

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук Хаснатинова Максима Анатольевича на диссертацию Марченко Василия Юрьевича «Мониторинг высокопатогенного вируса гриппа птиц на территории Российской Федерации» представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10 – вирусология.

Актуальность работы определяется высокой эпидемической и социальной значимостью вирусов гриппа А (ВГА) для всего человечества. Все опасные для человека варианты ВГА изначально сформировались в популяциях диких птиц, для которых характерно наибольшее генетическое разнообразие этих вирусов. Мониторинг циркуляции ВГА в популяциях диких птиц, среди домашних птиц, а также среди восприимчивых млекопитающих необходим для раннего выявления опасных для человека вариантов ВГА, а также служит одним из основных источников информации об экологии, эволюции и географическом распространении этого патогена.

Работа Василия Юрьевича Марченко носит выраженный фундаментальный характер и посвящена изучению динамики эпизоотического процесса ВГА в популяциях диких птиц, а также среди домашней птицы и, в меньшей степени, среди восприимчивых млекопитающих. Дизайн работы основан на использовании

Степень обоснованности. Сформулированные автором научные положения полностью обоснованы, выводы основаны на полученных результатах.

Достоверность результатов исследования В.Ю. Марченко обусловлена большим объемом исследованных материалов, непрерывностью временного ряда наблюдений, комплексным дизайном исследования, позволяющим верифицировать полученные результаты несколькими независимыми методами, а также набором современных вирусологических и молекулярно-биологических методов, который адекватен поставленной цели и задачам.

Теоретическая значимость исследования состоит в комплексной характеристике эпизоотического процесса циркуляции ВГА в популяциях диких птиц, гнездящихся на территории РФ. Получены новые данные об эволюционных процессах, протекающих в вирусных популяциях, о патогенетических характеристиках обнаруженных вариантов ВГА. Автором расшифрованы и опубликованы в базе данных GisAid полногеномные нуклеотидные последовательности 93 новых штаммов ВГА, изолированных от диких и домашних птиц и свиней на территории РФ в 2014-2018гг. Результаты исследования Василия Юрьевича Марченко представляют также определенную **практическую значимость**, поскольку актуальная информация о распространенности высокопатогенных

ВГА среди диких птиц необходима как для профилактики, так и для минимизации ущерба от вспышек гриппа среди домашней птицы. Результаты серологических исследований среди людей, находившихся в контакте с зараженной домашней птицей, могут быть использованы для совершенствования мер профилактики инфекционных заболеваний среди сотрудников птицеводческих хозяйств. Кроме того, в коллекцию возбудителей вирусных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора депонировано 93 штамма ВГА.

Общая характеристика диссертации

Диссертация построена по традиционной схеме и состоит из раздела «Общая характеристика работы», раздела «Обзор литературы», раздела «Материалы и методы», раздела «Результаты собственных исследований», раздела «Обсуждение результатов исследования» и выводов. В работе проанализировано 482 источника, из них 19 на русском языке и 463 на английском. Рукопись изложена на 275 страницах, проиллюстрирована 21 рисунком и 41 таблицей, а также включает два приложения на 6 листах.

Раздел «Общая характеристика работы» по содержанию соответствует введению. Здесь автор характеризует актуальность темы исследования, степень ее разработанности, ставит цель и задачи работы, формулирует положения, выносимые на защиту, описывает новизну, теоретическую и практическую значимость работы, приводит данные об апробации работы, личном вкладе и публикациях по теме исследования. Из рекомендованных ГОСТ 7.0.11-2011 структурных элементов введения отсутствует один – «Методология и методы исследования». Цель работы сформулирована ясно и соответствует обоснованию, поставленные задачи обуславливают достижение цели. Положения, выносимые на защиту, соответствуют выводам, основаны на полученных результатах и не противоречат современным научным знаниям об экологии, эпизоотологии и эпидемиологии вирусных инфекций.

Раздел «Обзор литературы» написан внятно, полноценно характеризует современный уровень научных знаний об экологии и эволюции ВГА птиц, охватывает все необходимые для работы области знания и грамотно сконцентрирован на предмете исследования.

В главе «Материалы и методы» достаточно подробно описаны общий дизайн работы, получение материалов для исследования и использованные методы исследования. Дизайн работы предусматривает как скрининговые исследования больших объемов материала, так и углубленное комплексное изучение штаммов ВГА. В целом, в работе

использованы хорошо разработанные общепринятые методы и подходы, рекомендованные как национальными (Санитарные Правила..., приказы МЗ РФ), так и международными нормативными документами (рекомендации ВОЗ и МЭБ). Описание методов позволяет воспроизвести эксперименты, выбор методов адекватен задачам исследования.

Раздел «**Результаты собственных исследований**» содержит 8 подразделов. Впечатляет количество собранного и исследованного материала – за 6 непрерывных лет наблюдений было изучено почти 50 тысяч образцов биоматериалов от птиц, млекопитающих и людей, обследовано 15397 особей птиц, изолировано и изучено порядка 150 штаммов ВГА. Генетические характеристики ВГА были изучены с максимальной информативностью – для 93 штаммов были расшифрованы полногеномные нуклеотидные последовательности. Изоляцию ВГА проводили по классической методике в 10-дневных эмбрионах кур. Для идентификации субтипа ВГА и анализа филогеографических взаимосвязей были использованы нуклеотидные последовательности генов гемагглютинина и нейраминидазы. Принадлежность к высокпатогенному варианту определялась с помощью как биоинформационных методов (анализ транслированной аминокислотной последовательности сайта расщепления гемагглютинина), так и в биопробах на мышах Balb/c. Для биологической характеристики штаммов использовали комплекс вирусологических и серологических методов включая количественную оценку продукции инфекционного ВГА в эмбрионах кур, РГА, РТГА, определение 50% инфицирующих и летальных доз для лабораторных животных, определение чувствительности к противовирусным средствам.

Раздел хорошо структурирован и, во-первых, содержит хронологическое описание ежегодного мониторинга ВГА, во-вторых – результаты серологического мониторинга среди людей, контактировавших с инфицированными птицами и в-третьих – анализ исследованной выборки диких птиц. Иллюстрации раздела наглядны, табличные данные содержат весь необходимый набор данных.

В главе «**Обсуждение результатов исследования**» Василий Юрьевич анализирует и интерпретирует полученные данные в свете современных знаний по экологии и эпизоотологии ВГА птиц, а также обобщает всю полученную информацию. Раздел написан логично, интерпретации корректны, обобщения вполне уместны. В результате этого анализа автор формулирует соответствующие работе **Выводы**. Формулировки выводов корректны.

Результаты исследования опубликованы в 13 статьях в журналах, включенных в перечень ВАК РФ, и представлены на 12 конференциях международного или всероссийского уровня.

Несмотря на очевидные достоинства исследования, к рукописи и автореферату есть следующие **замечания**:

1. В разделе «Материалы и методы» не описаны методы обработки нуклеотидных последовательностей, филогенетического анализа, не обоснован выбор моделей эволюции при построении филогенетических деревьев. Данная информация необходима, поскольку филогенетический анализ используется автором как для идентификации ВГА, так и для изучения филогеографических взаимосвязей вирусов. По большей части эта информация может быть найдена в тексте или извлечена из подписей к рисункам, однако это затрудняет восприятие собственно результатов диссертации.

2. Не описаны методы статистической обработки результатов и оценки достоверности различий в свойствах штаммов в вирусологических экспериментах.

3. В тексте автор упоминает, что по некоторым видам птиц не удалось получить репрезентативные выборки, однако критерии репрезентативности в разделе материалы и методы не приведены.

4. На рисунках 13 (стр.119), 17 (стр. 145) и 21 (стр. 164) не указаны значения бутстреп-поддержки узлов, поэтому оценить достоверность топологии этих деревьев не представляется возможным.

5. В автореферате диссертации отсутствует структурный элемент «Методология и методы исследования».

6. В рукописи диссертации есть ряд технических погрешностей и неаккуратного употребления терминов. Так, некоторые цитаты в тексте не имеют соответствующих ссылок в списке литературы, например, «S.W. Yoon et al., 2014» (стр. 6), «X. Xu et al. 2019» (стр. 7), «J. Liu et al., 2015» (стр. 62). На стр. 125 автор ссылается на литературные данные о биологической роли мутаций в гене нейраминидазы, однако цитата не приводится. В подписи к рисунку 17 (стр. 145) указано, что «Штаммы, выделенные в России в 2016г выделены черными кругами, ранее выделенный штамм А(Н5N8) выделен черным ромбом». В рисунке кругами выделены все вирусы из РФ, как 2016 так и 2017гг., а черным ромбом выделены два вируса Н5N8. Без обращения к тексту работы понять рисунок 17 сложно. В подписи к рис. 18 указано «Геномные характеристики штамма...» однако на рисунке проиллюстрированы особенности **аминокислотных последовательностей белка нейраминидазы** штаммов ВГА Н5Nх с разными патогенетическими характеристиками. Таким образом, термин «Геномные

характеристики» (то есть, характеристики генетического материала - нуклеотидной последовательности) в данном случае использован некорректно.

Заключение: диссертация МАРЧЕНКО Василия Юрьевича «Мониторинг высокопатогенного вируса гриппа птиц на территории Российской Федерации», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук, является завершенной работой в которой автором получены новые данные о разнообразии и распространении вирусов гриппа А среди диких и домашних птиц, свиней, морских млекопитающих и в человеческой популяции на территории 43 регионов РФ. Кроме того, автором решена научная проблема организации комплексного мониторинга высокопатогенного вируса гриппа А птиц в РФ, имеющая важное научное и социально-экономическое значение. По своей актуальности, научной новизне, методическому уровню, объему выполненных исследований и уровню научных публикаций работа соответствует критериям ВАК РФ, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук согласно п 9. «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013г., а ее автор, МАРЧЕНКО Василий Юрьевич, заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10 – вирусология.

Официальный оппонент:



Хаснатинов Максим Анатольевич

Доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории трансмиссивных инфекций Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ).

Адрес: 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, 16

Телефон: 8 (3952) 207367

e-mail: khasnatinov@yandex.ru

Согласен на включение в аттестационное дело и дальнейшую обработку моих персональных данных.

Подпись Хаснатинова М.А. заверяю:



Хаснатинов М.А.
Камарова О.П.