

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Батурина Артема Александровича «Дифференциация генотипов вируса Западного Нила, циркулирующего на территории европейской части России», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – «Вирусология»

Актуальность темы диссертационного исследования

Лихорадка Западного Нила (ЛЗН) – природно-очаговая арбовирусная инфекция, имеющая глобальное распространение. Клинические проявления ЛЗН разнообразны и варьируют от бессимптомного течения до развития тяжелых форм менингита и менингоэнцефалита. Тяжесть заболевания определяется как вирулентностью возбудителя, так и иммунным статусом инфицированного. Возбудителем заболевания является вирус Западного Нила (ВЗН, West Nile virus), который принадлежит семейству *Flaviviridae*, роду *Orthoflavivirus*, виду *Orthoflavivirus nilense*. Резервуаром ВЗН в природе являются птицы, а в качестве основных переносчиков выступают комары. Поддержанию циркуляции вируса в природных очагах ЛЗН способствуют также иксодовые, гамазовые и аргасовые клещи. В настоящее время нет документально зарегистрированных случаев передачи ВЗН от человека к человеку трансмиссивным путем. Однако инфицирование людей может происходить при трансплантации органов, переливании крови и грудном вскармливании. Зарегистрированы случаи трансплацентарной передачи и внутрилабораторного заражения ВЗН. Длительное время ВЗН в России не представлял серьезной угрозы населению. Резкое ухудшение эпидемической ситуации по ЛЗН на юге России произошло в 1999 году, когда во время крупной вспышки в Волгоградской области число лабораторно подтвержденных случаев заболевания достигало около 500. С 1999 года на территории Российской Федерации случаи ЛЗН стали регистрировать

ежегодно. Геномы различных штаммов ВЗН характеризуются значительной генетической вариабельностью. По современным данным изоляты ВЗН можно разделить на 9 генотипов (генетических линий). Дифференциация ВЗН на генотипы основана на сравнительном анализе полноразмерных нуклеотидных последовательностей генома. В России зарегистрирована циркуляция ВЗН генотипов 1, 2 и 4.

На сегодняшний день предложено множество способов внутривидовой дифференциации возбудителя ЛЗН. Большинство из них основано на секвенировании полного генома ВЗН или его участков. Однако способ генотипирования, основанный на секвенировании, может быть реализован только для образцов с высокой концентрацией вирусной РНК. Большинство клинических образцов имеет низкую вирусную нагрузку, что снижает эффективность применения секвенирования для определения генотипа ВЗН в нативном материале. Методика генотипирования на основе ОТ-ПЦР в реальном времени требует существенно меньшей концентрации вирусных частиц в исследуемом материале, менее трудозатратна и экономически более выгодна.

В этой связи не вызывает сомнения актуальность исследования Батурина Артема Александровича, целью которого явилась разработка методического подхода для выявления и дифференциации генотипов вируса Западного Нила методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией и гибридизационно-флуоресцентной детекцией результатов.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В диссертационной работе А.А. Батурина в полной мере решены научные задачи, позволившие достичь поставленной цели исследования. Разработка методики дифференцировки генотипов ВЗН методом ОТ-ПЦР в реальном времени выполнена с применением современных биоинформатических и молекулярно-биологических методов.

Сформулированные в диссертационной работе научные положения и выводы обоснованы экспериментальными данными, полученными на репрезентативной выборке штаммов ВЗН.

Достоверность и апробация результатов исследования

Достоверность результатов диссертационной работы А.А. Батурина определяется применением современных методов молекулярно-генетического и биоинформатического анализа, достаточной выборкой данных, комплексным подходом к проведению исследований, выполненных с использованием современных методов статистической обработки полученных результатов. Все выводы и практические рекомендации диссертации логично вытекают из полученных результатов и соответствуют цели и задачам работы. Работа выполнена на сертифицированном и прошедшем метрологическую поверку оборудовании.

Материалы диссертации были представлены и обсуждены на 8 научных конференциях. Основные результаты работы полностью отражены в печати. По теме диссертации опубликовано 22 печатных работ, из них 8 публикаций в журналах ВАК. По теме диссертации получены 6 патентов на изобретение.

Теоретическая и практическая значимость работы

Батуриным А.А. разработан методический подход для генотипирования вируса Западного Нила на основе полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией и гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов в режиме реального времени, который позволит повысить эффективность эпидемиологического мониторинга за возбудителем ЛЗН. Сконструирован набор реагентов «Амплиген-*WNV*-генотип-1/2/4» для выявления и дифференциации генотипов 1, 2, 4 вируса Западного Нила методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией и гибридизационно-флуоресцентной детекцией в пробах клинического, аутопсийного материала от человека, а также зооэнтомологического материала. Определены генотипы ВЗН, циркулирующего на территории

европейской части России в период с 2010 по 2022 гг., с помощью методов ОТ-ПЦР в реальном времени и секвенирования. Проведены контрольные лабораторные испытания для оценки аналитической чувствительности и специфичности разработанного набора реагентов «Амплиген-*WNV*-генотип-1/2/4». Проведены технические и клинические испытания для подтверждения функциональных характеристик набора реагентов «Амплиген-*WNV*-генотип-1/2/4». Завершены этапы государственной экспертизы в Росздравнадзоре, получено регистрационное удостоверение РЗН 2022/17020 от 27.04.2022 г., разрешены производство, реализация и применение медицинского изделия в лабораторной практике. Разработанный методический подход используется специалистами в Референс-центре по мониторингу за возбудителем лихорадки Западного Нила для определения генотипов ВЗН при проведении эпидемиологического мониторинга. Материалы диссертации используют сотрудники при проведении практических занятий и чтении лекций в рамках дополнительного профессионального образования по программам профессиональной переподготовки и повышения квалификации специалистов на базе ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

Структура и содержание диссертационной работы

Рукопись диссертационной работы построена по традиционному плану изложена на 119 страницах, состоит из введения, обзора литературы, 4 глав собственных исследований, заключения, выводов, перечня сокращений и списка литературы, включающего 217 источников, в том числе 30 отечественных и 187 – зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 8 рисунками и 15 таблицами. В главе 1 основной части представлен обзор литературы, подтверждающий актуальность и научную новизну исследования. В главе 2 «Материалы и методы» подробно описаны методические подходы и дизайн исследования. В главе 3 в сжатой форме представлено описание основных технологических этапов разработки набора

реагентов для генотипирования ВЗН. В главе 4 представлены исследования аналитических характеристик разработанной методики, включая аналитическую чувствительность и специфичность. В главе 5 представлены результаты генотипирования ВЗН с помощью разработанной методики в сравнении с традиционной методикой секвенирования. В разделе «Заключение» автор обобщает данные проделанной работы и обсуждает полученные результаты в контексте проблемы изучения генетического разнообразия ВЗН в целом. Содержание этого раздела дает представление о профессиональной эрудиции диссертанта. Выводы диссертации обоснованы, соответствуют задачам исследования и согласуются с положениями, выносимыми на защиту. Автореферат полностью соответствует содержанию диссертационной работы.

Принципиальных замечаний, которые могли бы повлиять на положительную оценку работы, нет.

Соответствие специальности

Научные положения диссертации соответствуют специальности 1.5.10 – «Вирусология». Результаты проведенного исследования соответствуют областям исследований: пунктам 4, 8, 10 паспорта специальности «Вирусология».

Заключение

Диссертационная работа Батурина Артема Александровича на тему «Дифференциация генотипов вируса Западного Нила, циркулирующего на территории европейской части России», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 «Вирусология», является законченной научно-квалификационной работой. По актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований представленная диссертационная работа полностью соответствует требованиям, установленным в пп. 9 - 14 Положения «О порядке присуждении учёных степеней», утвержденного

Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями в ред. Постановлений Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016, № 748 от 02.08.2016, № 650 от 29.05.2017, № 1024 от 28.08.2017, № 1168 от 01.10.2018), предъявляемым к кандидатским и докторским диссертациям, а ее автор - Батурин Артем Александрович заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 - «Вирусология».

Официальный оппонент:

кандидат медицинских наук, заместитель директора по научной работе Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

01.11.2023



Дедков Владимир Георгиевич

197101, Санкт-Петербург,
ул. Мира, д. 14
тел. 8 (916) 325-23-56
e-mail: vdedkov@yandex.ru

Подпись к.м.н. Дедкова В.Г.

заверяю:

Начальник отдела кадров:
(Дедкову В.Г.)

