

ОТЗЫВ

официального оппонента
на диссертацию Богачёвой Анны Сергеевны
на тему: «Кровососущие комары (Diptera: Culicidae) как переносчики дирофилярий
(Spirurida: Onchocercidae), патогенных для человека»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.02.05 – «энтомология»

Актуальность темы.

Дирофиляриоз – природно-очаговый трансмиссивный гельминтоз, распространенный в странах умеренного климата. В Российской Федерации эта нозоформа выявлена в 46 субъектах, причем число последних постоянно возрастает (Криворотова, Нагорный, 2016). Патогенными для человека в нашей стране являются *Dirofilaria repens* Railliet et Henry, 1911 и *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) (Spirurida: Onchocercidae). Переносчиками этих видов нематод служат кровососущие комары сем. Culicidae, а дефинитивными хозяевами – плотоядные (Carnivora: Canidae, Felidae), среди которых особое эпидемиологическое значение имеют собаки (Ястреб, 2008; Золотых, 2017). Человек для дирофилярий является факультативным хозяином (Ermakova et al., 2017).

До настоящего времени идентификация комаров, участвующих в поддержании циркуляции дирофилярий, проводилась в России преимущественно на уровне рода, а роль отдельных видов оставалась не исследованной. Вопрос о способности разных видов комаров поддерживать развитие личинок дирофилярий до инвазионной стадии также оставался открытым. Отсутствует ясность в вопросе о возможности использования бактерии вольбахия (*Wolbachia*) в качестве метода профилактики гельминтозов путем подавления численности и/или регуляции векторной активности комаров. Изучение этих больших проблем положено в основу диссертационной работы Анны Сергеевны Богачёвой. Актуальность выбранной темы обоснована и не вызывает сомнений. Полученные автором результаты вносят существенный вклад в изучение проблемы дирофиляриоза.

Достоверность и научная новизна результатов:

Достоверность результатов и выводов диссертационной работы обоснованы применением классических и современных молекулярно-генетических, аналитических и статистических методов, исследованием достаточно большого объема материала из различных районов страны (репрезентативных выборок).

А.С. Богачёвой выявлена ДНК дирофилярий в 18 из 22 видов Culicidae, собранных в регионах Центральной России и юга страны. Причем впервые в России определен круг

потенциально эпидемиологически опасных видов кровососущих комаров, способных поддерживать развитие личинок дирофилярий до инвазионной стадии.

Результаты настоящего исследования служат новым вкладом в изучение сложнейшей эколого-эпидемиологической проблемы по определению механизмов формирования природных очагов болезней в определенных экологических условиях. В частности, убедительно доказано, что кровососущие комары, собранные в антропогенно трансформированных биотопах (городские и сельские населенные пункты), опаснее по сравнению с имаго из природы (широколиственные леса, удаленные от жилья человека на 5-8 км). Вместе с тем, насекомые из регионов с более теплым и холодным климатом не различались по уровню инфицированности нематодами.

Показано, что эндосимбиотическая бактерия *Wolbachia pipientis*, выявленная автором в шести видах комаров, в том числе в *Aedes cantans* и *Ae. cinereus* – впервые, может препятствовать развитию личинок дирофилярий в комарах до инвазионной стадии, что открывает перспективы по созданию новых биологических методов профилактики дирофиляриозов.

Значимость результатов для науки и практики

Сведения о зараженности дирофиляриями отдельных видов комаров позволяют дифференцировать регионы страны по степени эпидемиологического неблагополучия для этой нозоформы. Установленные А.С. Богачёвой сроки активности потенциально эпидемиологически опасных видов комаров могут лечь в основу рекомендаций по снижению риска заражения людей дирофиляриями. Установленный факт влияния вольбахии на формирование инвазивных стадий дирофилярий в комарах может служить основой для разработки методов снижения векторной способности этих насекомых в качестве переносчиков гельминтов. Результаты работы используются в учебном процессе на кафедре энтомологии головного Вуза страны – Московского государственного университета.

Оценка содержания диссертации

Диссертационная работа А.С. Богачёвой изложена на 158 страницах, содержит 25 рисунков и 11 таблиц. Диссертация написана по классической схеме и включает «Введение», «Обзор литературы» (состоит из трех разделов, изложенных на 41 странице), а также главы «Физико-географическое описание районов исследования» (8 страниц), «Материалы и методы исследования» (три раздела на 9 страницах), «Результаты исследования и обсуждение» (51 страница), «Заключение» (3 страницы), «Выводы», разделы «Благодарности», «Список литературы» и «Приложение». Список использованной литературы

включает 230 работ. Из них 111 на русском и 119 на иностранном языках. Таким образом, работа логично структурирована, текст выверен, написан грамотно и доступен для понимания.

Оформление работы А.С. Богачёвой отвечает требованиям, предъявляемым к диссертациям. Материалы автореферата и 10 опубликованных работ (пять статей в журналах рекомендованных ВАК РФ из них четыре в изданиях, индексируемых в международных базах данных Scopus, Web of Science, RSCI) полно и всесторонне отражают содержание диссертации.

За 2014-2017 гг. работа прошла апробацию на ряде международных научных конференций, где А.С. Богачёва присутствовала и лично выступала с докладами.

В разделе «Благодарности» упомянуты специалисты, оказывавшие помощь автору диссертации при сборе материалов и подготовке работы, охарактеризован вклад каждого из них, что исключает возникновение конфликта интересов. Указаны гранты, которые частично финансово способствовали научной работе соискателя.

Во введении (с. 4-10) обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цель и задачи работы, научная новизна, практическое значение, защищаемые положения, описана структура диссертации.

В первой главе диссертации «Обзор литературы» (с. 12-52) в ее первом разделе приведен видовой состав кровососущих комаров центральной и южной частей Восточно-Европейской равнины. Даны списки видов для центральной части Восточно-Европейской равнины и юга России. Рассмотрены ареалы насекомых, некоторые особенности биологии, способы видовой диагностики.

Во втором разделе главы рассмотрена паразитарная система дирофиляриоза. Описаны виды дирофилярий, ареал, жизненный цикл, условия развития паразитов в насекомых, особенности передачи инвазии, клинические проявления нозологии, приведены виды млекопитающих – носителей инфекции. А.С. Богачёвой дана дифференциация территорий континентов и стран по риску заражения дирофиляриями. Рассмотрены механизмы взаимодействия нематод и организма комаров друг на друга.

В третьем разделе главы освещены взаимоотношения, формирующиеся между бактерией вольбахия, кровососущими комарами и нематодами. Дана история изучения этого вопроса, современные представления. Это очень интересное направление работ, так как в связи с массовым образованием в популяциях членистоногих, устойчивых к химическим инсектицидам форм, применение бактерии вольбахия для регуляции численности опасных и вредных представителей типа может оказаться крайне востребованным в медицине и

сельском хозяйстве. Кроме того, автором диссертации обсуждается и возможность влияния вольбахии на векторную активность комаров.

Считаю необходимым особо отметить, что первая глава диссертационной работы А.С. Богачёвой содержит глубокий анализ литературных источников по изучаемым вопросам, в том числе зарубежных авторов.

Глава «Физико-географическое описание районов исследования» содержит информацию, соответствующую ее названию (с. 53-60). Она иллюстрирована разномасштабными картами, содержит информацию о местах отлова кровососущих комаров, климатических составляющих районов, а также фотографиями исследованных автором биотопов. К сожалению, в последнем случае А.С. Богачёва не подчеркивает собственное авторство приводимых фотографий.

Исследования соискателя проведены в местах с разной степенью антропогенной нагрузки и различными условиями климата: в Тульской, Нижегородской и Московской областях, на побережье Черного моря (Краснодарский край, Сакский район Республики Крым). Подобная географическая широта районов исследований и анализ биотопов разного типа, несомненно, делают более обоснованными выводы, полученные А.С. Богачёвой, и являются важным этапом для формирования целостной картины эпидемиологической обстановки по дирофиляриозу в России.

Глава «Материалы и методы исследования» (с. 61-69) содержит информацию о методах сбора и видовой идентификации имаго комаров, способах, применяемых для характеристики структуры комплекса, оценки сходства фаунистических комплексов отдельных районов, протоколов ПЦР исследований, приемов статистической обработки. Отметим, что А.С. Богачёвой при определении видов насекомых применены как классические морфологические подходы, так и молекулярные методы, которые единственно позволяют надежно идентифицировать некоторых представителей видов-двойников.

Оценку зараженности дирофиляриями насекомых осуществляли ПЦР-методом при изучении пулов (до 5 комаров), с обязательным пересчетом на индивидуальную инфицированность. Очень важно, что А.С. Богачёва отдельно исследовала пулы комаров, объединяющих голово-грудные и брюшные отделы насекомых. Это позволило автору выделить виды кровососущих комаров, которые содержат инвазионных личинок дирофилярий и являются потенциально эпидемиологически опасными. Всего А.С. Богачёвой изучено 5813 самок комаров, которые разделены на 1190 пулов, содержащих брюшной и 1190 пулов с передними отделами тела насекомых.

На зараженность насекомых вольбахией методом ПЦР изучено 2926 особей (633 пула) 20 видов комаров.

Глава содержит полноценное описание паразитологических, молекулярно-генетических, статистических методов, которые использованы А.С. Богачёвой, объема материала исследованного в различных географических точках и биотопах.

Глава «Результаты исследования и обсуждение» (с. 70-120) является основной в диссертационной работе. В главе последовательно рассмотрены вопросы о видовом составе комаров, их сезонной динамике; видах, доминирующих на различных территориях и в биотопах; инфицированность дирофиляриями, причем с учетом видового состава паразитирующих нематод; проведено сравнение зараженности кровососущих переносчиков в России с другими странами; выделены виды насекомых, представляющих наибольшую эпидемиологическую опасность; описаны результаты поиска биологического агента для регуляции векторной активности членистоногих в виде вольбахии.

Из рассмотренных вопросов, нам кажутся наиболее важными следующие: сходство зараженности дирофиляриями комаров в населенных пунктах разного типа. Причем инфицированность насекомых наблюдалась только в антропогенно трансформированных биотопах. Несмотря на положительную зависимость наличия очагов дирофиляриоза от климатических норм температуры в районах исследований, общая зараженность комаров может быть сопоставима и обусловлена преимущественно наличием или отсутствием инфицированных собак. Таким образом, лечение собак, может стать важнейшим звеном в профилактике дирофиляриоза. А.С. Богачёва выделяет пять (*Ae. geniculatus*, *Ae. communis*, *Ae. cantans*, *Culex modestus*, *Anopheles messeae*) наиболее эпидемиологически опасных в районах исследования видов комаров на основании их высокого уровня зараженности нематодами. Немаловажным является и тот факт, что в работе указаны потенциальные сроки передачи дирофиляриоза в условиях умеренного климата на основании наличия в комарах инвазионных личинок нематод.

А.С. Богачёвой высказано предположение, что вольбахия задерживает развитие дирофилярий до инвазионной стадии, приведены косвенные экспериментальные данные, подтверждающие эту гипотезу.

Заключение (с. 121-123) написано лаконично и содержательно. В нем дано краткое обобщенное изложение основных этапов работы и полученных результатов, обозначены перспективы дальнейшего развития выбранного направления исследований.

Пять выводов по диссертации (с. 124) достаточно полно отражают главные результаты выполненного исследования, обоснованы и соответствуют поставленным задачам.

Таким образом, диссертация является законченной научной квалифицированной работой, основанной на оригинальном фактическом материале. Высокий методический

уровень исследований, а также глубокий анализ литературных данных по изучаемым вопросам позволяют однозначно согласиться с основными выводами работы А.С. Богачёвой. Обоснованность и достоверность научных положений и выводов диссертации подкреплены использованием корректных статистических методов.

У меня, как официального оппонента этой работы, не вызывает сомнений доказанность основных положений, вынесенных на защиту, равно как и объективный характер пяти основных выводов.

Замечания.

Не смотря на отсутствие принципиальных замечаний, у меня возник ряд вопросов, которые я бы хотел прояснить в процессе их обсуждения с Анной Сергеевной Богачёвой.

1. Считаю, что в соответствии с первой задачей работы («Определить видовой состав и структуру комплекса кровососущих комаров, собранных в отдельных регионах России...») А.С. Богачёвой в первом выводе не нужно писать фразу «...изученных на наличие дирофилярий...». Автором выявлен комплекс видов кровососущих комаров в каждом районе, они охарактеризованы по массовости, срокам сезонной активности имаго, сходству фауны и т.д. А зараженность дирофиляриями самостоятельная проблема, формулируемая во второй задаче, результат решения которой представлен в третьем выводе. По-моему мнению, можно было бы первое положение из выносимых на защиту (где все изложено более удачно) переделать в вывод 1.

2. В тексте диссертации и автореферата автор не поясняет, как он рассчитывал критерий Хи-квадрат. К сожалению, из текста работы это трудно понять. В предварительной состоявшейся личной беседе мне было пояснено, что метод применен для выявления различий на основании анализа абсолютных значений и какие при этом рассматривались нулевые гипотезы. Тем самым, мой вопрос был снят, так как метод применен абсолютно корректно. Но эти моменты работы автору желательно было бы описать в тексте диссертации.

3. Хотя кошки являются носителями дирофилярий (об этом написано во введении и в главе литературного обзора), при обсуждении собственных данных А.С. Богачёва не затрагивает вопрос о роли этих животных. Мне кажется, это нужно было бы кратко сделать, даже если в данном исследовании они не имеют существенного значения.

4. На стр. 65 и 66 диссертационной работы содержится повтор абзаца о контролях в опытах с ПЦР. Несмотря на это, для меня остался не ясным вопрос о происхождении комаров «заведомо содержащих ДНК дирофилярий», которые использовались в положительном контроле.

5. На с. 69 диссертации дана ссылка на Медицинскую статистику и не приведен год издания, так как это электронный ресурс. Но, вероятно, в этом случае и по тексту следует писать, либо что это электронный ресурс, либо приводить дату обращения.

Есть и другие мелкие замечания технического характера, не умаляющие сути диссертационной работы, которая выполнена с пониманием и глубоким знанием автором предмета своего исследования. Отмеченные недостатки или обсуждавшиеся вопросы не влияют на главные теоретические и практические результаты диссертации, которые обладают научной новизной и практически значимы.

Заключение

Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.02.05 – энтомология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным п.п. 2.1-2.5 Положения присуждения ученых степеней в Московском государственном университете имени М. В. Ломоносова. Диссертационная работа оформлена согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационных советах Московского государственного университета.

Таким образом, соискатель Богачёва Анна Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических работ по специальности 03.02.05 –энтомология.

Официальный оппонент:

Никитин Алексей Яковлевич

доктор биологических наук, доцент
ведущий научный сотрудник
зоолого-паразитологического отдела
ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт Роспотребнадзора
664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78.

Контактные данные:

Телефон: +7 (3952) 22-01-37,

Электронная почта: nikitin_irk@mail.ru

«___» октября 2020 года

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:
03.00.16 – экология

Подпись Алексея Яковлевича Никитина удостоверяю:

Начальник отдела кадров и спецчасти института

Н.И. Шангареева