роль и патогенный потенциал доминирующего на территории РФ сибирского подтипа вируса КЭ.

Научно обоснован и усовершенствован алгоритм дифференциальной диагностики КЭ и бактериальных инфекций, передающихся клещами рода *Ixodes*, что позволит оптимизировать систему профилактических мероприятий после присасывания клеща и оказания медицинской помощи населению с клещевыми инфекциями в РФ.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Приведены новые данные о современной эпидемиологической ситуации по КЭ, БЛ, МЭЧ и ГАЧ, в т.ч. в период пандемии COVID-19.

Установлено, что величина и направленность средств, вкладываемых в профилактические, противоэпидемические и лечебные мероприятия, должны определяться дифференцировано, предложена медико-экономическая методологии для принятия соответствующих управленческих решений.

Разработанный и внедренный в практику диагностический комплекс ПЦР-методик в режиме реального времени позволяет повысить эффективность микробиологического мониторинга в системе эпидемиологического надзора и качество лабораторной диагностики трансмиссивных клещевых инфекций.

Разработана технология культивирования нового возбудителя боррелиоза – *B. miyamotoi*, получены и закреплены российские клинические изоляты (штаммы) *B. miyamotoi*. Выделенные штаммы *B. miyamotoi* депонированы в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» (В-8814, В-8810, В-8813, В-8811, В-8812, В-8809).

Нуклеотидные последовательности полноразмерного гена белка E изолятов РНК и штаммов вируса КЭ (49 последовательностей), 5S-23S 16S рРНК и флагеллина *Borrelia* spp., включая *B. miyamotoi* (22 последовательности), полногеномные сиквенсы хромосом и плазмид штаммов *B. miyamotoi* (более 20 последовательностей), выделенные от больных и клещей, депонированы в международный компьютерный банк данных GenBank.

На основе научно обоснованного алгоритма дифференциальной диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами усовершенствованы информационная и диагностическая подсистемы эпидемиологического надзора.

Результаты исследования использованы при составлении Санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.3310-15 «Профилактика инфекций, передающихся иксодовыми клещами», Санитарных правил и норм СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», а также целого ряда учебных пособий и руководств.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключения, сформулированных в диссертации

Степень достоверности полученных результатов исследования определяется достаточным объемом и репрезентативностью материала, использованием современных подходов к проведению эпидемиологических, вирусологических, микробиологических, иммунологических, молекулярно-биологических, иммуногистохимических, математических и статистических исследований, что соответствует принципам доказательной медицины.

Несомненным достоинством работы является комплексный подход с применением современных методов исследования для оценки этиологического пейзажа инфекций, передающихся иксодовыми клещами, на примере высокоэндемичной территории – Свердловской области.

Основные научные положения работы, выводы и практические рекомендации, сформулированные в диссертационной работе, обоснованы, достоверны логично вытекают из результатов исследований и подтверждены современными статистическими методами.

Полнота изложения основных результатов диссертации в научных публикациях

По материалам диссертации опубликовано 77 научных работ, в том числе статей отражающих основные результаты диссертации – 25, из них: в изданиях из перечня ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора наук – 18 статей, в журналах, включенных в международные базы (Web of Science, Scopus, PubMed) – 7 статей; 12 глав в четырех монографиях (3 – в отечественных и 1 – в зарубежной) и 1 учебное пособие. Автореферат в полной мере отражает суть диссертационной работы.

Основное содержание диссертационного исследования

Во введении автор убедительно обосновывает актуальность проблемы. Определена степень разработанности темы. Цели и задачи сформулированы четко и в полной мере дают представление о дизайне запланированных исследований. В обзоре научной литературы материал представлен четко, структурирован по пяти возбудителям, вызывающим трансмиссивные клещевые инфекции. Обобщены данные отечественных и зарубежных исследователей по этиологии, экологии, эпидемиологии, патогенезу, клиническим проявлениям, диагностике, специфической профилактике и лечению. Дополнительно представлена актуальная информация по сочетанным клещевым инфекциям. Рассмотрен эпидемиологический надзор за инфекциями, передающимися иксодовыми клещами. Все это свидетельствует о глубоком знании проблемы автором.

Вторая глава посвящена материалам и методам исследования, которая хорошо структурирована.

В третьей главе представлен анализ заболеваемости КЭ, БЛ, МЭЧ и ГАЧ в РФ, а также оценен показатель обращаемости населения по поводу присасывания клещей за 17-летний период. Охарактеризованы территориальное распределение, динамика уровня и структуры

заболеваемости в РФ и по субъектам РФ, а также более подробно на отдельной высокоэндемичной территории – Свердловской области, где были преимущественно сосредоточены исследования.

В четвертой главе представлена оценка социально-экономического бремени КЭ и БЛ в РФ на основе разработанной математической модели, описывающей возможные затраты, связанные с изучаемыми заболеваниями, а также количество потерянных лет жизни с поправкой на нетрудоспособность и снижение качества жизни (DALY).

В пятой главе представлена информация по разработке и апробации двух ПЦР-методик в режиме реального времени: первая методика предназначена для одновременного выявления четырех эпидемиологически значимых возбудителей КЭ, БЛ, МЭЧ и ГАЧ, а вторая – для выявления *Borrelia miyamotoi* – нового возбудителя безэритемных форм боррелиоза.

В шестой главе приведены результаты молекулярно-биологического мониторинга пяти возбудителей клещевых инфекций – КЭ, БЛ, БМ, ГАЧ и МЭЧ в основных переносчиках клещей видов *Ixodes persulcatus* и *Ixodes ricinus* на территории 12 регионов из 6 федеральных округов РФ (Центрального, Северо-западного, Северо-Кавказского, Уральского, Приволжского, Сибирского) и за ее пределами (Республика Казахстан). Показана частота микст-инфицирования переносчиков.

В седьмой главе описаны эпидемиологические, клинико-лабораторные, молекулярно-генетические характеристики КЭ, БЛ, БМ, ГАЧ и МЭЧ на территории Свердловской области, проведено изучение изолятов (штаммов) *B. miyamotoi* к антибактериальным препаратам.

В восьмой главе представлены результаты специфической лабораторной диагностики КЭ, включая КЭ у вакцинированных пациентов, и бактериальных инфекций – БЛ, БМ, ГАЧ и МЭЧ.

В девятой главе проведено изучение этиологической роли и патогенного потенциала доминирующего на территории России сибирского подтипа вируса КЭ, проведено изучение нейроинвазивных и нейровирулентных свойств штаммов, выделенных в период 2008-2021 гг. при различных клинических формах заболевания, включая очаговые с летальным исходом, в том числе у вакцинированных пациентов. В данной главе описаны возможные механизмы развития патологического процесса у вакцинированных и невакцинированных пациентов.

В десятой главе автор раскрывает научно-обоснованные подходы по совершенствованию эпидемиологического надзора за клещевым энцефалитом и бактериальными инфекциями, передающимися иксодовыми клещами, на основе молекулярно-биологического мониторинга и внедрения алгоритма их дифференциальной диагностики.

Раздел «Заключение» в краткой форме обобщает результаты проведенных исследований, в целом построен логично и убедительно.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа Колясниковой Надежды Михайловны на тему: «Совершенствование эпидемиологического надзора за клещевым энцефалитом и бактериальными инфекциями, передающимися иксодовыми клещами» соответствует паспорту специальности 3.2.2. Эпидемиология и паспорту специальности 1.5.10. Вирусология. Результаты проведенного исследования соответствуют областям исследований: пунктам 2, 4, 5 паспорта специальности 3.2.2. Эпидемиология и 6, 7, 8, 10 паспорта специальности 1.5.10. Вирусология.

Личный вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования: от анализа отечественной и зарубежной научной литературы, планирования дизайна исследования до анализа полученных результатов, их обсуждения, публикации и внедрения в практику.

Выводы и практические рекомендации представлены на основании результатов выполненной работы. Выводы четко сформулированы, соответствуют цели, задачам исследования и положениям, выносимым на защиту.

Диссертация содержит полный и доступный научный материал, по структуре и оформлению соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям. Автореферат полностью соответствует тексту диссертации.

По материалам диссертации имеется ряд вопросов и замечаний:

1. По задаче «5» - не понятно какие именно молекулярно-генетические особенности КЭ и бактериальных инфекций, передающихся иксодовыми клещами, автор собирается выявить в условиях сочетанности природных очагов? Возможно это неудачно сформулированная фраза.

2. Вызывает сомнение правомочность термина «специфическая лабораторная диагностика». Есть специфическая и неспецифическая индикация. Неспецифической диагностики нет.

3. Хотелось бы услышать более четко - как именно на практике будет усовершенствован мониторинг инфекций, передающихся иксодовыми клещами в плане повышения эффективности эпидемиологического надзора.

В оппонируемой диссертации имеются немногочисленные стилистические погрешности, не снижающие общей положительной оценки работы.

Заключение

Диссертационная работа Колясниковой Надежды Михайловны на тему «Совершенствование эпидемиологического надзора за клещевым энцефалитом и бактериальными инфекциями, передающимися иксодовыми клещами», представленная к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.2.2. Эпидемиология и 1.5.10. Вирусология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена научная проблема совершенствования эпидемиологического надзора за клещевым энцефалитом и бактериальными инфекциями, передающимися иксодовыми клещами, в части молекулярно-биологического мониторинга и внедрения алгоритма дифференциальной диагностики, включающего данные эпидемиологического анамнеза, клинико-лабораторных проявлений и результатов комплексного применения современных молекулярно-генетических и серологических методов исследования, имеющая важное хозяйственное значение.

По своей актуальности, новизне, фундаментальной и научно-практической значимости, уровню выполнения, научно-практической ценности полученных результатов диссертационная работа Колясниковой Надежды Михайловны полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в ред. Постановлений Правительства РФ №335 от 21.04.2016 г.; №650 от 29.05.2017 г.; №1024 от 28.08.2017 г.; №1168 от 01.10.2018 г.; № 426 от 20.03.2021 г.; №1539 от 11.09.2021 г.), предъявляемым ВАК

Министерства образования и науки РФ к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.2.2. Эпидемиология и 1.5.10. Вирусология, а ее автор по совокупности представленных им материалов, теоретической и научно-практической значимости, ценности полученных результатов, личному вкладу заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.2.2. Эпидемиология и 1.5.10. Вирусология.

Согласен на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «интернет» моих персональных данных (в соответствии с требованиями Приказа Минобрнауки России № 662 от 01.07.2015 г.), необходимых для работы диссертационного совета 64.1.010.01.

Официальный оппонент:

Директор ФКУЗ

Ставропольский научно-исследовательский
противочумный институт Роспотребнадзора,
академик РАН, доктор медицинских наук,
профессор



Куличенко А.Н.

Адрес: 355315 г. Ставрополь, ул Советская 13-15.

Тел.: +7(962)440-33-73

E-mail: kulichenko_an@list.ru

Подпись А.Н. Куличенко удостоверяю.

Ученый секретарь ФКУЗ Ставропольский
научно-исследовательский противочумный
институт Роспотребнадзора



Красовская Т.Л.

