

## ОТЗЫВ

официального оппонента Н.В. Рудакова

на диссертацию Бесхлебовой Ольги Васильевны

на тему «Структура и клинико-лабораторная характеристика клещевых инфекций в Алтайском крае», представленной на соискание степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни

### **Актуальность избранной темы**

Несмотря на широкую распространенность и существенный вклад в инфекционную патологию ряда природно-очаговых инфекций, возбудители которых передаются через присасывание иксодовых клещей (далее - клещевых инфекций), а также усилия, направленные на улучшение их лабораторного выявления, эпидемиологического надзора и контроля в России, их истинный вклад в патологию населения нельзя признать достаточно изученным. Так, к числу официально регистрируемых клещевых инфекций, несмотря на расширение их списка в формах №1 и №2 Росстата «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», относятся только 7 нозологических форм - клещевой энцефалит (КЭ), иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ), клещевые риккетсиозы (сибирский клещевой тиф – СКТ и Астраханская пятнистая лихорадка – АПЛ), Крымская-Конго геморрагическая лихорадка (ККГЛ), гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ), моноцитарный эрлихиоз человека (МЭЧ). Вместе с тем, на территории Российской Федерации широко распространены представители таких родов клещей, как *Ixodes*, *Dermacentor*, *Hyalomma*, *Haemaphysalis*, *Rhipicephalus*, выступающих переносчиками многих патогенных агентов вирусной и бактериальной природы. Достаточно сказать, что по данным Д.К. Львова с соавторами (2013) на территории Российской Федерации циркулирует более 50 видов арбовирусов. Одним из таких ранее открытых (1962 г.), но к настоящему времени практически «забытых» арбовирусных агентов, значение которого в инфекционной патологии изучено недостаточно, является представитель рода орбивирус – вирус Кемерово.

По разнообразию видов и численности иксодовых клещей и связанных с ними инфекционных агентов Алтайский край является уникальной территорией РФ, однако реальный вклад их в региональную инфекционную патологию изучен неполно, прежде всего в связи с недостаточным внедрением в диагностический процесс современных лабораторных технологий. Новые возможности для изучения экологии патогенных

микроорганизмов, их вклада в инфекционную патологию дает внедрение современных методов диагностики, основанных на достижениях молекулярной биологии.

В связи с указанным, изучение распространения патогенных клещевых микроорганизмов и их вклада в региональную инфекционную патологию на контрастных по ландшафтно-эпидемиологическим условиям и иксодофауне территориям Российской Федерации, а также разработка алгоритмов лабораторного обследования больных с подозрением на клещевые инфекции на основе современных методов диагностики имеет несомненную актуальность и научно-практическую значимость.

Исходя из вышесказанного, диссертационное исследование О.В. Бесхлебовой, направленное на определение этиологической структуры клещевых инфекций и особенностей их клинического проявления на примере Алтайского края с учетом результатов комплексного лабораторного обследования, обладает существенным уровнем новизны и актуальности.

#### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Автором в течение 2013-2016 гг. обследовано 213 больных, госпитализированных в инфекционное отделение ГБ № 5 г. Барнаула с различными клещевыми инфекциями. Для документации полученных при обследовании данных разработана и заполнялась «Карта клинического и лабораторного обследования больного клещевой инфекцией».

Для выявления этиологических агентов одновременно исследовали различные биологические материалы от заболевших (цельная кровь, сыворотки крови в динамике инфекционного процесса, биоптаты и корочки с места первичного аффекта) с помощью современных молекулярно-генетических (ПЦР-секвенирование) и серологических (ИФА, иммуночипы) методов.

Для динамической оценки состояния объекта (больной человек) в различные периоды заболевания использовались общепринятые в клинической практике эмпирические методы, включая опрос пациента, физикальное, клинико-лабораторное и инструментальное обследование.

В эпидемические сезоны 2013-2015 гг. в районах Алтайского края, расположенных в степных и лесостепных ландшафтах, из природных станций собрано 228 экземпляров иксодовых клещей четырех видов, с людей, подвергшихся их нападению – 234 экземпляра. Видовая принадлежность снятых переносчиков определена молекулярно-генетическими методами.

Собранный материал исследовали молекулярными методами для выявления генетических маркеров следующих инфекционных агентов: риккетсий группы пятнистой

лихорадки, вируса клещевого энцефалита, вируса Кемерово, *Borrelia burgdorferi*, *Ehlichia chaffeensis*, *Anaplasma phagocytophilum*. Исследования проводили методом ПЦР в реальном времени с помощью набора реагентов АмплиСенс TBEV, *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*/*E. muris*-FL, набора реагентов для детекции РНК вируса Кемерово, а также праймеров и зонда для детекции возбудителей группы клещевой пятнистой лихорадки.

Количество материала, его географическая представленность и обработка адекватны поставленной цели исследования. В работе проанализирован обширный фактический клинический и лабораторный материал. Основные положения диссертации четко сформулированы и аргументированы. Выводы закономерно вытекают из полученных результатов проведенного исследования и имеют научное и практическое значение.

Таким образом, достаточный объем исследованной выборки, информативность методических подходов, сопоставление полученных результатов с данными современной научной литературы дают основание для заключения о достаточной обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

#### **Достоверность и новизна исследования и полученных результатов**

Достоверность диссертационного исследования О.В. Бесхлебовой определяется достаточным объемом исследованного материала. Для решения поставленных задач использованы стандартизованные клинические, эпидемиологические, клинко-лабораторные, серологические, молекулярно-биологические и статистические методы.

Новизна исследования несомненна и определяется тем, что применение молекулярно-биологических методов позволило впервые выявить нозологическую структуру клещевых инфекций и этиологическую роль *Rickettsia heilongjiangensis* в возникновении случая клещевого риккетсиоза в Алтайском крае. Впервые на территории края в клещах установлено наличие вируса Кемерово.

Проведено сравнительное изучение информативности современных лабораторных методов обследования больных клещевыми инфекциями: ПЦР и ИФА для клещевых риккетсиозов, ПЦР и иммуночипа для ИКБ, в результате чего показаны преимущества методов выявления антител для верификации диагнозов этих инфекций.

Описаны случаи моноинфекции гранулоцитарного анаплазмоза человека и риккетсиоза, вызванного *Rickettsia heilongjiangensis*, изучена клиническая характеристика основных клещевых инфекций в крае, в том числе их микст-форм, с учетом частоты встречаемости отдельных клинических проявлений.

#### **Значимость для науки и практики выводов и рекомендаций**

Полученные материалы представляют интерес для оценки структуры клещевых инфекций в природных очагах и вклада различных клещевых патогенов в краевую инфекционную патологию, а также для практической медицины в целях повышения качества клинико-лабораторного выявления отдельных нозологических форм этой группы инфекций.

Фундаментальное значение исследований заключается в том, что проведенная работа существенно увеличила объем информации о спектре циркулирующих на территории края клещевых патогенов, что создало необходимую базу для проведения дальнейших исследований по совершенствованию клинико-эпидемиологической и лабораторной диагностики вызываемых ими инфекций в целях более эффективной верификации диагнозов, лечения и профилактики.

Прикладное значение работы заключается в том, что проведенная автором на основе полученных материалов оценка клинической картины клещевых инфекций и их микст-форм, а также сравнительная оценка молекулярно-биологических и серологических методов их обследования позволили обосновывать предварительный диагноз, разработать схему-алгоритм лабораторного обследования больных с подозрением на клещевые инфекции и оптимизировать качество и своевременность их диагностики.

#### **Оценка содержания диссертации, ее завершенности в целом, подтверждение публикаций**

Диссертация изложена на 165 страницах печатного текста, включает 19 рисунков, 18 таблиц (общий объем без приложений – 161 страница), 2 приложения. Работа состоит из введения, обзора литературы, главы «Материал и методы», 4 глав собственных результатов, схемы-алгоритма лабораторного обследования больных с подозрением на клещевые инфекции, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы, включающего 145 отечественных и 103 - зарубежных источников, приложений.

Во введении обоснованы актуальность и выбор темы диссертации, корректно представлена научная новизна, практическая и теоретическая значимость работы. Достаточно логично сформулированы цель и четыре задачи исследования.

Глава 1 (обзор литературы) включает анализ публикаций, который позволяет составить представление о состоянии изучения клинико-лабораторных характеристик и диагностики клещевых риккетсиозов, боррелиозов, гранулоцитарного анаплазмоза и моноцитарного эрлихиоза человека.

В главе 2 автор дает общую характеристику исследования, подробно описывает методы исследования, включая молекулярно-биологические, серологические,

статистической обработки, которые вполне адекватны поставленным задачам и современны. В главах 3-6 дается описание результатов исследования, содержится большой фактический материал, иллюстрированный таблицами и рисунками с проведением необходимой статистической обработки. Изложение материала построено логично, в общепринятом ключе. Интерпретация результатов в Заключение вполне корректна и сопоставляется с исследованиями других авторов. Выводы логически вытекают из сущности проведенных исследований. По результатам работы даны практические рекомендации.

Результаты работы были представлены и обсуждены на ряде научных и научно-практических конференций в 2014-2017 гг. По теме диссертации опубликовано 16 печатных работ, в том числе одна монография, 5 – в рецензируемых изданиях, три из которых входят в базу Scopus. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах.

Автореферат адекватно отражает содержание диссертационной работы. Диссертация написана правильным литературным языком. В целом работа представляет собой завершённое научное исследование.

В плане обсуждения выполненной диссертационной работы хотелось бы отметить следующее.

Несомненный научный и практический интерес представляют материалы, представленные в главе 3, в которой дается клинико-лабораторная характеристика клещевых риккетсиозов в Алтайском крае. Выделено три группы больных: «ПЦР-положительных», «серопозитивных» и «серо- и ПЦР-негативных». Убедительно показано, что независимо от результатов лабораторных исследований КР в сравниваемых группах протекал в абсолютном большинстве в типичной форме, достоверных различий в частоте встречаемости основных симптомов и в их длительности (кроме длительности регионарного лимфаденита у «ПЦР-положительных») выявлено не было. В условиях отсутствия в настоящее время отечественных сертифицированных тест-систем для серологической диагностики это свидетельствует о возможности клинической диагностики этой инфекции. Вместе с тем автором показана достаточно высокая эффективность применения для серологической верификации риккетсиозов в Алтайском крае с помощью импортной (испанской) тест- системы «*Rickettsia conorii* ELISA IgM/IgG» за счет групповой специфичности выявляемых в ИФА антител.

В главе 4 приводится клинико-лабораторная характеристика клещевых боррелиозов в Алтайском крае. Доля клещей рода *Ixodes*, инфицированных *Borrelia miyamotoi*, существенно ниже (5,2%), чем *Borrelia burgdorferi* s.l. (28,3%), при этом случаев

боррелиоза, связанных с *Borrelia miyamotoi*, по результатам серологического исследования с определением антител с помощью иммуночипа не выявлено. Интересно, что ни у одного из пациентов с серологически подтвержденным диагнозом ИКБ методом ПЦР в реальном времени в сыворотках крови не была обнаружена ДНК боррелий.

В главе 5 дана клинико-лабораторная характеристика клещевых микст-инфекций. Особенностью клинической картины этих форм является то, что до проведения лабораторных методов обследования ни у одного из пациентов не была заподозрена микст-инфекция, все случаи обусловлены сочетанием КР с другими клещевыми нозологиями, чаще всего ИКБ.

В главе 6 представлены результаты изучения инфицированности иксодовых клещей, собранных в природных станциях и от людей, подвергшихся их нападению, основными, передающимися через присасывание переносчиков патогенами. Указывая на высокую теоретическую и практическую значимость рецензируемой работы, вместе с тем хотелось бы получить пояснения на возникшие вопросы, а именно:

1. В главе 6 приводятся данные о высокой инфицированности *R. tarasevichiae* клещей рода *Ixodes* из природных станций и крайне низкой - снятых с населения. Аналогично, в клещах рода *Dermacentor* из природных станций преобладает *R. sibirica*, в снятых с людей – *R. raoultii*. С чем это может быть связано? Какими методами проведена идентификация видов клещевых микроорганизмов в переносчиках, поскольку в диссертации (раздел «Материал и методы» эти методы приведены, но данных по определению нуклеотидных последовательностей в главах собственных исследований не приводится?
2. Было бы весьма интересно сравнение широко применяемой для лабораторной диагностики ИКБ ИФА и метода с применением иммуночипов для выявления антител к боррелиям, а также информация - с какой частотой выявлялись антитела к конкретным антигенам в иммуночипе. Есть ли у автора или в литературе указанные данные и сопоставления?

Указанные вопросы носят дискуссионный характер и не снижают высокой научной и практической значимости диссертационной работы. Диссертация О.В. Бесхлебовой представляет собой законченное исследование, имеющее теоретическое и прикладное значение, выполненное на современном методическом уровне. Работа соответствует формуле специальности 14.01.09, областям исследований 1, 2 и 3.

### **Заключение**

Считаю, что диссертация Бесхлебовой Ольги Васильевны, представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является научно-

квалификационной работой, в которой содержится новое решение задачи по оценке проявлений инфекционного процесса и диагностике, в том числе дифференциальной диагностике, клещевых трансмиссивных инфекций и выявлению их регионального спектра с помощью современных иммунологических и молекулярно-генетических методов, имеющей существенное значение для развития инфектологии. По актуальности, научно-практической значимости, объему выполненных исследований, новизне и ценности полученных результатов и научных положений диссертационная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а сам автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни.

Официальный оппонент,  
доктор медицинских наук, профессор, директор  
ФБУН Омский НИИ природно-очаговых инфекций  
Роспотребнадзора

Николай Викторович Рудаков

«24» апреля 2018 г.

Контактные данные официального оппонента:

Почтовый адрес: 644080, г. Омск, проспект Мира, д. 7, ФБУН Омский НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора

Контактный телефон: (3812) 65-06-33

Адрес электронной почты: [mail@oniipi.org](mailto:mail@oniipi.org)

*Подпись Н.В. Рудакова  
верна*

Специалист  
по кадрам *Шу* Шерстюкова Л.М.

