

ОТЗЫВ

официального оппонента член-корреспондента РАН, доктора ветеринарных наук, профессора, Глотова Александра Гавриловича, на диссертацию **Шаршова Кирилла Александровича** «Экология и генетическое разнообразие вируса гриппа у диких птиц в азиатской части России (2007-2020)», представленную к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10. вирусология

Актуальность и степень разработанности темы диссертационной работы.

Диссертационная работа К.А. Шаршова посвящена одной из наиболее актуальных и важных с практической точки зрения проблем вирусологии – изучение генетического разнообразия и экологии вирусов гриппа А (ВГА). Проблемные области в исследованиях вируса гриппа у диких птиц, наиболее актуальные на сегодняшний момент, включают, кроме всего прочего и взаимодействие с домашними птицами, и роль перелетных птиц в распространении высокопатогенного. Сегодня наблюдается беспрецедентная панзоотия высокопатогенного гриппа H5N1 не только среди птиц – многие виды млекопитающих подвержены вспышкам инфекции и массовой гибели. Регулярно регистрируются летальные случаи у людей. Очевидно, что большая часть проблемных аспектов при изучении вируса так или иначе связана с высокопатогенными вариантами вируса гриппа птиц, его зоонозным и пандемическим потенциалом. Высокопатогенные вирусы гриппа птиц представляют всемирную угрозу сельскохозяйственному сектору, общественному здравоохранению и некоторым популяциям диких птиц. Особую озабоченность вызывают финансовые последствия эпизоотий гриппа для отечественного птицеводства, связанные с прямыми потерями, отбраковкой и мерами реагирования, а также торговыми ограничениями.

Актуальность выбранной автором темы не вызывает сомнений. Однако, тема эта очень активно исследуется многими коллективами многие годы,

поэтому перед автором стояла чрезвычайно сложная задача. Автор взял в работу большую выборку материала и значительный, длительный период наблюдений. И применил новые современные подходы и методы, для того чтобы добиться цели. Несомненно, актуальнейшим регионом для изучения вируса в природных резервуарах является Азиатская часть России. Автор прекрасно обосновал выбор многих регионов и точек сбора материала, и далее, по сути, представляет результате очень подробного мониторинга вируса на протяжении длительного периода (2007-2020 гг.). Это позволяет расширить и детализировать имевшиеся данные, важные как для фундаментальной науки, так и для практических аспектов, в том числе сельского хозяйства. В целом, выбранное автором направление и тема обладает значительной актуальностью.

Научная новизна полученных результатов и практическая значимость исследования.

В ходе данной работы автором получены уникальные данные о циркуляции вирусов гриппа А среди диких птиц на территории Северной Азии в период с 2007 по 2020 гг. Впервые установлена распространенность ВГА и ее достоверные различия у разнообразных таксонов диких птиц на основании выборки 34835 особей 269 видов, собранных на территории Северной Азии, принадлежащих к 48 семействам 20 отрядов.

Автор впервые проанализировал ассоциированность поверхностных белков вируса гриппа HA и NA отдельных субтипов с видом хозяина, географическим регионом, сезоном года для территории Северной Азии и предложена концепция географической гетерогенности распространения вируса гриппа.

Важным результатом стала достоверная фиксация одновременной циркуляции 44 различных субтипов вируса гриппа в популяциях диких птиц Сибири и Дальнего Востока, среди которых достоверно ассоциированными между собой являлись следующие 12 комбинаций (субтипов) HA и NA: H1N1, H3N8, H4N6, H5N3, H8N4, H9N2, H10N7, H11N9, H12N5, H14N9,

H15N4, H16N3, предполагая устойчивый фенотип вируса в природе. Впервые обнаружена достоверная моноассоциированность с одним субтипом нейраминидазы NA следующих субтипов гемагглютинирина HA: H1(N1), H3(N8), H4(N6), H8(N4), H12(N5), H15(N4) и H16(N3). Напротив, отсутствие ассоциированности с одной нейраминидазой и наибольшее разнообразие комбинаций установлено для субтипов H2Nx, H5Nx, H6Nx, H7Nx, H10Nx. Впервые сформирована концепция филогенетических паттернов всех восьми сегментов генома вируса гриппа, выделенных нами от диких и домашних птиц в период 2007–2020 гг. на территории Северной Азии с использованием панорамного филогенетического анализа установленных нами 267 нуклеотидных последовательностей полных геномов.

Автор впервые доказал значимый вклад низкопатогенных вирусов различных субтипов и высокопатогенных вирусов H5Nx, циркулирующих в Сибири в поток генов и события реассортации в Восточно-Азиатском регионе. Например, было выявлено пять реассортантов высокопатогенного вируса гриппа H5N6, наиболее вероятно распространившегося в Японию из азиатской части России в 2016–2017 гг. и содержащего сегменты, циркулирующие в Сибири. Впервые показано, что высокопатогенные вирусы H5N6 клады 2.3.4.4, циркулировавшие в Японии в 2016–2017 гг., возникли в результате реассортации с совместно циркулирующими высокопатогенными китайскими и низкопатогенными евразийскими вариантами вируса диких птиц и принадлежат к пяти реассортантным генотипам, наиболее вероятно распространившимся в Японию из азиатской части России и Северного Китая.

Кроме этого, впервые получены уникальные данные по реассортациям и редким субтипам вируса гриппа у диких птиц.

Много новых актуальных данных получено в отношении высокопатогенных вариантов вируса – ему посвящено несколько больших разделов диссертации.

Теоретическая значимость данной работы заключается в том, что получены новые данные об экологических особенностях циркуляции, разнообразии и количестве субтипов, паттернах распределения исследованного вируса гриппа по филогенетическим группам в зависимости от анализируемого сегмента генома. Выявлены случаи реассортации (в том числе межконтинентальной) и распространения среди домашних и диких птиц, которые указывают на существование активного центра биоразнообразия вируса гриппа в гнездовом ареале диких водоплавающих птиц Северной Азии. Подобная информация, детализированная в разделе о новизне результатов, существенно дополняет знания по экологии и эволюции ВГА на территории не только Евразии, но и других континентов. Данные о биологическом разнообразии выделенных штаммов вируса гриппа от диких птиц могут быть использованы в изучении экологии патогена, эволюции, а также путей распространения вируса.

Настоящая работа обладает большой практической значимостью, и заключается в том, что проведенные прикладные исследования вируса гриппа птиц позволили разработать практические предложения по применению полученных научных результатов. Была оптимизирована работа по мониторингу вируса гриппа птиц, а именно: сформированы методические рекомендации, лабораторный регламент, предложена оптимизация секвенирования и дифференциальной ПЦР-диагностики. На основании результатов многолетнего мониторинга на территории Северной Азии была сформирована и зарегистрирована база данных по экологии и распространенности вирусов гриппа у диких птиц «Распространенность вирусов гриппа А и авулавирсов у диких птиц в азиатской части России». (Свидетельство о гос. регистрации № 2022620256 от 17 января 2023 г.). Создана коллекция штаммов различных субтипов, из которых 123 штамма в следующие государственные коллекции вирусов: Государственная коллекция возбудителей вирусных инфекций и риккетсиозов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора; Коллекция вирусов гриппа и ОРЗ, отдел этиологии и

эпидемиологии ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России.; Государственная коллекция вирусов II–IV групп патогенности, Отдел Государственной коллекции вирусов Института вирусологии им. Д.И. Ивановского, ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России.

В международные базы данных была депонированы нуклеотидные последовательности 2318 сегментов генома вируса гриппа птиц. Созданная панель из 12 штаммов H1N1, H2N2, H5N1, H8N4, H10N5, H13N8, H15N4, H16N3 субтипов апробирована и рекомендована для создания штаммов-продуцентов для диагностики и дальнейших прикладных исследований.

Результаты работы защищены 15 патентами РФ.

Оценка содержания диссертации, ее завершенности.

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, объединенной главы «Результаты и обсуждение» (пять разделов), заключения, выводов и списка литературы. Главы обсуждение не присутствует, обсуждение представлено в каждом соответствующем разделе. Диссертация изложена на 435 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, включающего 612 источников, в т.ч. 14 отечественных и 598 зарубежных авторов. Работа содержит 65 таблиц, 102 рисунка.

Автором подробно обоснована актуальность темы исследования, определены цель, задачи диссертационной работы, методология исследования, сформулированы положения, выносимые на защиту, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, описана апробация результатов исследования и личный вклад автора.

Глава «Обзор литературы» написана грамотным языком и соответствует тематике данной работы: Обзор литературы включает 5 больших разделов (с множеством подглав), в которых представлены современные сведения о таксономии, морфологии, репликации, геноме и белках, вопросам экологии и генетического разнообразия. Отдельно

подробно освещена проблема высокопатогенного вируса гриппа H5 субтипов. Освещены пробелы в современных знаниях и перспективы дальнейших исследований.

Глава «Материалы и методы» полно представляет использованные методики и свидетельствует о большом объеме проделанной автором работы. Глава содержит описание использованных в работе материалов (выборки, образцов, вирусов, контрольных препаратов, реактивов и рабочих растворов); вирусологических (культивирование и титрование вирусов *in vitro*, инфицирование лабораторных животных); молекулярно-биологических (ПЦР различных модификаций, секвенирование) и биоинформационных (компьютерная обработка, анализ, статистическая обработка результатов) методов.

Глава «Результаты и обсуждение» имеет 5 основных структурированных раздела, в которых представлены результаты исследований. Большой объем включает подробное описание проделанной работы. В части, касающейся обсуждения результатов, в данной главе соискатель приводит глубоко осмысленный и подробный анализ полученных результатов исследования.

В разделах «Заключение» и «Выводы» представлены и обобщены все полученные автором результаты. Выводы диссертации четко сформулированы, обоснованы, закономерно вытекают из полученных результатов и соответствуют поставленным задачам.

В целом, диссертация без сомнений соответствует паспорту специальности «Вирусология», по которой она представлена к защите, написана ясно и логично, а ее оформление отвечает существующим требованиям. В автореферате отражены основные результаты диссертационной работы.

Достоверность результатов, обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций обеспечивается комплексным подходом к их достижению с привлечением современных вирусологических, молекулярно-

биологических и биоинформатических методов, а также научно обоснованными выводами и наличием научных публикаций в высокорейтинговых журналах. Достоверность поддерживается также большим объёмом экспериментальных данных с использованием больших репрезентативных выборок, большого числа вирусов с использованием широкого спектра методов, адекватных целям и задачам исследования, а также методов статистической обработки полученных результатов.

Научные положения, выводы и заключение, сформулированные в диссертации, обоснованы объёмом проведённых исследований, методическими подходами, использованием современных методов исследования. Основные положения, выносимые на защиту, и выводы логично вытекают из полученных результатов. Достоверность полученных результатов и обоснованность научных положений и выводов не вызывают сомнений.

Публикации и апробация результатов, личный вклад.

Результаты диссертационной работы хорошо представлены и опубликованы: Результаты автора отражены в 138 печатных работах, которые включают 52 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, одну коллективную монографию и 15 патентов РФ.

Основная часть экспериментальной работы и анализ результатов выполнены лично автором или при его участии. Часть работ проводилась совместно с сотрудниками других профильных подразделений и организаций. Данные об этом, а также благодарности, подробно отражены в автореферате и диссертации.

Вопросы и замечания к диссертационной работе.

Работа однозначно оценивается положительно. Некоторые замечания в оформлении не являются критическими. Присутствуют некоторые опечатки и несогласованные предложения в тексте диссертации. Ниже некоторые комментарии, на которые хотелось бы получить ответы и мнение автора в контексте самой сути исследования.

1. Диссертация содержит значительное количество однотипных филогенетических деревьев, описаний клад и повторяющихся интерпретаций. Для повышения компактности и читаемости часть вспомогательных деревьев и таблиц могла бы быть вынесена в приложения, а в основном тексте оставить обобщающие схемы.
2. Чем обусловлен выбор именно этого подхода по анализу ассоциаций субтипов, таксонов хозяев, локация и т.д.?
3. Какие из выявленных генетических линий вируса представляют наибольший эпидемиологический и эпизоотологический риск?
4. Какая конкретная практическая польза была получена в ходе исследований для Сибирского федерального округа, как одного из регионов, наиболее подверженных эпизоотиям высокопатогенного гриппа птиц?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Шаршова Кирилла Александровича «Экология и генетическое разнообразие вируса гриппа у диких птиц в Азиатской части России (2007–2020)», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10 – Вирусология является завершенной научно-квалификационной работой, в которой представлен значительный вклад в решение крупной актуальной научной проблемы. На основе выполненных автором исследований впервые получены уникальные данные о характере экологических механизмов и генетических особенностях циркуляции вируса гриппа, которые необходимо использовать в прикладном аспекте для мониторинга и контроля инфекции.

Диссертация и автореферат полностью соответствуют критериям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 30.07.2014 № 723, от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от

11.09.2021 № 1539, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а сам автор, Шаршов Кирилл Александрович, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

Официальный оппонент: руководитель

Руководитель института

экспериментальной ветеринарии

Сибири и Дальнего Востока СФНЦА РАН

Доктор ветеринарных наук, профессор,

член-корр. РАН



Глотов Александр Гаврилович

01 сентября 2026 г.

Адрес: 630501, Российская Федерация, Новосибирская область,

Новосибирский район, р.п. Краснообск, а/я 463

Телефон: 8(383) 348-44-62, моб.: 8-913-739-24-99

Адрес электронной почты: glotov_vet@mail.ru

Подпись Глотова А.Г. заверяю:

Ученый секретарь СФНЦА РАН,

кандидат биологических наук



Коркина Валентина Игоревна

01 сентября 2026 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агrobiотехнологий Российской академии наук 630501, Новосибирская область, Новосибирский район, г.п. рабочий поселок Краснообск, ул. Центральная, зд.7

E-mail: office@sf sca.ru; Телефон +7 (383) 348-14-40, +7 (383) 348-46-36