

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

Богачёвой Анны Сергеевны

**«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

Диссертационная работа Богачёвой А.С. посвящена актуальной теме – изучению кровососущих комаров различных родов и видов как векторов трансмиссивного гельминтоза – дирофиляриоза, ассоциированного с нематодами *Dirofilaria repens* и *D. immitis*. Известно, что регион распространения дирофиляриоза неуклонно расширяется, что неоднократно отмечено как медицинскими, так и ветеринарными специалистами. Так, регион распространения *D. repens* охватывает практически всю территорию РФ: случаи обнаружения его у собак регистрируются даже в Якутии. *D. immitis*, имеющая для собак большую клиническую значимость, стала обнаруживаться в тех регионах, в которых ранее не регистрировалась в виде «местных», стационарных очагов, а именно в Центральных и Северо-Западных. В то же время, дирофиляриозы имеют и большой эпидемиологический потенциал: случаи заражения людей регистрируются в 46 субъектах РФ, с тенденцией к увеличению числа заболевших. Таким образом, проблема дирофиляриозов является актуальной совместной медико-ветеринарной проблемой. Изучение кровососущих комаров, являющихся промежуточными хозяевами биогельминтов - дирофилярий, необходимо как для понимания принципов циркуляции и распространения возбудителей, связанных напрямую с их биологическими особенностями, так и для разработки и планирования в дальнейшем стратегии лечебно-профилактических мероприятий, направленных на борьбу с инвазией человека и животных. Необходим ксеномониторинг для определения круга эпидемически и эпизоотологически значимых видов комаров, способных поддерживать развитие микрофилярий до инвазионных стадий. Применение современных методов исследования зараженности промежуточного хозяина, основанных на молекулярно-генетическом анализе материала, позволило автору не только получить большой массив данных по заражению комаров микрофиляриями, достоверно их интерпретировать, но и оценить возможность развития в каждом из видов комаров микрофилярий до инвазионной для дефинитивного хозяина стадии L3. Это исследование методом ПЦР различных пулов насекомых, выборок, состоящих из головного и грудного отделов, где происходит развитие микрофилярий стадии L3, и

брюшного – где наличие ДНК микрофилярий, свидетельствует, например, возможно лишь о питании на зараженном животном или же о раннем развитии микрофилярий, не достигших инвазионной стадии.

Представленная диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, списка литературы, включающего 230 современных источников, из них – 119 иностранных, приложения (сводной таблицы зараженности комаров всех исследованных биотопов). Общий объем работы – 158 страниц, основной текст – 124 стр. Для решения поставленных задач использован комплексный подход, сочетающий совокупность методов (морфологический, молекулярно-генетический, статистический), что обеспечило получение достоверных результатов.

По материалам исследования автором опубликовано 10 печатных работ, из них – 5 в рецензируемых научных журналах, индексируемых в международных базах данных Scopus, WoS, RSCI, а также в изданиях, рекомендованных ВАК РФ. Основные результаты исследований обсуждались на 5 Международных научных конференциях, симпозиумах и форумах.

Во введении обоснована актуальность избранной темы, сформулированы цель и задачи, положения, выносимые на защиту; показана научная новизна и научно-практическая значимость, реализация результатов, личный вклад автора и степень апробации результатов.

В главе 1- «Обзор литературы» - дана детальная оценка современных данных по видовому составу кровососущих комаров центральной и южной частей Восточно-Европейской равнины, а также сведений о видах – промежуточных хозяевах дирофилярий и их зараженности в РФ. Проанализированы современные представления о паразитохозяинных отношениях в паразитоценозе «комар-дирофилярия-дефинитивный хозяин», дана характеристика основных возбудителей имагинальных дирофиляриозов человека и животных на территории РФ. Имеется раздел, посвященный эндосимбиотической энтомофильной бактерии вольбахии и возможной разнонаправленной биологической роли ее для насекомых и нематод.

Глава 2 посвящена физико-географической характеристике 5 районов исследования, различающихся по степени антропогенной нагрузки и климатическим условиям.

Глава 3 «Материалы и методы исследования» отражает как методы сбора и видовой идентификации комаров, так и методики проведения ПЦР для определения филяриеносительства в комарах и зараженности их вольбахией.

Глава 4 – «Результаты собственных исследований» - состоит из ряда подразделов, соответственно задачам исследования, поставленным в диссертации.

Определено, что кровососущие комары, собранные в изученных регионах, представлены 22 видами, относящимися к 5 родам. При этом подтверждено наличие в южных биотопах комаров видов *Ae.aegypti* и *Ae.albopictus*, имеющих ранее описанное значение в заражении дирофиляриозом собак и людей. Впервые уточнен видовой состав фауны комаров Тульской и Нижегородской областей. Описан и проанализирован видовой состав доминирующих видов комаров в антропогенных биотопах. Сделаны важные в теоретическом и практическом плане обобщения и заключения, подтверждаемые большим объемом выборок исследованных насекомых, в течение достаточного периода времени.

Значительный объем данных 4-й главы посвящен исследованиям зараженности кровососущих комаров дирофиляриями. Широкомасштабное исследование этого вопроса проведено в России впервые. При этом использовались корректные расчетные показатели - формулы, принятые для такого рода мониторинговых исследований (оценочного значения заражения и минимального уровня заражения). Получены значимые результаты, свидетельствующие, что ДНК дирофилярий содержится только в комарах, обитающих в антропогенных биотопах. Таким образом, подтверждено, что собаки являются центральным звеном и источником распространения инвазии среди людей и домашних плотоядных животных, выступая в роли облигатного дефинитивного хозяина в паразитарной системе дирофиляриоза, несмотря на то, что в литературных источниках описывается высокая экстенсивность инвазии диких псовых в природных биотопах (например, Краснодарского края, Кавказа, Тверской области и др. регионов).

Весь остальной массив данных, согласно этому, был собран в условиях антропогенных ландшафтов. Подъем зараженности комаров в мае и июле на примере данных, полученных в Тульской области, автор справедливо связывает с сезонной ротацией видов комаров, меняющимися индексами обилия в естественных биотопах, при этом экстенсивность инвазии собак может оставаться на одном уровне. Выявлено, что зараженность комаров дирофиляриями на юге страны и в Центральных регионах была сопоставима и достоверно не различалась. Это связывается с ведущей ролью температурного фактора в поддержании очагов дирофиляриоза, суммой эффективных температур, определяющей количество циклов развития дирофилярий (от 1 на севере до 9 на юге) и количеством источников инвазии (величины поголовья собак в целом и количества зараженных собак в исследуемых пунктах).

Проведен анализ зараженности комаров различных родов и видов возбудителями дирофиляриоза, в том числе в зависимости от региона

исследования. ДНК дирофилярий обнаружена в 18 из 22 исследованных видов комаров 5 родов, с различиями по регионам. В общем плане оказалось, что ДНК *Dirofilaria repens* обнаружено у 16 из 22 видов комаров, при этом определено число положительных пулов, содержащих головогрудной отдел насекомых, что свидетельствует о наличии развивающихся личинок стадии L3. ДНК *D. immitis* была определена у 14 видов комаров из 22.. Это свидетельствует о том, что 16 и 14 видов комаров могут являться потенциальными промежуточными хозяевами *D. repens* и *D. immitis* соответственно, хотя доли зараженных особей с развивающимися личинками среди них относительно невелики. Автор ответственно подошел к изучаемой проблеме, применив разделение пулов (голова+грудь и брюшко) для исследования ДНК, для достоверности получаемых результатов, по которым можно судить об уровне количества комаров, имеющих ДНК именно развивающейся личинки дирофилярий, выделив доли таких особей в выборке: доля таких комаров с мая по август может составлять в биотопах в среднем 0,8-2,6% от общего числа исследованных особей, особое эпидемиологическое значение имеют 5 видов, 1 вид - из рода *Culex*, и 4 - из рода *Aedes*.

Заключительный раздел главы 4 посвящен исследованиям содержания в комарах ДНК эндосимбиотической бактерии рода *Wolbachia*. Общее заражение комаров составило 21,5%, одновременно ДНК дирофилярий и вольбахий наблюдалось в 1,4% случаев. Автором во многих случаях наблюдалась отрицательная корреляция между 2-мя возбудителями, этот факт требует дальнейших исследований, осмысления и анализа.

В Заключение подведены основные итоги исследования, изложенного в основной части работы.

Выводы обоснованы, соответствуют цели и задачам исследования. Текст автореферата отражает основное содержание работы.

Материал работы изложен доступным языком логичен и структурирован. При выполнении работы и анализе результатов применялись современные научные методы исследования, расчетов и статистической обработки, исследовались репрезентативные выборки комаров. Все это не позволяет усомниться в достоверности полученных результатов. Текст работы сопровождается качественным и наглядным иллюстративным материалом в виде диаграмм, таблиц и фотографий. Автор успешно справился со всеми поставленными задачами. Помимо теоретической ценности результаты работы имеют и научно-практическую значимость: сведения о зараженности разных видов комаров 2-мя видами дирофилярий позволяют оценить уровень неблагополучия регионов по дирофиляриозу, что может быть использовано

при осуществлении программ по эпидемиологическому контролю дирофиляриоза человека. Практическая значимость работы состоит также в том, что в эпизоотологии инвазии подтверждена роль собаки как основного и ведущего фактора и источника распространения дирофиляриоза: можно предположить, что сформировались и действуют повсеместно антропургические очаги инвазии, ассоциированные с собаками. В этих условиях нельзя недооценивать огромное значение профилактики заражения собак при помощи регулярных обработок препаратами системного действия, обладающими микрофилярицидным действием, предотвращающими выживание и развитие личинок в их организме и обеспечивая таким образом в значительной мере разрыв биологической цепи возбудителя, а также охрану здоровья животных – профилактику заражения их дирофиляриозом.

Работа Богачёвой А. С. заслуживает самой положительной оценки. Однако при ее анализе возникает ряд вопросов, замечаний и пожеланий, не снижающих ее научной и практической ценности:

1. Термин «переносчик» не вполне корректен в отношении комара – полноценного звена в циркуляции биогельминта. Здесь он является промежуточным хозяином, согласно гельминтологической номенклатуре, тем более, в случаях доказанного развития в полости его тела личинок дирофилярий по стадии L3, сопровождаемого 2-х кратной линькой. В случае недоказанного развития в комаре и возможности передачи инвазионного начала дефинитивному хозяину – более корректным был бы термин «филяриеносительство». Несомненно, их необходимо разделять при анализе результатов работы, так как выявлено, что комары в случае питания на зараженном животном становятся промежуточными хозяевами с возможностью передачи не всегда.

Аналогично - личинка дирофилярии любого возраста носит название «микрофилярия».

2. В названии работы и в тексте содержится понятие «патогенные для человека дирофилярии». Тем не менее, этот известный факт не подкреплён никакими ретроспективными статистическими данными, которые бы отражали реальное положение по заражению человека как факультативного дефинитивного хозяина дирофиляриозом в исследованных регионах. Также отсутствуют данные по реальному заражению собак как облигатных дефинитивных хозяев. Исследование крови собак на наличие микрофилярий методом ПЦР и сбор ретроспективных данных ветеринарной отчетности по зарегистрированным клиническим случаям помогли бы полнее раскрыть тему циркуляции между дефинитивным и промежуточными хозяевами и

произвести корреляцию с уровнем зараженности комаров. Известно, что экстенсивность инвазии собак в южных районах в большинстве случаев выше, чем в центральных и северных. Приведенная же в работе гипотеза о низком числе зараженных собак в г.Анапе, и, соответственно, отсутствии личинок у комаров в этом биотопе, становится при отсутствии достоверных данных по заражению собак неподкрепленной и умозрительной, равно как и данные по району Саларьево в г.Москве. Включение данных о заражении собак (и людей), несомненно, украсило бы работу и придало ей более законченный вид.

3. В тексте работы встречается упоминание «многократное заражение». На Ваш взгляд, возможно ли неоднократное заражение восприимчивыми видами комаров микрофиляриями в течение нескольких гонадотрофических циклов, или же гибель зараженных особей наступает после первой инокуляции микрофилярий L3 в кровь животного при кровососании вследствие разрушения ими ротового аппарата комара?

4. В тексте работы и в выводе №6 указывается, что инвазионные личинки дирофилярий были выявлены только в комарах, не зараженных эндосимбионтной бактерией рода *Wolbachia*. На основании этого выдвинута гипотеза, что эта бактерия отрицательно влияет на векторную компетентность комаров в циркуляции дирофиляриоза и об антагонистических отношениях между вольбахиями и дирофиляриями, задержке развития личинок до инвазионной стадии (стр.119). Каким образом в таком случае можно объяснить известный факт возникновения обязательного положительного симбиоза между *Wolbachia* и дирофиляриями в организме дефинитивного хозяина, без которого невозможно размножение и нормальное развитие имагинальных стадий гельминта, причем заражение ими происходит одновременно, т.к. *Wolbachia* является эндосимбионтом? Кроме того, собственно бактерия *Wolbachia* является в этом случае отдельным патогеном, ассоциированным исключительно с паразитированием дирофилярий, вызывающим, в случае развития клинически выраженного сердечного дирофиляриоза, например, у собак развитие специфического эозинофильного мелкоочагового пневмонита, регистрируемого в большом числе случаев. Данный вопрос требует проведения дальнейших исследований.

5. В тексте литературного обзора (стр.29) допущена опечатка, искажающая смысл излагаемого материала.

Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.02.05 – энтомология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным п.п. 2.1-2.5 Положения о присуждении 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 Анна Сергеевна Богачёва заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических работ по специальности 03.02.05 – энтомология.

Официальный оппонент:

Давыдова Ольга Евгеньевна



кандидат биологических наук,
доцент кафедры паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Московская государственная академия ветеринарной медицины и
биотехнологии – МВА имени К.И.Скрябина
(ФГБОУ ВО МГАВМиБ-МВА имени К.И. Скрябина)
109472, Москва, ул. Академика Скрябина, 23

Контактные данные:

Телефон: +7 (495) 377-69-96,

Электронная почта: o.davydova66@mail.ru

26.10.2020.

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена
диссертация: 03.02.11 – паразитология

Под

зав

"

