



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ
ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА

Федеральное казенное учреждение здравоохранения
«Иркутский ордена Трудового Красного
Знамени научно-исследовательский
противочумный институт Сибири и Дальнего Востока»

**ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт Роспотребнадзора**

664047 Иркутск, Трилиссера, 78

Тел. 22-01-35, факс 22-01-40

E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

<http://irknicipchi.ru/>

ОКПО 01898090, ОГРН 1023801543017

ИНН/КПП 3811015807/381101001

УТВЕРЖДАЮ
Директор ФКУЗ Иркутский научно-
исследовательский противочумный институт
Роспотребнадзора доктор медицинских наук
профессор



С.В. Балахонов

«22» октября 2021 г.

22.10.2021 № 38-30-02/01-1399/1-2021

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального казенного учреждения здравоохранения «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека на диссертационную работу Кривонос Ксении Сергеевны «Мониторинг резистентности к инсектицидам в популяциях постельных клопов *Cimex lectularius* в России и усовершенствование мер борьбы с ними», представленную к защите в диссертационный совет Д 24.1. 249.02, созданный на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.17 - паразитология

Актуальность темы диссертационной работы. Кровососущие членистоногие являются наиболее опасными для человека представителями типа, так как их прямой контакт с кровью животных вызывает не только раздражающее действие при проникновении через кожные покровы, но и приводит к интоксикации, аллергическим реакциям, снижению уровня иммунитета и приспособленности, угрозе гибели, является фактором инфицирования

опасными и особо опасными возбудителями болезней.

Человечество достаточно давно столкнулось с проблемой синантропизации многих видов членистоногих, в том числе кровососущих. В этой связи несомненное значение имеют исследования по совершенствованию методов борьбы с таким их представителем как вид-космополит *Cimex lectularius* (Hemiptera (Heteroptera), Cimicidae) – постельный клоп. К сожалению, в последние десятилетия наблюдается увеличение обилия этого вида во многих странах мира, в том числе, в Российской Федерации (РФ). Причем, несмотря на свое название – постельный клоп – этот вид вредит не только людям, но и птицам, особенно в условиях промышленного птицеводства, вызывая падение живой массы, яйценоскости, снижение качества пера и пуха, то есть приносит ощутимый экономический ущерб. Установлено, что главной причиной всплеска численности *C. lectularius* на современном этапе стало формирование в популяциях постельных клопов устойчивости и резистентности к химическим инсектицидам, в первую очередь, к пиретроидам, широко применяемым во всем мире для борьбы с ними. Таким образом, не вызывает сомнения актуальность для медицинской паразитологии и ветеринарии исследования, направленные на мониторинг формирования в популяциях постельных клопов резистентности к инсектицидам, совершенствование мер борьбы с этим вредным и опасным видом кровососущих насекомых.

Новизна исследований и полученных результатов. Научная новизна диссертационной работы К.С. Кривонос не вызывает сомнений и заключается в следующем:

– впервые в России с помощью энтомо-токсикологического метода проведен мониторинг формирования резистентности у постельных клопов *C. lectularius* к различным группам инсектицидов. Подтверждено, что увеличение численности постельных клопов в РФ является следствием формирования в их популяциях полиморфизма по устойчивости к различным классам инсектицидов, выявлена мульти-резистентность к широко используемым препаратам. Для преодоления барьера популяционной устойчивости к инсектицидам предлагается применять схемы ротации ядов, включающие неоникотиноиды и альтернативные средства на основе силикагеля, диатомового порошка и их смеси;

– установлены диагностические концентрации для 16 инсектицидов из разных химических групп, которые могут быть использованы для определения доли резистентных особей *C. lectularius* к наиболее часто применяемым на объектах инсектицидам;

– изучена реверсия чувствительности к пиретроиду циперметрину резистентных рас постельных клопов в течение 22 поколений, содержащихся в лаборатории без селекции инсектицидами;

– впервые в России предложен молекулярно-генетический метод выявления *kdr* мутаций в гене *VSSC1*, который отвечает за резистентность к пиретроидам у *C. lectularius*. С по-

мощью этого метода изучена встречаемость точечных мутаций L925I и V419L в 9 выборках из популяций постельных клопов, собранных в разных городах РФ. Использование разработанного метода ПЦР является перспективным для проведения мониторинга и выявления резистентности к пиретроидам в популяциях *C. lectularius*;

– выявлено распространение в РФ и впервые изучена чувствительность в трех выборках из популяций тропического постельного клопа *Cimex hemipterus* к наиболее широко применяемому пиретроиду циперметрину;

– впервые у постельных клопов *C. lectularius* из разных субъектов России установлена чувствительность к неоникотиноидам;

– впервые в России изучено инсектицидное действие диатомового порошка и его смеси с дигидрооксидом кремния (силикагелем) на постельных клопов чувствительной и резистентной рас. Средства на их основе введены в предлагаемые автором схемы ротации;

– доказано, что применение схем ротаций инсектицидов, с включением в них средств на основе неоникотиноидов и альтернативных инсектицидов (силикагеля, диатомового порошка) повышает эффективность дезинсекционных мероприятий.

Внедрение результатов работы. Результаты научных исследований К.С. Кривонос используются в образовательных программах профессионального обучения («Организация работы дезинфектора в системе профилактических и противоэпидемических мероприятий в жилых и общественных зданиях на коммунальных и иных объектах») и профессиональной переподготовки («Организация работы врача-дезинфектолога в системе профилактических и противоэпидемических мероприятий в медицинских, образовательных, пищевых и других общественных объектах») в НИИ Дезинфектологии Роспотребнадзора, а также в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий в Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина.

Крайне важно, что на основе полученных К.С. Кривонос данных зарегистрированы и разрешены к применению на территории Таможенного союза инсектицидные средства: «Раптор аэрозоль от клопов» (СГР RU.77.99.88.002.Е.010739.12.15); «Экокиллер» (СГР RU.77.99.88.002.Е.002737.06.16); «Gektor» (СГР RU.77.99.88.002.Е.004901.11.17). Перечисленные соединения, как высокоэффективные, рекомендованы для включения в схемы ротации при борьбе с постельными клопами чувствительных и резистентных популяций.

Разработаны и утверждены документы:

– «Метод оценки эффективности средств на основе кристаллических порошков природного происхождения» (утв. 19.04.2018 г. Ученым Советом ФБУН НИИ Дезинфектологии Роспотребнадзора);

– СОП ИЛЦ-ЛР-ЛПДЗ-031 (утв. 21.03.2018 г. директором ФБУН НИИД Роспотребнадзора);

– «Метод полимеразной цепной реакции для выявления резистентности к пиретроидам в популяциях постельных клопов *C. lectularius*» (утв. 31.01.2019 г. Секцией зоотехнии и ветеринарии отделения сельскохозяйственных наук РАН);

– МУ «Определение уровня чувствительности членистоногих, имеющих медицинское значение, к инсектоакарицидам» (утв. в 2019 г. Главным государственным санитарным врачом РФ А.Ю. Поповой)

Личный вклад. К.С. Кривонос проведен анализ актуальности и степени изученности проблемы формирования резистентности в популяциях постельных клопов в различных странах мира, систематизирована имеющаяся литература. Автор лично участвовал в сборе постельных клопов в городах РФ, их культивировании в инсектарии, постановке экспериментов по изучению резистентности к инсектицидам различных химических групп, статистической обработке и анализе полученных экспериментальных данных. Соискателем подготовлена рукопись диссертации и автореферата, а также публикации, в том числе в англоязычной литературе. К.С. Кривонос сформулированы научные положения работы, выводы, практические рекомендации.

Обоснованность, достоверность и объективность полученных результатов.

Научные положения, представленные в диссертации, обоснованы, аргументированы и достоверны. Степень достоверности полученных результатов исследования определена: а) репрезентативностью собранного материала: в течение 2014–2019 гг. автором проведено более 900 опытов с использованием 10000 клопов; сформировано 23 инсектарные популяции от особей из девяти населенных пунктов РФ; проведен анализ инсектицидного действия более 20 химических соединений различных классов; б) адекватностью использованных методов поставленным задачам: сбор клопов на объектах; проведение видовой диагностики и культивирования экспериментальных популяций; топикального нанесения и принудительного контакта насекомых с обработанной инсектицидами поверхностью; определения уровня чувствительности особей; регистрации острого и остаточного действия ядов; молекулярно-генетического выявления маркеров резистентности; статистической обработки первичного материала.

Основные положения диссертации и полученные результаты были доложены и обсуждены на большом числе региональных, всероссийских и международных научно-практических конференциях и съездах.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации. Автореферат оформлен в соответствии с требованиями, полностью отражает содержание диссертации и научных публикаций, раскрывает положения, выносимые на защиту.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 1.5.17 – паразитология.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 19 печатных работ, из них 7 в журналах рекомендованных ВАК. Материалы диссертации полностью отражены в работах, опубликованных К.С. Кривонос; на их основе подготовлен ряд методических документов с разным уровнем внедрения результатов.

Рекомендации по использованию результатов, выводов и практических рекомендаций диссертационной работы.

Разработанный К.С. Кривонос способ молекулярно-генетического выявления в популяциях постельного клопа генов резистентности к инсектицидам может найти широкое применение в учреждениях Роспотребнадзора, организациях, занимающихся регуляцией численности синантропных членистоногих в населенных пунктах и на птицефабриках, для выявления причин устойчивости популяций клопов на отдельных объектах, совершенствования тактики борьбы с ними. Выявленные диагностические концентрации инсектицидов и схемы ротации препаратов будут способствовать подъему эффективности борьбы с постельными клопами. Информация о реверсии чувствительности экспериментальных популяций к ядам в отсутствие селекции инсектицидом, данные о распространении в РФ нового тропического вида клопов и ряд других положений диссертации важны для фундаментальных разработок в области медицинской паразитологии, ветеринарии и могут использоваться на лекционных и практических занятиях в высших и средних учебных заведениях здравоохранения, образования, ветеринарии, РАН, Роспотребнадзора.

Принципиальные замечания по диссертации и автореферату отсутствуют. Работа хорошо оформлена: содержит 22 таблицы и 22 рисунка. Положительно оценивая диссертационное исследование, следует обратить внимание автора на определенные неточности и недочеты.

1. В диссертации К.С. Кривонос в разделе 2.3.9. «Метод статистической обработки полученных данных» указаны лишь программы, использованные для статистической обработки, и не приводятся сами методы. Вместе с тем, в работе автор корректно использует расчеты средних значений и ошибок этого показателя, определение доверительного интервала, применяет регрессионный анализ при выявлении зависимости доза-эффект. Все это следовало указать в разделе диссертации 2.3.9.

2. Автор периодически достаточно вольно обращается с термином популяция. Как следствие в диссертации можно встретить неверные выражения. Например, «Нами был амплифицирован и секвенирован полиморфный участок гена α субъединицы VSSC1 у **исследованных популяций** *C. lectularius*, ...» (с. 13). Правильно, у **особей из популяций...** амплифицирован и секвенирован полиморфный участок гена...

«Таблица 7 – Результаты **секвенирования популяций** клопов из разных городов...». Опять же говорится об исследовании особей из популяций. методом секвенирования.

«Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) использованы постельные клопы *C. lectularius* лабораторной чувствительной расы S-НИИД **и популяции, собранные в Москве...**». Правильнее: собраны особи, от которых заложены инсектарные культуры (или экспериментальные популяции).

Вместе с тем, в большинстве случаев С.В. Кривонос использует термин корректно: «...**культуры, полученные от родительских особей из популяций...**» (с. 6-7 автореферата) и в других местах текста рукописи диссертации и автореферата.

3. Интересные и впервые полученные данные о распространении в РФ тропического вида кровососущего клопа, хотя и отражены в пятом выводе и одном из разделов диссертации, в задачах к работе не нашли своего отражения.

4. Первый вывод сформулирован стилистически не удачно и остается не ясным (в том числе из текста диссертации), каким образом потепление климата влияет на распространение синантропного насекомого.

В четвертом выводе К.С. Кривонос пишет: «Разработанный нами молекулярно-генетический метод (ПЦР)...». Это не корректная формулировка, так как сам метод разработан ранее, о чем написано в тексте диссертации и автореферата. Кроме того, полученные результаты по выявлению генов устойчивости у клопов лучше рассматривать, как рекогносцировочные, создающую базу для подобных работ в дальнейшем. Это наше предложение следует из факта небольшого объема исследованного по рассматриваемой задаче материала, причем опытов не с отдельными особями, а пулами насекомых.

5. В диссертации указано, что «Смоленские популяции оказались высоко резистентными к пиретроидам, в частности к дельтаметрину, циперметрину и лямбда-цигалотрину, доля резистентных особей составила 50-95 %». Вместе с тем, факт устойчивости к инсектициду у 50 % особей популяции, вряд ли можно относить к формированию высокой степени резистентности. Кроме того, в культуре СМ-2 доля клопов, устойчивых к альфа-циперметрину, составляет всего 5 %, а в отношении культуры СМ-1 это соединение не изучалось. Поэтому логичнее не делать обобщение на все пиретроиды, а обсуждать конкретно полученные результаты по отдельным культурам и инсектицидам.

И далее по тексту: «Популяции из Москвы, Астрахани и Смоленска, устойчивые к пиретроидам, ФОС и карбатам, в целом были чувствительными к неоникотиноидам ...»). Но как следует из табл. 3 автореферата, экспериментальные популяции, происходящие от особей из Астрахани, чувствительны к действию фентиона и хлорпирифоса, а инсектарные культуры клопов из Смоленска не обладают резистентностью к хлорофосу и не изучались в отношении влияния на них других ФОС соединений. Таким образом, обобщение об устойчивости всех популяций к ФОС является преждевременным.

6. В автореферате (с. 12), при обсуждении вопроса о реверсии чувствительности модельных популяций насекомых к ядам, дается ссылка на табл. 5, хотя необходима на табл. 4. Кроме того, в автореферате не дано общее число исследованных модельных популяций, что создает определенное затруднение при анализе приводимых в его тексте таблиц. Вместе с тем, в диссертации данные о происхождении всех модельных популяций подробно рассмотрены, поэтому сложностей с чтением рукописи не возникает.

7. В главе 4, которая очень важна для разработки новых схем ротации инсектицидов, К.С. Кривонос убедительно доказывает высокую эффективность применения для борьбы с клопами диатомового порошка и особенно силикагеля. Но остается не ясным, зачем использовать смесь этих соединений, если каждый из них можно применять самостоятельно.

8. К.С. Кривонос в разделе рукописи диссертации и автореферата о собственных публикациях пишет, что ей подготовлено «...1 методическое положение». Фактически из текста мы видим, что автор участвовал в разработке несколько методических документов разного уровня внедрения: от учрежденческих СОП до МУ федерального уровня.

В работе есть ряд стилистически неудачно построенных фраз, на которых останавливаться мы не будем, так как перечисленные замечания не меняют общей положительной оценки рассматриваемой диссертации.

Заключение. Таким образом, диссертация Кривонос Ксении Сергеевны «Мониторинг резистентности к инсектицидам в популяциях постельных клопов *Cimex lectularius* в России и усовершенствование мер борьбы с ними» на соискание ученой степени кандидата биологических наук является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена научная проблема мониторинга формирования устойчивости и резистентности к инсектицидам в популяциях постельного клопа на социально-значимых объектах городов, в жилом секторе, на птицефабриках. Автором предложены препараты и схемы ротации инсектицидов и альтернативных средств, которые позволяют эффективно бороться с опасными кровососущими насекомыми в населенных пунктах, что имеет важное хозяйственное значение, так как внедрение современных подходов к борьбе с постельными клопами, имеет фундаментальное

значение для медицинской паразитологии и ветеринарии, а также дает ощутимый экономический эффект.

Диссертационная работа Кривонос Ксении Сергеевны по содержанию, актуальности, новизне, научно-практической значимости результатов и их достоверности полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. (с изменениями Постановления Правительства РФ № 335 от 21.04.2016 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.17 – Паразитология, а автор заслуживает присуждения искомой степени.

Отзыв ведущей организации обсужден и одобрен на заседании ученого совета ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, протокол № 6 от 21 октября 2021 г.

Ведущий научный сотрудник зоолого-паразитологического
отдела ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский
противочумный институт Роспотребнадзора
доктор биологических наук, доцент
664047 г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78
Тел: (3952) 22-01-37, E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru


А.Я. Никитин

Подпись доктора биол. наук, доцента Никитина Алексея Яковлевича заверяю:

Начальник отдела кадров
и спецчасти института




Н.И. Шангареева

«21» октября 2021 г.