

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, доцента МИНОРАНСКОЙ Натальи Сергеевны
на диссертацию САВЕЛЬЕВОЙ Марии Викторовны
«Клинико-лабораторная характеристика клещевых бактериальных инфекций
у взрослых в Новосибирской области», представленную на соискание
ученой степени кандидата медицинских наук
по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни

Актуальность диссертационного исследования

Величайшим открытием микробиологии, инфектологии и эпидемиологии ознаменовался конец XX века, когда Аллен Сир в 1975 году впервые связал развитие ювенильных ревматоидных артритов с присасыванием членистоногих. Вилли Бургдорфер в 1982 году обнаружил живых спирохет в содержимом клещей *Ixodes daminii*, которые впоследствии были идентифицированы как *Borrelia burgdorferi* семейства *Spirochaetaceae* класса *Spirochaetes*. Интенсивный рост дальнейших исследований расширил представление о генотипической гетерогенности природной популяции *Borrelia burgdorferi*, чем и обусловлен полиморфизм клинических проявлений иксодовых клещевых боррелиозов. В 1995 году в Японии в иксодовых таежных клещах впервые была выявлена *Borrelia miyamotoi*, впоследствии обнаруженная в России, Европе и Северной Америке.

К настоящему времени учеными проведена колоссальная работа по изучению боррелиозной инфекции. Описаны таксономия и филогенетические связи возбудителей, определены различные геновиды боррелий и их генетическая гетерогенность. Доказана прямая зависимость патогенеза и клинических проявлений боррелиозной инфекции от инфицирования определенным геновидом боррелии. Продолжаются исследования в области иммунопатогенеза иксодовых клещевых боррелиозов. Предложена клиническая классификация заболевания, описаны клинические проявления различных форм иксодовых клещевых боррелиозов на эндемичных территориях. Разработаны современные методы лабораторной и функциональной диагностики заболевания.

Полиморфизм клинической симптоматики, отсутствие зачастую патогномоничных клинических проявлений болезни в острый период инфекционного процесса, характерный поздний антителиогенез обуславливают определенные трудности своевременной клинико-иммунологической диагностики иксодовых клещевых боррелиозов. Вместе с тем своевременная и адекватная этиопатогенетическая терапия в подавляющем большинстве случаев определяет благоприятный исход иксодового клещевого боррелиоза,

что, несомненно, является важным медико-социальным аспектом ввиду склонности заболевания к затяжному хроническому течению с развитием необратимых органических поражений и, как следствие, инвалидности лиц молодого трудоспособного возраста.

Особый научно-практический интерес вызывает боррелиоз, вызванный *Borrelia miyamotoi*. В настоящее время известно, что переносчиками *Borrelia miyamotoi* являются иксодовые клещи, однако генетически возбудитель принадлежит к группе боррелий – возбудителей возвратных лихорадок. Изучение клинических проявлений заболевания на мировом уровне продемонстрировано развитие безэритемной формы боррелиоза, протекающего с различными органическими поражениями вплоть до менингоэнцефалита на фоне выраженного общеинфекционного синдрома. Однако до сих пор научные работы, посвященные тематике боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, в большинстве случаев носят ретроспективный и фрагментарный характер. Остаются нерешенными проблемы ранней клинико-лабораторной диагностики и терапии заболевания. Открыт вопрос о роли цитокиновой регуляции в патогенезе боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, и формировании иммунного ответа.

Поэтому диссертационная работа Савельевой Марии Викторовны, целью которой явилось установление частоты встречаемости клещевых бактериальных инфекций у взрослых в Новосибирской области, их клинико-эпидемиологических особенностей с учетом результатов комплекса лабораторных методов обследования, является своевременной и **актуальной**.

Научная новизна исследования

Впервые на достаточном клиническом материале в результате комплексного клинико-лабораторного исследования с применением высокоинформативных методов диагностики показана роль *Borrelia miyamotoi* как этиологического агента в структуре иксодовых клещевых боррелиозов, регистрирующихся на территории Новосибирской области.

Впервые проведено исследование, в результате которого в крови пациентов с лихорадкой, сопряженной с присасыванием клеща, выявлены риккетсии *Rickettsia raoultii*, *Rickettsia slovaca*, *Rickettsia aeschlimanii*, и определен вклад данных риккетсий в этиологическую структуру клещевых инфекций.

Впервые проведен сравнительный анализ двух современных высокотехнологичных методов диагностики боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*: ПЦР с детекцией ДНК в крови и метода иммуночипов с

определением IgM и IgG к отдельным антигенам возбудителя GpQ, Vsp1, Vlp5, 15, 18. В результате определена высокая информативность, чувствительность и специфичность данных диагностических методов, что подтверждается отсутствием достоверных различий частоты положительных результатов и выявленной положительной корреляционной взаимосвязи ($r = 0,84$, $p = 0,001$) ПЦР и метода иммуночипов.

Впервые охарактеризованы изменения в системе цитокинов, в частности, синтеза провоспалительных ИЛ-6, ИЛ-8, и противовоспалительного ИЛ-10 у пациентов с боррелиозом, вызванным *Borrelia miyamotoi*, а также описаны изменения интегральных индексов интоксикации, что вносит вклад в изучение патогенеза болезни. Установлена значительная продукция исследованных цитокинов, высокие значения лейкоцитарного индекса интоксикации и индекса соотношения нейтрофилов и лимфоцитов, что свидетельствует о значимости воспалительного процесса в патогенезе боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*.

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов диссертации

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений диссертации не вызывает сомнения, и определяется достаточным репрезентативным материалом (375 пациентов с различными клещевыми инфекциями и 14 здоровых лиц контрольной группы), непосредственным участием автора в клинико-лабораторном обследовании больных, системностью исследовательских подходов, использованием высокоинформативных методов исследований, применением оптимальных методов статистического анализа полученных результатов. Методология исследования выполнена на высоком современном научном уровне. Сформулированные в диссертации научные положения, выводы и практические рекомендации конкретны, обоснованы, логично вытекают из системного анализа результатов проведенного исследования.

В первом и втором выводах автор определила частоту регистрации различных клещевых инфекций из числа наблюдаемых пациентов: иксодовые клещевые боррелиозы, вызванные возбудителями комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato*, составили 40,0 %; клещевой энцефалит был выявлен у ¼ пациентов; боррелиоз, вызванный *Borrelia miyamotoi*, отмечался у 20,0 % пациентов. Клинические проявления, выявленные у пациентов с иксодовыми клещевыми боррелиозами, отражены в третьем выводе. В четвертом выводе диссертантом описаны характерная клиническая симптоматика и

гематологические сдвиги, выявленные у пациентов с боррелиозом, вызванным *Borrelia miyamotoi*. **Пятый** вывод констатирует высокую информативность, чувствительность и специфичность проведенных автором высокотехнологичных диагностических методов подтверждения диагноза: молекулярно-генетического (ПЦР с детекцией ДНК) и серологического (метод иммуночипов с определением IgM и IgG к отдельным антигенам возбудителя GpQ, Vsp1, Vlp5, 15, 18). В **шестом** выводе представлена сравнительная характеристика клинических проявлений у наблюдаемых пациентов с иксодовыми клещевыми боррелиозами и боррелиозом, вызванным *Borrelia miyamotoi*. В **седьмом** выводе диссертант описала выявленные изменения изученных цитокинов как маркеров воспалительного процесса и регуляторов иммунного ответа у пациентов с боррелиозом, вызванным *Borrelia miyamotoi*.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты исследования обобщают и существенно дополняют имеющиеся теоретические представления о клинико-патогенетических аспектах и своевременной лабораторной верификации клещевых инфекций, в особенности боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, что, несомненно, способствует оптимизации и усовершенствованию диагностики клещевых бактериальных инфекций. Верификация у пациентов боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, значительно расширила спектр клещевых инфекций, регистрируемых на эндемичной территории Новосибирской области, а представленная клинико-лабораторная характеристика заболевания обусловила дифференцированные подходы к тактике ведения пациентов с клещевыми инфекциями.

Структура и содержание диссертации

Диссертационное исследование Савельевой М. В. соответствует пунктам 1, 2, 3 паспорта научной специальности 14.01.09 – инфекционные болезни. Диссертация изложена в традиционном стиле, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, 5 глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы, списка иллюстративного материала. Диссертация оформлена на 143 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 24 таблицами и 14 рисунками. Список литературы включает 187 источников, из которых 79 отечественных и 108 зарубежных авторов, давностью издания не более 10 лет – 66 %.

Во **введении** автором показана актуальность и степень разработанности темы, определены цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология исследования, отражены основные положения, выносимые на защиту.

Глава 1 представляет собой обзор литературы, состоящий из 6 подглав, в котором подробно изложены современные данные по теме исследования. Описаны особенности клинического течения, патогенетические аспекты с позиции системного цитокинового ответа, методы лабораторной диагностики различных клещевых инфекций, в том числе боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, описаны принципы этиотропной терапии. Диссертант досконально проанализировала имеющиеся современные сведения по данной проблеме, что позволило обосновать задачи и выбранные методы исследования.

В **главе 2** «Материал и методы исследования» приведена подробная характеристика наблюдаемых пациентов, конкретизирован дизайн исследования, критерии включения и исключения из исследования. Используемые диссертантом клинико-лабораторные методы исследования современны и достаточно информативны, а их совокупность позволяет решать поставленные задачи. Подробно описаны методы статистической обработки полученных результатов исследования.

В **главе 3** «Эпидемиологические аспекты иксодовых клещевых боррелиозов в Российской Федерации и Новосибирской области» автором описаны эпидемиологическая обстановка, уровень и структура заболеваемости иксодовыми клещевыми боррелиозами в России и в Новосибирской области по данным государственных докладов Роспотребнадзора «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации», «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Новосибирской области».

Глава 4 «Частота встречаемости клещевых инфекций у госпитализированных больных в Новосибирской области» посвящена анализу частоты регистрации различных клещевых инфекций в Новосибирской области из числа наблюдаемых пациентов за период 2015-2017 гг. Автором установлено, что в структуре заболеваемости преобладают иксодовые клещевые боррелиозы (59,4 %), этиологическими агентами которых являются *Borrelia burgdorferi sensu lato* (39,7 %) и *Borrelia miyamotoi* (19,7 %). Клещевой энцефалит регистрировался у 24,8 % пациентов; на долю сибирского клещевого тифа и других риккетсиозов приходится 11,2 % и 4,2 % соответственно; у одной пациентки наблюдалось заболевание, вызванное вирусом Кемерово.

Оценка генетической variability *Borrelia miyamotoi* показала соответствие азиатскому типу.

В главе 5 «Клинико-эпидемиологическая характеристика иксодовых клещевых боррелиозов» подробно охарактеризованы эпидемиологические сведения о факте, времени и географическом месте присасывания клеща, возрастная и гендерная характеристика пациентов, клиническое течение заболевания, гематологические сдвиги и специфический иммунный ответ. Освещены результаты молекулярно-генетических методов обследования больных (ПЦР).

Глава 6 «Особенности клинических проявлений и лабораторной диагностики возвратной клещевой лихорадки, вызванной *Borrelia miyamotoi*, в Новосибирской области» дана клинико-эпидемиологическая характеристика боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, представлены результаты ПЦР и серологической диагностики методом иммуночипов, гематологических сдвигов, описан клинический пример. Кроме того, посредством проведения высокоинформативным методов диагностики клещевых инфекций выявлены пациенты с микст-инфекцией: боррелиозом, вызванным *Borrelia miyamotoi* и риккетсиозами. Диссертантом в полной мере доказана необходимость проведения ИФА методом иммуночипов с определением IgM и IgG к отдельным антигенам возбудителя GpQ, Vsp1, Vlp5, 15, 18 и ПЦР для диагностики боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, в лихорадочный период болезни.

Глава 7 «Сравнительная характеристика эпидемиологических, клинических и лабораторных проявлений иксодовых клещевых боррелиозов и боррелиоза *miyamotoi*» написана в сравнительном аспекте, где большое внимание уделяется выявлению клинических синдром боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, а также характеристике интегральных индексов интоксикации и цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10), что, несомненно, важно в отношении дифференциальной диагностики клещевых инфекций. Выявленные автором изменения продукции цитокинов при боррелиозе, вызванном *Borrelia miyamotoi*, свидетельствуют о более выраженном противовоспалительном процессе в патогенезе заболевания, чем при иксодовых клещевых боррелиозах, инфекционным агентом которых являются возбудители комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato*.

Раздел «Заключение» написан в соответствии с общепринятыми рекомендациями. По совокупности полученных результатов исследования автор обосновывает свои позиции и дает логическое объяснение выявленных изменений. Выводы вытекают из результатов собственных исследований

диссертанта и соответствуют поставленным цели и задачам. Предложенные **практические рекомендации** необходимы для повышения эффективности работы практического здравоохранения.

Основные результаты диссертационной работы отражены в 11 печатных работах, в том числе в 3 статьях в рецензируемых изданиях, рекомендованных перечнем ВАК Минобрнауки РФ. Материалы диссертации неоднократно докладывались на научно-практических конференциях различного уровня.

Рекомендации по практическому применению результатов диссертационного исследования

Диссертационное исследование Савельевой М. В. имеет большое практическое значение для здравоохранения, результаты которого способны найти применение для верификации боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, а также могут с успехом использоваться в учебном процессе при подготовке клинических ординаторов, врачей-инфекционистов, неврологов в рамках непрерывного медицинского образования.

Замечания и вопросы по диссертации

Диссертационная работа выдержана в научном стиле, оформлена в соответствии с ГОСТ Р 7.0.11-2011 и требованиями, предъявляемыми к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Автореферат отражает основное содержание диссертации. В тексте диссертации и автореферата имеется ряд лингвистических и стилистических погрешностей, орфографических, пунктуационных, синтаксических ошибок, опечаток, которые не влияют на научно-практическую значимость работы.

В тексте диссертации автором используются различные определения одного и того же понятия, в частности, «БМЗ», «заболевание, вызванное *Borrelia miyamotoi*», «боррелиоз, вызванный *Borrelia miyamotoi*», «боррелиоз *miyamotoi*»; несмотря на отсутствие в данном случае однозначной терминологии, использование синонимов несколько затрудняет восприятие информации.

В разделе введения «Теоретическая и практическая значимость» на странице 9 диссертации и на странице 6 автореферата указано: «Выявление **нового возбудителя в крови** (*Borrelia miyamotoi* – прим. оппонента) у госпитализированных больных расширило спектр природно-очаговых трансмиссивных инфекций, регистрируемых в Новосибирской области».

Данное высказывание некорректно, так как в работе применялся молекулярно-генетический, а не культуральный метод диагностики. Вероятно, автор имела ввиду ПЦР крови с определением ДНК *Borrelia miyamotoi*, а не выделение возбудителя в культуре клеток крови.

Название главы 6 по терминологии не соответствует таковой, содержащейся в тексте и в названиях таблиц и рисунков, иллюстрирующих эту главу. Известно, что *Borrelia miyamotoi* генетически принадлежит к группе боррелий – возбудителей клещевых возвратных лихорадок. Но не совсем ясно и требует разъяснения, почему автор, описывая заболевание как «заболевание, вызванное *Borrelia miyamotoi*», «БМЗ», «клещевой боррелиоз, вызванный *Borrelia miyamotoi*», формулирует название главы как «Особенности клинических проявлений и лабораторной диагностики возвратной клещевой лихорадки, вызванной *Borrelia miyamotoi*, в Новосибирской области».

Однако перечисленные замечания не влияют на научно-практическую значимость диссертационного исследования.

Положительно оценивая рецензируемую диссертацию, следует выделить вопросы, нуждающиеся в обсуждении:

1. Чем обусловлен выбор исследуемых цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10) у пациентов с иксодовыми клещевыми боррелиозами и боррелиозом, вызванным *Borrelia miyamotoi* ?
2. Из числа пациентов с иксодовыми клещевыми боррелиозами в 15 случаях наблюдалась активность АлАТ, в 20 случаях – АсАТ (глава 5). Проводилось ли обследование этих пациентов на предмет исключения моноцитарного эрлихиоза человека и гранулоцитарного анаплазмоза человека как микст-инфекции? Ведь известно, что данный биохимический признак является весьма характерным для этих клещевых инфекций.
3. Известны ли отдаленные результаты Вашего исследования? Наблюдались ли случаи хронизации иксодового клещевого боррелиоза и боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi* ?
4. Чем Вы объясняете отсутствие в ряде клинических случаев специфических антител к *Borrelia miyamotoi* при серологической диагностике методом иммуночипов ?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Савельевой Марии Викторовны на тему «Клинико-лабораторная характеристика клещевых бактериальных инфекций у взрослых в Новосибирской области», выполненная под научным

руководством доктора медицинских наук, профессора Красновой Елены Игоревны, представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненного автором исследования решена важная научно-практическая задача – определен спектр клинических проявлений боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, и доказана необходимость включения в алгоритм диагностики клещевых бактериальных инфекций ПЦР с детекцией ДНК боррелий и серологического метода иммуночипов с определением IgM и IgG к антигенам возбудителя GrpQ, Vsp1, Vlp5, 15, 18 для своевременной и эффективной верификации заболевания. По актуальности, новизне, научно-практической значимости, методологическому уровню выполнения, обоснованности выводов и практических рекомендаций диссертационная работа Савельевой Марии Викторовны соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. (с изменениями Постановлений Правительства РФ № 335 от 21 апреля 2016 г. № 748 от 02 августа 2016 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присвоения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни.

Официальный оппонент

доктор медицинских наук, доцент кафедры
инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом
последипломного образования ФГБОУ ВО КрасГМУ
им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ

«18» марта 2019 г.

Наталья Сергеевна Миноранская

Федеральное Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ)
Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1
Тел.: +7 (391) 220-13-95
E-mail: bacinf@mail.ru

