

## ОТЗЫВ

Ломоносова Константина Михайловича, доктора медицинских наук, официального оппонента на диссертационную работу Эрматовой Фотимы Абдужалиловны на тему: «Диагностика ранних форм сифилиса на основе определения специфических иммуноглобулинов класса М (клинико-лабораторное исследование)», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.10 - кожные и венерические болезни

Актуальность проблемы. Российская Федерация относится к странам с повышенным уровнем заболеваемости населения сифилисом, значительно превышающим соответствующие показатели в большинстве развитых странах Европы и США. При этом в структуре заболеваемости среди вновь выявляемых больных этой инфекцией преобладают ранние клинические формы сифилиса (до 85%), характеризующихся высокой эпидемиологической опасностью. Поэтому тема, исследования автора, не только актуальна, но даже злободневна и нуждается в практическом внедрении её результатов в практическое здравоохранение.

Особенности клинического течения и проявления сифилитической инфекции определяют приоритетную роль лабораторных методов исследования в ее диагностике. При этом прямая детекция возбудителя не всегда является эффективной по причине ряда ограничений в получении качественного биологического материала для лабораторного исследования. В этой связи иммунохимические методы исследования с выявлением специфических антител к антигенам бледной трепонемы играют определяющую роль, как в скрининге и установлении клинической формы заболевания, так и при последующем длительном наблюдении пациента с целью оценки эффективности проведенного ему лечения.

В современном арсенале у дерматовенерологов имеется широкий спектр методов для оценки гуморального ответа больного сифилисом на антигены паразитирующего возбудителя сифилитической инфекции: это широко применяемые в настоящее время иммуноферментный анализ (ИФА) и реакция пассивной гемагглютинации, а также реакция иммунофлюоресценции (РИФ), иммуноблоттинг и иммунохемилюминесцентные

исследования. При этом наиболее часто указанные методы исследования и соответствующие им наборы реагентов основаны на выявлении в крови больного антител, относящихся к иммуноглобулинам класса G или для обеспечения максимальной чувствительности - одновременно к нескольким классам иммуноглобулинов: G, M и A.

Однако известно, что гуморальный ответ при бактериальных инфекциях дебютирует с появления специфических IgM, и использование модификаций лабораторных методов, основанных на их выявлении, является более эффективным для ранней диагностики таких инфекций. Для диагностики сифилиса первыми были разработаны IgM-модификации иммуноферментного анализа. И лишь в последние годы появилась возможность разработки исследований путём выявления специфических IgM в РИФ, а также и в иммуноблоттинге. Изучению клинических возможностей в применении указанных методик в сравнительном аспекте и посвящена обсуждаемая научная работа.

В свете указанных обстоятельств цель диссертационной работы Ф.А. Эрматовой, заключающаяся в совершенствовании диагностики ранних клинических форм сифилиса на основании изучения информативности медицинских технологий определения специфических иммуноглобулинов класса M к антигенам *T. pallidum*, представляется весьма актуальной и своевременной.

Для реализации поставленной цели диссертантом были разработаны задачи, позволившие:

- оценить частоту применения современных иммунохимических методов исследования для ранней диагностики сифилиса в медицинских организациях дерматовенерологического профиля субъектов Российской Федерации;

- изучить информативность использования для диагностики клинических форм сифилиса результатов ИФА, РИФ и иммуноблоттинга с определением трепонемоспецифических антител класса M на примере наборов реагентов российского производства;

- изучить у больных сифилисом первичным особенности содержания в крови антител классов M и G к антигенам *T. pallidum* с использованием метода линейного иммуноблоттинга;



- у пациентов, получивших специфическое лечение по поводу ранних форм сифилиса, изучить длительность циркуляции в крови трепонемоспецифических IgM

- разработать алгоритм обследования пациентов для диагностики раннего сифилиса с использованием современных иммунохимических методов исследования на основе определения IgM к антигенам *T. pallidum*.

Диссертационная работа Ф.А. Эрматовой построена по традиционному плану, она состоит из введения и 7 глав, включающих обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, заключение, выводы, список цитированных литературных источников и приложения. Диссертация изложена на 168 страницах компьютерного текста, включающего 25 рисунков и 23 таблицы и 10 приложений. Указатель литературы содержит 160 библиографических источников (106 отечественных и 54 иностранных авторов).

Материалы приведенных в диссертации исследований опубликованы в 9 печатных работах, из них 5 (в том числе 3 статьи) - в научных изданиях, рекомендуемых ВАК Минобрнауки России.

Во **введении** (с. 7-15) диссертантом охарактеризована сущность темы научного исследования, определены цель и задачи работы, показана новизна решения научной проблемы и практическая значимость полученных результатов, определены положения исследования, выносимые на защиту, приведены сведения о внедрении результатов работы в практическое здравоохранение.

**Обзор литературы** (глава 1: с. 16-33) посвящен современным научным представлениям о формировании гуморального иммунного ответа у человека после его инфицирования *T. pallidum*, об участии в нём иммуноглобулинов разных классов, а также о методах лабораторного исследования для выявления специфических антител разных классов, используемых для диагностики сифилиса, как за рубежом, так и в России. Рассмотрены также современные подходы к оценке диагностической и клинической информативности лабораторных методов исследования. Обзор написан хорошим языком и позволяет оценить основательность проработки автором источников научной литературы по изучавшемуся вопросу.

**Раздел материалы и методы исследования** (глава 2: с. 34-49)

включает описание этапов и последовательности проведения исследования, указание на использованные в работе методики научного исследования и материалы. Исследование носит клинико-лабораторный характер. Для оценки использования при диагностике сифилиса иммунохимических методов в дерматовенерологических учреждениях субъектов России использован социологический метод и обработка 60 анкет, предоставленных из всех федеральных округов России. При изучении клинической информативности современных IgM-модификаций иммунохимических методов (ИФА, РИФ<sub>abc</sub> и иммуноблоттинга) в диссертационном исследовании был использован достаточно большой клинический материал - 986 образцов сыворотки и плазмы крови, полученные от пациентов с впервые установленным диагнозом «сифилис» (n=492), от лиц, ранее переболевших и состоявших под клинико-серологическим контролем (n=341), от здоровых людей (n=123) и лиц с биологическими ложными результатами обследования на сифилис (n=30). При определении содержания специфических IgM к антигенам возбудителя сифилиса использованы современные модификации иммунохимических методов: ИФА<sub>IgM</sub> и ИФА<sub>IgM+IgG+IgA</sub>, РИФ<sub>abc-IgG</sub> и РИФ<sub>abc-IgM</sub>, ИБ-IgG и ИБ-IgM. Полученные результаты в процессе исследования подвергнуты статистической обработке.

Глава 3 (с. 50-64) посвящена изучению данных 60 анкет, полученных из медицинских организаций дерматовенерологического профиля субъектов Российской Федерации. Было установлено, что среди всего объёма выполненных в 2012 году иммунохимических тестов для диагностики сифилиса исследования путём определения специфических IgM составили всего 1,30%, среди которых преобладали исследования в ИФА<sub>IgM</sub> - 97,27% и небольшую долю составили РИФ<sub>abc-IgM</sub> - 2,0% - в и ИБ-IgM - 1,73%. Однако при анализе частоты применения IgM модификаций от всех исследований, выполненных каждым методом наибольшую долю составили исследования в ИБ-IgM - 33,22%, существенно меньшую долю составили исследования в ИФА<sub>IgM</sub> - 5,47% и РИФ<sub>abc-IgM</sub> - 1,82%.

Диссертант оценила существующее положение с позиций недостаточного применения IgM технологий для диагностики раннего сифилиса и связала это с отсутствием производственного выпуска российских наборов реагентов для ИФА<sub>IgM</sub> и РИФ<sub>abc-IgM</sub> и иммуноблоттинга-IgM.



Полученные данные позволили диссертанту обосновать потребность общественного здравоохранения в использовании для своевременной диагностики раннего сифилиса IgM-модификаций современных методов исследования, для чего ею был осуществлен расчет удельной частоты применения в 2012 году каждой из методик при выявлении и постановке диагноза 1 клинического случая раннего сифилиса. Показано, что по Российской Федерации в целом проводили 6,86 исследований с определением IgM к антигенам *T. pallidum* при выявлении 1 клинического случая раннего сифилиса, в том числе: в ИФА<sub>IgM</sub> – 6,68 в РИФ<sub>abc-IgM</sub> – 0,14, а в ИБ-IgM – 0,05. Диссертантом также проанализированы показатели применения изучавшихся методов по разным федеральным округам России в связи с уровнями заболеваемости ранними формами сифилиса.

В главе 4 (с. 65-91) диссертантом представлены в сравнительном аспекте данные изучения в ИФА<sub>IgM</sub> и ИФА<sub>IgM+IgG+IgA</sub>, РИФ<sub>abc-IgG</sub> и РИФ<sub>abc-IgM</sub> образцов крови, полученных от больных сифилисом до начала лечения, что позволило ей определить диагностическую информативность каждого метода при изучавшихся клинических формах заболевания. Была показана наиболее высокая клиническая чувствительность применения при диагностике первичного сифилиса ИФА<sub>IgM</sub> и РИФ<sub>abc-IgM</sub> (97,47 и 95,89% соответственно), а при диагностике сифилиса вторичного - только ИФА<sub>IgM</sub> (93,66%), что позволило рекомендовать эти методы как приоритетные при диагностике соответствующих форм заболевания. Установлена низкая чувствительность применения IgM-методов при диагностике сифилиса скрытого раннего: в ИФА<sub>IgM</sub> - 62,28% и в РИФ<sub>abc-IgM</sub> - 53,93%, что определяет их использование при диагностике раннего скрытой формы сифилиса необоснованным.

Глава 5 (с. 92-116) посвящена изучению перспектив применения иммуноблоттинга-IgM при диагностике первичного сифилиса. использования. Диссертантом при обследовании образцов крови 76 больных первичным сифилисом получены данные, свидетельствующие о том, что клиническая чувствительность ИБ-IgM уступала соответствующему показателю ИБ-IgG (85,53 против 92,11%), при специфичности обоих методов в 100%.

В то же время результаты определения IgM и IgG антител к разным антигенам бледной трепонемы существенно различались по своей ин-

формативности при первичном сифилисе: максимальное количество положительных ответов наблюдали с антигенами: TmpA, TrN47 и TrN17, а минимальное - с TrN15.

Полученные данные позволили диссертанту оценить последовательность появления в крови у больных на начальных этапах развития инфекции (при сифилисе первичном) антител к разным антигенам бледной трепонемы. Установлено, что антитела могут появляться к каждому из антигенов, но с различной частотой встречаемости. Наиболее часто определено превалирование антителогенеза против к TmpA - в 65,79%, в то время как более высокое содержание антител к другим антигенам определялось с существенно меньшей частотой: к TrN17 - в 22,37%, к TrN47 - в 9,21% и к TrN15 - в 2,63% случаев. Полученные данные являются новыми и раскрывают причины встречающихся неудач при лабораторной диагностике раннего сифилиса.

Вполне естественным было исследование длительности циркуляции специфических IgM в крови больных ранними формами сифилиса, получившими полноценное антибактериальное лечение, и оценка этих сроков методом ИФА<sub>IgM</sub> в зависимости от применявшегося метода терапии, что представлено в **главе 6** (с. 117-124).

Показано, что снижение синтеза антител класса M в изучавшейся группе из 341 больного ранними формами сифилиса происходило постепенно, и завершалось через 3 года после проведенного антибактериального лечения. Не установлено статистически значимой разницы в динамике снижения позитивных показателей и сроках полной негативации в зависимости от применявшихся методов терапии (цефтриаксон или бензатина бензилпенициллин).

Оценивая клиническую информативность изучавшихся методов лабораторного исследования с учётом особенностей клинического проявления раннего сифилиса диссертант в **7 главе** (с. 125-135) разработала алгоритм обследования пациентов с целью диагностики раннего сифилиса на основе применения результатов лабораторных методик определения трепонемоспецифических IgM.

Сформулированные по итогам проведенных научных исследований выводы аргументированы, они основаны на полученных фактических ре-



зультатах и соответствуют поставленной цели и задачам диссертационного исследования.

Диссертация содержит достаточное количество иллюстративного материала в виде таблиц и графиков, необходимая справочная информация по обследованным дерматовенерологическим учреждениям, примененным новым отечественным наборам реагентов и протоколы лабораторных исследований в иммуноблоттинге-IgM приведены в качестве приложения к представленной работе.

Автореферат оформлен в соответствии с действующими требованиями, его содержание полностью соответствует основным положениям выполненной диссертационной работы;

В тексте диссертации имеются отдельные опечатки и стилистические погрешности, которые, однако, не имеют принципиального значения. Сделанные замечания не снижают ценности работы.

### **Заключение**

Диссертация Эрматовой Фотимы Абдужалиловны, подготовленная на соискание учёной степени кандидата медицинских наук на тему: «Диагностика ранних форм сифилиса на основе определения специфических иммуноглобулинов класса М (клинико-лабораторное исследование)», посвящена одной из актуальных проблем современной дерматовенерологии, она выполнена на высоком методическом уровне и является законченным научным квалификационным исследованием, в котором на основании разработанных теоретических положений решается научный вопрос, заключающийся в совершенствовании условий лабораторного обследования населения путём определения трепонемоспецифических антител класса М с целью диагностики раннего сифилиса, что имеет важное научное и практическое значение для современной дерматовенерологии.

По актуальности, объёму проведенных исследований, научной новизне полученных результатов, практической значимости разработанных рекомендаций, уровню внедрения в практику здравоохранения диссертационная работа Эрматовой Ф.А. полностью соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного

