

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Батурина Артема Александровича
«Дифференциация генотипов вируса Западного Нила, циркулирующего на
территории европейской части России», представленной на соискание ученой
степени кандидата биологических наук по специальности
1.5.10 – вирусология

Вирус Западного Нила (ВЗН), принадлежащий к семейству *Flaviviridae*, является возбудителем природно-очаговой арбовирусной инфекции с трансмиссивным механизмом передачи – лихорадки Западного Нила (ЛЗН), которая имеет глобальное распространение. В последние годы наблюдается значительное расширение ареала ВЗН и активизация природных очагов этой инфекции на территории России. К заболеванию восприимчивы все возрастные категории людей, специфических симптомов нет. У человека ВЗН имеет наибольшую тропность к тканям головного мозга. Летальность при нейроинвазивной форме ЛЗН составляет 10-30%.

Геномы различных штаммов ВЗН характеризуются значительной генетической вариабельностью. По современным данным изоляты ВЗН разделяют на 9 генотипов, обладающих разной степенью вирулентности для человека. В России зарегистрирована циркуляция ВЗН генотипов 1, 2 и 4. Генетическая структура популяций вируса может динамично изменяться. Так, с 1999 по 2003 г. на территории Волгоградской области была установлена циркуляция ВЗН генотипа 1. А в период с 2007 по 2010 гг. на данной территории вспышки заболевания были вызваны ВЗН генотипа 2, наблюдался процесс вытеснения генотипа 1.

Большинство из способов внутривидовой дифференциации ВЗН основано на секвенировании полного генома возбудителя или его участков. Тем не менее, для успешного проведения секвенирования требуются высокие

концентрации вирусной РНК, что ограничивает применение этого метода для определения генотипа ВЗН в нативном биологическом материале. Полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией в данном случае является более предпочтительной, поскольку позволяет обнаруживать незначительные количества нуклеинового материала. Однако зарегистрированные на территории России коммерческие наборы реагентов для обнаружения РНК ВЗН в биологическом материале не позволяют осуществлять внутривидовую дифференциацию ВЗН.

Учитывая факт циркуляции на территории России различных генотипов ВЗН и отсутствие эффективных способов генотипирования возбудителя ЛЗН в биологическом материале, не вызывает сомнений актуальность исследования, направленного на разработку методического подхода для выявления и дифференциации генотипов вируса Западного Нила методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией и гибридационно-флуоресцентной детекцией результатов.

Научная новизна исследования определяется тем, что автором сконструированы 3 пары специфичных олигонуклеотидных праймеров и 3 флуоресцентно-меченых зонда, комплементарные фрагменту гена полипротеина, кодирующего капсидный белок, для идентификации и дифференциации вируса Западного Нила 1, 2 и 4 генотипов; впервые сконструированы 3 штамма бактерий *Escherichia coli* – продуценты рекомбинантных плазмид, несущих последовательность 5'-нетранслируемой области и участка гена полипротеина вируса Западного Нила 1, 2 и 4 генотипов соответственно, которые можно использовать в качестве положительных контрольных образцов. Приоритетность по конструированию олигонуклеотидов и штаммов-продуцентов рекомбинантных плазмид подтверждена 6 патентами на изобретение РФ.

Теоретическая значимость исследования заключается в том, что диссертантом получены новые данные об особенностях циркуляции и

распространенности генотипов ВЗН в различных регионах европейской части России в период 2010 -2022 гг. Автором установлено доминирование ВЗН генотипа 2 в изучаемых субъектах европейской части России.

Работа имеет высокую практическую ценность. 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 и аутопсийного материала от человека, а также зооэнтомологического материала. Высокая чувствительность и специфичность разработанного набора реагентов подтверждены при проведении контрольных лабораторных, технических и клинических испытаний. По итогам государственной экспертизы, проведенной Росздравнадзором, выдано регистрационное удостоверение (РЗН 2022/17020 от 27.04.2022 г.), разрешены производство, реализация и применение медицинского изделия в лабораторной практике.

Положения, выносимые на защиту, выводы по результатам диссертационного исследования, а также выработанные на основании полученных результатов рекомендации, обоснованы и соответствуют задачам, поставленным для достижения цели.

Автором диссертационного исследования сформулировано 6 достаточно емких по содержанию выводов, логично вытекающих из основных результатов, полученных на значительном объеме обработанных экспериментальных данных.

Достоверность полученных Батуриным А.А. результатов подтверждена постановкой опытов в нескольких повторах, анализом большого объема экспериментальных данных. Результаты обработаны с использованием методов статистического анализа. Работа выполнена на сертифицированном и прошедшем метрологическую поверку оборудовании.

Диссертация выполнена с использованием комплекса современных методов молекулярно-генетического и биоинформационного анализа. Работа проведена в рамках 5 плановых научно-исследовательских тем, в одной из которых соискатель являлся ответственным исполнителем.

Материалы диссертации достаточно широко представлены на научно-практических конференциях, в том числе международного уровня. По теме диссертации соискателем опубликовано 22 научные работы, из них 8 статей в периодических изданиях из перечня ведущих рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК РФ. Личный вклад автора диссертации является основным, представлен на всех этапах работы.

В целом автореферат отражает основные положения, выносимые на защиту, новизну и практическую значимость работы, обосновывает сделанные автором выводы, а также позволяет оценить характер и объем проведенных автором исследований. Иллюстрации наглядны и информативны. Принципиальных замечаний к содержанию и оформлению автореферата нет.

Содержание диссертации полностью соответствует пунктам 8, 10 паспорта специальности 1.5.10 – вирусология (биологические науки).

Диссертационная работа Батурина Артема Александровича «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 темы, научной новизне, теоретической и практической значимости результатов, объему проведенных исследований представленная диссертационная работа полностью соответствует требованиям п.9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (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, № 426 от 20.03.2020 г., № 1539 от 11.09.2021 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Батурин Артем Александрович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – вирусология.

Директор
ФБУН ФНИИВИ «Виром»
Роспотребнадзора,
доктор биологических наук



Александр Владимирович Семенов

Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций «Виром» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ФНИИВИ «Виром» Роспотребнадзора).

Адрес: 620030, Свердловская область, г. Екатеринбург, ул. Летняя, стр. 23

Тел.: +7 (343) 261-99-47

Адрес электронной почты: info@niivirom.ru

Подпись Семенова А.В. заверяю:

И.о. ученого секретаря
ФБУН ФНИИВИ «Виром»
Роспотребнадзора



Юлия Александровна Михайленко

« 24 » ноября 2023 г.