ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук, профессора кафедры биологии и экологии, директора научно-исследовательского института паразитологий ФГБОУ ВО «Курский государственный университет» Малышевой Натальи Семеновны на диссертационную работу Максимовой Марии Сергеевны «Верификация диагностики *Blastocystis specis* при разных формах инфекции», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских по специальности 03.02.11 - паразитология

Актуальность темы диссертационной работы

В структуре инфекционной патологии паразитарные болезни занимают существенную долю. Острые кишечные инфекции (ОКИ) неустановленной этиологии находятся на четвертом месте по экономической значимости, уступая лишь острым респираторным инфекциям, туберкулезу и ветряной оспе, причиняя существенный экономический ущерб. Сложившаяся ситуация указывает на высокую активность путей передачи: контактно-бытового, водного и пищевого. Наряду с патогенными простейшими кишечника, такими как *Lamblia intestinalis* и *Entamoeba histolytica,* сравнительно недавно углубленно стали изучать *Blastocystis spp., Cryptosporidium spp., Cyclospora spp.,* В настоящее время инфекция, вызываемая *Blastocystis spp.*, на территории Российской Федерации не подлежит регистрации и не входит в формы государственной статистической отчетности. О проявлениях эпидемиологического процесса инфекции можно судить, опираясь лишь на данные клинико – диагностических лабораторий.

Обращает внимание то, что ключевые вопросы биологии паразита, эпидемиологии, клиники, патогенеза и лечения до сих пор не решены. Высокая инфицированность населения даже развитых экономических стран, многочисленные существенные пробелы знаний об этой инфекции привлекают внимание исследователей. Дискуссионными остаются вопросы о клиническом значении *Blastocystis spp.* и его патогенном потенциале и методах исследования.

Все это подтверждает, что диссертационная работа Максимовой Марии Сергеевны «Верификация диагностики *Blastocystis specis* при разных формах инфекции» своевременна и выполнена на актуальную тему. Актуальность диссертационной работы «Верификация диагностики *Blastocystis specis* при разных формах инфекции» не вызывает сомнений.

Новизна исследования полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформированных в диссертации

Диссертация выполнена на высоком методическом уровне и в соответствии с требованиями ВАК.

Новизной исследования является то, что ретроспективный анализ за пятилетний период результатов диагностики *Blastocystis spp.* методом формалин – эфирного осаждения (ФЭО) в КДЛ ИМПТ и ТЗ им Е.И Марциновского, а также перекрестное сравнение его с иммуноферментным анализом (ИФА) показал высокую диагностическую ценность модифицированного метода ФЭО для первичного скрининга. Проведенный мониторинг выделения бластоцист доказал, что количественная оценка не является достоверным критерием течения инфекции. Метод окрашивания постоянных препаратов позволил установить феномен атипичной локализации *Blastocystis spp.*, что расширяет клиническое понимание течения инфекции. Разработана и апробирована сочетанно–интегрированная система анализа для идентификации *Blastocystis.*

Автором впервые «MiniParasep 108900» адаптирован и рекомендован для скрининговой диагностики *Blastocystis spp.* в образцах, фиксированных в консерванте Турдыева, проведено сравнительное изучение коммерческого набора «CoproELISA Blastocystis» для выявления антигена паразита, экспресс – метод «Лейкодиф 200» адаптирован для окрашивания кала с целью идентификации *Blastocystis spp.*

Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций

Все научные положения, выводы и практические рекомендации аргументированы, обоснованы и статистически значимы, обосновываются на достаточном количестве исследуемого материала. Объем проведенных исследований, их научно-методический уровень достаточны для получения достоверных результатов и формулировки обоснованных выводов. Использование автором современных клинико-лабораторных и статистических методов способствовало эффективному решению поставленных задач, обеспечило достоверность исследования, что позволяет свидетельствовать о высокой степени обоснованности научных положений и выводов, представленных в диссертационной работе.

Практическая значимость исследования

Разработанная сочетанно – интегрированная система диагностики инфекции, вызванной *Blastocystis spp*, позволяет оптимизировать скрининг и дифференциальную диагностику паразита специалистам клинико-диагностических лабораторий разного уровня.

Оценка содержания диссертации и ее завершенность

Диссертация изложена на 126 страницах машинописного текста, включает 33 рисунка и 17 таблиц. Работа написана в классическом варианте и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка цитируемой литературы и приложения. В работе использованы 41 отечественный и 123 иностранных источников литературы.

Во введении автор приводит обоснование актуальности исследования, формулирует цель и задачи работы, анализирует новизну исследования и практическую значимость, формулирует основные положения, выносимые на защиту. Во введении отражены четыре варианта внедрений материалов исследований в практику, апробация результатов исследований на конференциях и конгрессах.

В главе «Обзор литературы приводится информация по проблематике исследования, детально представлены морфологические и генетические особенности паразита, основные схемы жизненного цикла и вопросы эпидемиологии, показан патогенный потенциал паразита и лабораторная диагностика *Blastocystis spp.*. Автором сделан акцент на аспекты рассматриваемой проблемы, которые изучены недостаточно.

В главе, посвященной материалу и методам исследования приводится подробное описание дизайна работы, используемых экспериментальных и статистических подходов.

В третьей главе диссертации «Результаты испытания паразитологических методов лабораторной диагностики *Blastocystis spp.*» автор приводит результаты собственных исследований с их обсуждением. Детально рассмотрен ретроспективный анализ результатов обнаружения *Blastocystis* на основе модифицированного метода ФЭО в КДЛ Института Марциновского за 2014-2018гг., наглядно информация представлена в таблице 3.1.1. Была сделана выборка исследований за 2017 год.и определен спектр диагностируемых простейших кишечника, среди них преобладали бластоцисты (15,1%), Проведен анализ инфицирования пациентов в разных возрастных группах. Обращает внимание тот факт, что инфицирование бластоцистами наблюдается на протяжении всей жизни и имеет волнообразный характер, при этом прослеживается тенденция к снижению частоты инфицирования с возрастом обследуемых.

Заслуживает внимания сравнительная оценка концентратора «Mini Parasep108900» и модифицированного метода ФЭО. Экспериментальные исследования, что позволило рекомендовать новую модель «Mini

Parasep108900» для применения в КДЛ общего профиля и адаптировать модель для обработки кала, фиксированного в консерванте Турдыева. Изучение применения ФЭО в количественной оценке интенсивности инфекции в группах с различными клиническими проявлениями позволило автору сделать обоснованное заключение.

В третьей главе автор детально рассматривает идентификацию бластоцист на основе сравнительного анализа постоянно окрашенных препаратов. Изучено более 2000 окрашенных препаратов. В работе представлены оригинальные микрофотографии различных форм *Blastocystis spp* Из большого арсенала предлагаемых методов окраски простейших выбран один, оптимальный для бластоцист, наиболее доступный и универсальный – Романовского-Гимза и апробирован экспресс-метод – «Лейкодиф 200». Эти два метода с небольшими вариациями дают примерно однозначные результаты окрашивания в отношении цветопередачи и контраста.

Представлен оригинальный материал по расшифровке невенерической инфекции, обусловленный паразитированием *Blastocystis* в зоне влагалища с оценкой диагностической ценности микроскопического исследовании. Описанное автором наблюдение по верификации активно протекающего процесса, обусловленного Blastocystis в зоне слизистой влагалища, существенно расширяет представления о клиническом значении паразита на фоне вторичного иммунодефицита.

В главе 4 « Апробация и оценка специальных методов лабораторной диагностики *Blastocystis spp.*» как метод идентификации рассматривается культивирование. Автором представлены результаты о диагностической ценности метода культивирования в детекции бластоцист при сравнении с методом рутинной микроскопии исследуемых образцов после обогащения на основе ФЭО. Проанализированы результаты наблюдений по выделению и поддержанию на среде Павловой изолятов бластоцист от разных групп лиц с выраженными или неясными симптомами проявления кишечной инфекции.

В случае непрерывного поддержания *Blastocystis* в культуре, удалось проследить наличие и соотношение основных морфоформ паразита, используя методику пересева в качестве важного механизма определения его биологических свойств. Следует подчеркнуть, что метод культивирования необходим для изучения морфофункциональных и фенотипических особенностей изолятов *Blastocystis* с оценкой вариабельности развивающихся морфоформ, роль которых до настоящего времени неясна, но в дальнейшем сможет содействовать более точной идентификации паразита при разных условиях существования.

В четвертой главе приведена оценка диагностической эффективности иммунологического метода лабораторной диагностики CoproELISA *Blastocystis.* Для оценки эффективности рассчитывались показатели: чувствительность, специфичность, точность. На основании проведенных сравнительных исследований автор установил, что чувствительность ИФА составляет 71%, специфичность 91,4%, а точность 83%. Высокая спефичность теста позволяет верифицировать отличные от общепринятых форм – многоядерные формы паразита, что позволяет тест-систему использовать для дифференциальной диагностики инфекции *Blastocystis* от инфекции, обусловленной представителями рода *Entamoeba/* Автор обосновано делает вывод, что аналитические характеристики коммерческого теста представляют надежную и достаточно достоверную скрининговую технику обнаружения паразита.

В главе 5 представлена разработка сочетано-интегрированной системы для идентификации *Blastocystis.spp.* на основании сравнения диагностической эффективности паразитологических, культуральных, иммунологических методов диагностики бластоцистозной инфекции..Эта система учитывает основные характеристики указанных методов. Предложенная система отражает объективное единство связанных друг с другом приемов и явлений.

В разделе «Заключение» обобщаются основные положения диссертационной работы и рассматриваются в свете существующих литературных данных. Данный раздел отражает суть работы и содержит необходимые комментарии. Выводы аргументированы, полностью соответствуют поставленным задачам исследования и отражают основные результаты работы.

В целом работу отличает хороший анализ результатов исследований с иллюстрациями и полноценная статистическая обработка данных.

Основные результаты диссертации изложены в 3 работах в рецензируемых научных журналах, включенных в перечень ВАК Российской Федерации. В автореферате в должной степени отражены основные положения диссертации.

Вместе с тем, несмотря на положительную, в целом оценку диссертационной работы, следует отметить, что в диссертации имеются незначительные опечатки и неудачные стилистические формулировки.

Перечисленные выше замечания носят преимущественно редакционный характер и не снижают научной и практической ценности диссертационной работы.

Заключение

Диссертационная работа Максимовой Марии Сергеевны «Верификация диагностики *Blastocystis specis* при разных формах инфекции» представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.11 – паразитология является законченным научно-квалификационным исследованием, выполненном на высоком методическом уровне, содержащим новое решение актуальных научных и практических задач по совершенствованию методов идентификации бластоцист в биологическом материале и разработке сочетано-интегрированной системы анализа на основе рационального и корректного применения методов верификации *Blastocystis spp*.

По объему выполненных исследований, степени новизны, их практической значимости работа полностью соответсвует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.11 – паразитология.

25.11.2019г.

Официальный оппонент:
Малышева Наталья Семеновна
доктор биологических наук (03.02.11- паразитология)
профессор, профессор кафедры биологии и экологии,
директор научно-исследовательского института паразитологии,
Федеральное государственное бюджетное
учреждение высшего образования «Курский
государственный университет»
Адрес: 305000, г. Курск, ул. Радищева 33
ФГБОУ ВО «Курский государственный университет»
Электронная почта: kurskparazitolog@yandex.ru
Телефон:+79102174949

Подпись Малышевой Н.С. заверяю:
Ученый секретарь
ФГБОУ ВО «Курский государственный университет»
доцент

Малыхина
Татьяна Моисеевна