

ОТЗЫВ

**на диссертационную работу Мельниковой Ольги Витальевны
«Динамика паразитарной системы клещевого энцефалита в
Прибайкалье и ее влияние на заболеваемость населения»
на соискание ученой степени доктора биологических наук
по специальности «Экология» (03.02.08)**

Диссертационная работа О.В. Мельниковой посвящена актуальной проблеме клещевого энцефалита (КЭ), которая на протяжении более 80 лет и по настоящее время беспокоит здравоохранение и привлекает ученых разных стран Евразийского континента. В разных регионах нашей страны исследователи разных областей науки биологии и медицины активно изучают клинико-эпидемиологические закономерности и особенности функционирования природных очагов этой инфекции. Известно, что природный очаг КЭ – это многокомпонентная сложная биоструктура, включающая три обязательных сочлена: вирус, клещи - переносчики вируса и их прокормители – теплокровные животные. Каждый из сочленов представляет неоднородную популяцию со своими законами существования и взаимодействия их между собой в биоценозах различных очагов. Только непрерывные исследования всех сочленов природного очага в динамике способствуют накоплению комплексных знаний о поведении вирусной популяции и влиянию ее на заболеваемость КЭ. Именно в этом направлении проводились многолетние исследования, результаты которого представлены к защите в диссертационной работе О.В.Мельниковой на соискание д.б.н. по специальности экология.

Автором сформулирована цель работы - выявление пространственно-временных особенностей взаимодействия популяций ВКЭ с компонентами паразитарной системы (резервуарные хозяева, переносчики) и человеком на территории Прибайкалья. Решения поставленной цели представлены в 6 задачах, которые определяют весь объем выполненных исследований.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость адекватно отражают важность проведенных исследований. Пять вынесенных на защиту положений представляют теоретически и практически значимые направления, решённые соискателем в диссертационном труде.

Материалы диссертации многократно апробированы на конференциях и симпозиумах в ходе выполнения работы. Автором опубликовано в научных журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ - 20 статей и в международных журналах – 2 статьи.

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, 7 глав, заключения и выводов. Список литературы содержит 459 источников, в том числе 303 работы на русском и 156 – на английском языке. Работа изложена на 294 страницах, иллюстрирована 43 таблицами, 53 рисунками и 7 приложениями.

Обзор литературы посвящен описанию паразитарной системы клещевого энцефалита и надзору за эпидемическими проявлениями природных очагов с описанием в подглаве 1.1. таксономии, классификации, генетической вариабельности вируса клещевого энцефалита. В подглаве 1.2. дано описание патогенных свойств вируса клещевого энцефалита и лаконично представлена их связь с генетическими факторами.

Исходя из названия подглавы 1.3. Вирус клещевого энцефалита в целостной паразитарной экосистеме (современные воззрения), напрашивается вопрос: что такое целостная и нецелостная паразитарная экосистема, как они могут функционировать, есть ли различия? Хотя следует отметить, что автор достаточно полно осветил вопросы жизнеобеспеченности паразитарной системы природного очага, используя ранние и современные литературные источники российских и зарубежных исследователей.

В подглаве 1.4. Факторы, детерминирующие заболеваемость человека клещевым энцефалитом, автор акцентирует внимание, как следует анализировать взаимообусловленность показателей заболеваемости КЭ с компонентами паразитарной системы, уделяя внимание ландшафтной эпидемиологии, которая подразумевает отражение динамической интеграции взаимодействия всех факторов на разных территориях природных очагов. Для проведения полноценного мониторинга и оценки эпидемиологической ситуации по КЭ автор обосновывает применение ГИС-технологий.

В главе «Материалы и методы» автор отмечает, что сборы материалы проводили в период с 2004 по 2015 годы. Однако в данной работе для сравнения использованы также материалы ранних исследований (1988-1992 годов). Если количество проб от иксодовых клещей и их прокормителей исследованы в значительном количестве, то от людей было исследовано всего 18 проб крови и только в 2014 году. Кроме того, весь анализ в большей степени построен на одном методе ИФА.

Вопрос: как вам удавалось избегать контаминации исследуемых проб вирусом КЭ на 96-луночных планшетах, где в качестве положительного контроля вы использовали известный штамм вируса КЭ.

Изложение полученных результатов представлено в главах 3-8 с разной степенью оригинальности. В главе 3 определены и обоснованы места сбора материала (клещи и мелкие млекопитающие), показанные на карте. Прежде всего, О.В. Мельникова уделяет внимание пространственно-временным особенностям системы клещ – возбудитель КЭ в Прибайкалье (глава 4). Автор напоминает, что на этой территории зарегистрировано шесть видов иксодовых клещей, принадлежащих к трем родам с доминированием таёжного клеща *Ixodes persulcatus* P. Sch., 1930, хотя эпидемиологическое значение имеют также клещи *D. nuttalli*, *D. silvarum*, *H. concinna*. Положительную оценку заслуживает проделанная работа по сравнительному

учету клещей (ф/ч и ф/км), показав, что для удобства работы клещей учет лучше проводить в единицу времени (экз. на ф/ч).

Автор считает, что своеобразие сезонного изменения обилия клещей на ближнем к городу (23 км) и на более отдаленных участках (43 км и 47 км) может служить доводом в пользу существования на них самостоятельных популяций клещей. Это, на мой взгляд, не вызывает сомнения, но здесь могут присутствовать разновозрастные особи, которые и определяют своеобразие самостоятельных популяций клещей.

Последующие исследования были посвящены изучению зараженности вирусом КЭ иксодовых клещей, используя, в основном, доступный и экономичный ИФА. Кроме того, автор сравнила результаты ИФА и ОТ-ПЦР, получив, как и многие другие исследователи, статистически достоверно различающиеся результаты зараженности клещей. В этой главе получено много значимых результатов, но широкое использование для анализа ранжированных данных $P/N > 2,1$, указывающих на напряженность эпизоотологического процесса, без подкрепления этих результатов данными исследований другими методами имеют слабую доказательную базу. Об этом же свидетельствует автор в главе 8.

Глава 5 посвящена мелким млекопитающим – основным прокормителям преимагинальных стадий иксодовых клещей. Автор установил преобладание красно-серых полёвок и бурозубок. Красные полёвки в районе Байкальского тракта встречались значительно реже, чем на восточном побережье Байкала. Установлена сезонная поражённость их личинками и выявляемость антигена ВКЭ. В этой главе автор необоснованно много уделяет внимание литературным данным по сравнению с собственными результатами.

Глава 6 представляет интерес с точки зрения характеристики популяции ВКЭ. За десять лет разными методами из клещей, от мелких

изолятов РНК ВКЭ. Закрепить в пассажирах удалось 63 штамма. Автор ищет ответ на несоответствие данных полученных в ИФА, ОТ-ПЦР и по изоляции вируса. Следует заметить, что только комплексное исследование не разных проб, а одних и тех же одновременно всеми методами и способами может решить вопрос истинной вирусофорности клещей, зараженности вирусом млекопитающих и определить этиологию случаев КЭ. При этом ведущим методом является изоляция вируса, остальные методы диагностики вспомогательные. Об этом же свидетельствовали данные автора: из слабоположительных проб клещей в ИФА на уровне «слепого» пассажира на белых мышках и из «отрицательной» суспензии на культуре клеток было изолировано три штамма ВКЭ.

Генотипирование 62 штаммов, 2 мозговых суспензий и 11 РНК-изолятов ВКЭ показало, что 94,7 % из них относятся к сибирскому субтипу и 5,3 % – к европейскому. Ни одного штамма дальневосточного субтипа в исследованной выборке обнаружено не было. Впервые расшифрован полный геном штаммов европейского субтипа, выделенный из разных природных источников в Прибайкалье. Анализ полногеномных нуклеотидных последовательностей определил 97,2 % сходства с прототипным штаммом европейского субтипа Neudoerfl (U27495) и 99,8 % со штаммом 84.2 (HM120875), выделенным на территории Алтая. Расположение групп штаммов на ветвях дендрограммы, автор правомочно связывает не с годом выделения, а с местом их изоляции. Показана биологическая характеристика штаммов ВКЭ Прибайкалья.

С целью эколого-эпидемиологического мониторинга заболеваемости КЭ была создана база данных о случаях заражения ВКЭ. Правильное использование статистики по заболеваемости КЭ позволило автору уточнить и изменить некоторые положения, изложенные другими исследователями. Несмотря на то, что в диссертации приводится большое число работ по

других исследователей и на основании собственного анализа показать авторский взгляд на динамику и на тенденции показателей заболеваемости КЭ.

Зависимость заболеваемости КЭ населения Иркутска от процессов, происходящих в природных очагах, описана в главе 8, которая посвящена изучению пространственно-временных изменений компонентов паразитарной системы, влияющей на эпидемические проявления КЭ в Прибайкалье. В главе приведено много литературных данных, которые трудно разделить с результатами собственных наблюдений, и не прослеживается выявление определенных закономерностей. Это связано, видимо, с тем, что современные экспресс-методы диагностики КЭ в ИФА и даже в ПЦР не могут служить надежным инструментом для решения таких сложных задач, как влияние изменчивости паразитарной системы на заболеваемость КЭ. Только изоляция вируса, его вирулентность и молекулярно-генетическая характеристика вирусной популяции позволит приблизить решение столь сложных вопросов экологии возбудителя. И, тем не менее, автор решила ряд поставленных перед собой задач, которые отражены в 11 выводах. Содержания диссертации указанной специальности (Экология – 03.02.08) полностью соответствует. Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации.

Замечания:

1. Положения на защиту представлены произвольно не по форме требований ВАК. Следует каждое положение начинать: разработаны, выявлены, выделены, дополнены и т.д.
2. Общее замечание к оформлению рисунков. Если автор хочет показать различия или сходство полученных данных, мера оси ординат должна быть одинаковой на всех сравниваемых рисунках (например, рис. 4.7; 4.8).

3. Вряд ли правильно называть вирусофорность клещей на основании выявления антигена вируса в ИФА. Скорее всего, это процент выявления антигена.

4. Следует называть «не преимагинальная», а преимагинальная фаза развития клеща.

5. Имеется много неудачных фраз, например:

- «Часто обнаруживалась ДНК птиц (до 35 %), мелкие млекопитающие оказались основными хозяевами для L всего от 5,6 до 22 % по разным участкам» (стр. 28).
- «У трансмиссивных заболеваний обычно очень сложная экология, и на их распространение влияет множество разных факторов» (стр. 30)
- «В условиях Прибайкалья численность таёжного клеща отличается большой неоднородностью в пространстве».
- « Ежегодная интенсивная циркуляция вируса происходит в основном в «пятнах» со стабильно высокой численностью клещей».
- « Клещи, содержащие различные дозы вируса».
- «Больные заражаются КЭ».
- Максимальное число заболеваний (заболевание одно КЭ, а вот случаев КЭ много)
- «Максимум присасывания клещей».
- «Повышенная доля инфицированных сывороток крови у детей».
- «Доля от общего числа штаммов от млекопитающих».

Несмотря на ряд высказанных замечаний диссертация Мельниковой Ольги Витальевны «Динамика паразитарной системы клещевого энцефалита в Прибайкалье и ее влияние на заболеваемость населения», представленная для защиты, является самостоятельным законченным научным трудом и соответствует критериям, установленным п. 8 «Положения ВАК РФ о

порядке присуждения ученых степеней и ученых званий», а диссертант, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.08 - Экология.

Главный научный сотрудник лаборатории
природно-очаговых трансмиссивных инфекций
ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова»

д.м.н., профессор



Г.Н. Леонова



Подпись заверяю:

Ученый секретарь

ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова»

к.б.н.



Е.П. Недашковская