

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Игнатьева Георгия Михайловича на диссертацию Марченко Василия Юрьевича «Мониторинг высокопатогенного вируса гриппа птиц на территории Российской Федерации», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10 – вирусология.

Актуальность темы.

Вирусы гриппа относятся к семейству Orthomyxoviridae, которое включает четыре рода – А, В, С и D. Для общественного здравоохранения и сельского хозяйства наиболее важным являются вирусы гриппа А (ВГА), поскольку способны инфицировать широкий круг восприимчивых хозяев - в том числе птиц и человека. Разделение ВГА на подтипы основано на антигенных различиях в поверхностных гликопротеинах – гемагглютинине и нейраминидазе. Можно говорить о 18 подтипах гемагглютинина и 11 подтипах нейраминидазы, большинство комбинаций которых сохраняется в популяциях диких птиц, которые являются основным природным резервуаром вируса гриппа А. Миграция птиц на дальние расстояния является одной из причин глобального распространения ВГА. При этом постоянная изменчивость вируса (сопровождаясь появлением уникальных мутаций) приводит к образованию генетических линий, клад и субклад, а также формированию различных вариантов вируса гриппа А. В середине 1990-х годов в Юго-Восточной Азии начали формироваться очаги заболевания птиц, вызванного вирусом гриппа А/Н5N1. Штамм A/goose/Guangdong/1/1996 (H5N1) принято считать первым штаммом высокопатогенного вируса гриппа А/Н5 подтипа . Эволюция этого штамма привела к появлению и распространению различных его вариантов, таких как А/Н5N1, А/Н5N2, А/Н5N3, А/Н5N5, А/Н5N6, А/Н5N8, которые по сей день вызывают вспышки среди диких и домашних птиц, заболевание у человека и других млекопитающих. Общественное здравоохранение безусловно беспокоит инфекционность ВГА птиц для

человека. По состоянию на начало 2021 года ВОЗ зарегистрировано 862 случая инфицирования человека вирусом гриппа А/Н5N1, 455 из которых имели летальный исход. Имеются данные о случаях заражения людей вирусом гриппа А/Н5N6. К моменту написания данной работы известно о 30 лабораторно подтвержденных случаях, 16 из которых имели летальный исход. Помимо этого, на сегодняшний день имеется информация о 1568 случаях инфицирования людей вирусом гриппа А/Н7N9 и о 78 случаях заражения вирусом гриппа А/Н9N2. На территории Российской Федерации вспышки, вызванные высокопатогенным вирусом гриппа птиц, регистрируются с 2005 года, когда на территории Западной Сибири была впервые в России зафиксирована гибель сельскохозяйственной птицы, вызванная вирусом гриппа Н5N1 подтипа. Впоследствии вирус гриппа распространился в Европейскую часть России, вызвав беспрецедентную в то время эпизоотию, в результате которой были уничтожены миллионы голов сельскохозяйственной птицы. Одной из ключевых мер контроля за возбудителем является комплексный мониторинг высокопатогенного вируса гриппа в местах наиболее вероятного контакта человека с основными хозяевами вируса гриппа птиц (ВГП), что позволит не только выявлять циркулирующие среди птиц и животных варианты ВГА, но и выяснить основные биологические свойства вируса, определяющие пандемический потенциал выделенных штаммов.

Таким образом проведение мониторинга за распространением высокопатогенных вариантов вируса гриппа на территории Российской Федерации, изучение эволюционных процессов данных вирусов является актуальным. Что и предопределило цели и задачи проведенного исследования.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций обеспечена анализом имеющейся по теме диссертации литературы, молекулярно-биологических, иммунологических (серологических), статистических методов и репрезентативным числом проведенных исследований.

Все изложенное позволяет считать результаты диссертационного исследования достоверными, а выводы обоснованными, соответствующими поставленным задачам.

Научная новизна.

Научной новизной представленной работы, без сомнения, являются результаты шестилетнего (2013-2018) комплексного мониторинга на территории Российской Федерации высокопатогенного вируса гриппа птиц в ходе которого показана циркуляция различных вариантов ВГА, имеющих важное как эпизоотологическое, так и эпидемиологическое значение. В ходе мониторинга были выявлены высокопатогенные вирусы гриппа птиц подтипов: А/Н5N8 клады 2.3.4.4а и клады 2.3.4.4b, А/Н5N5 клады 2.3.4.4b и А/Н5N6 клады 2.3.4.4h. Была зарегистрирована циркуляция трех различных генетических линий вирусов гриппа подтипа А/Н9N2. Показано распространение указанных подтипов дикими перелетными птицами в Европейскую часть России и Европейские страны, где они вызывали множественные вспышки среди диких и домашних птиц.

Практическая значимость.

В ходе работы создана коллекция из 144 актуальных штаммов вируса гриппа птиц различных субтипов, из которых 93 задепонированы в Государственную коллекцию возбудителей вирусных инфекций и риккетсиозов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Данная коллекция может быть использована в диагностике и сравнительном изучении вновь выделяемых штаммов вируса гриппа. Опыт взаимодействия с региональными учреждениями Роспотребнадзора, а также учреждениями других ведомств в рамках мониторинга вируса гриппа птиц на территории Российской Федерации, полученный при выполнении данной работы, может быть использован для осуществления мониторинга других зоонозных инфекций.

Оценка содержания диссертации, ее завершенности, подтверждение публикаций автора.

Диссертация построена по традиционной схеме, изложена на 275 страницах, состоит 7 разделов, которые включают в себя: общую характеристику работы, научный анализ современного состояния проблемы - обзор литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований, обсуждение результатов исследования, выводы, список литературы, приложения. Работа иллюстрирована 41 таблицей, 21 рисунком. Список литературы включает 482 источника, в том числе 19 на русском языке.

В общей характеристике работы обоснована актуальность темы исследования, определены цель, задачи диссертационной работы, методология проведенного исследования, сформулированы положения, выносимые на защиту, научная новизна и практическая значимость работы, описана апробация результатов исследования, их внедрение.

В обзоре научной литературы представлен анализ современной научной литературы отражающий характеристику вируса гриппа, его распространенность в мире, путей распространения, значимость переносчиков. Автором проведен анализ изменчивости вируса гриппа птиц, взаимосвязи генетических изменений с биологическими свойствами.

Обзор хорошо и доступно представляет анализ имеющейся научной литературы по теме диссертации, в нем присутствует авторская оценка материалов и их связь с результатами, полученным непосредственно самим автором.

Проведенный анализ имеющейся по теме диссертации литературы подтверждает актуальность диссертационной работы.

Раздел материалы и методы написан четко и информативно. Стиль подачи информации свидетельствует о том, что автор полностью владеет методами, которые описывает. В разделе представлена система мониторинга гриппа птиц, транспортировка и хранение биоматериала полученного от птиц,

свиней и людей, методы культивирования вируса в РКЭ, определение инфекционного титра вируса, серологические метода – РТГА и реакция нейтрализации. Описаны использованные молекулярно – биологические методы, и методы работы с животными. Таким образом, автором при проведении исследования использовался широкий набор методов позволивший получить достоверные, информативные и интересные результаты.

Раздел результатов собственных исследований содержит данные о мониторинге вируса гриппа на территории Российской Федерации за 2013-2018 годы. В 2013 году на территории Российской Федерации была начата работа по углубленному мониторингу вируса гриппа птиц с пандемическим потенциалом. Представленная Марченко В.Ю. работа является результатом выполнения приказа Руководителя Роспотребнадзора № 714 от 30.09.2013г. «Об организации мониторинга за циркуляцией гриппа птиц». Представленные данные убедительно свидетельствуют о все большем вовлечении регионов Российской Федерации в мониторинг за циркуляцией гриппа птиц – от 18 регионов в 2013 году до 43 регионов в 2018 году. Кроме увеличения числа регионов, на территории которых проводился мониторинг, увеличивалось число проб и объектов исследования – так, если в начале выполнения работы это были в основном образцы, полученные от «дикой» птицы, то уже к 2015 году в объекты исследования входили образцы, полученные от «дикой» и домашней птицы, свиней, морских млекопитающих и человека. Всего за время выполнения работы исследовано 49398 образцов биоматериалов. Это позволило автору провести достоверное и информативное исследование о распространении вируса гриппа птиц с пандемическим потенциалом. Результатом стало выявление на территории Российской Федерации циркуляции высокопатогенных вариантов вируса гриппа птиц подтипов А/Н5N8 клады 2.3.4.4а, А/Н5N5 клады 2.3.4.4b, А/Н5N2 клады 2.3.4.4b и А/Н5N6 клады 2.3.4.4h. 4. Вирус вируса гриппа птиц подтипа А/Н5N8 клады 2.3.4.4b стал являлся причиной масштабной эпизоотии зарегистрированной в

Европейской части России в 2016-2018 гг. Достаточно кропотливые исследования так же показали, что высокопатогенные вирусы гриппа подтипа А/Н5Nх были занесены на территорию Российской Федерации из стран Юго-Восточной Азии и распространялись с дикими мигрирующими птицами, при этом подтверждено, что основную роль в циркуляции вируса гриппа птиц играют дикие птицы отрядов гусеобразные и ржанкообразные. Полученные при выполнении работы материалы, как и сама работа в целом, очень своевременны и будут востребованы. Заключение диссертационной работы основано на обсуждении результатов изучаемой проблемы в контексте с имеющимися в литературе данными. Выводы, сделанные автором в итоге проведенной работы, полностью основываются на представленном материале.

Хотел бы отметить, что список сокращений и условных обозначений представлен в начале работы – это очень удобно при ознакомлении с работой

Степень достоверности и апробация результатов этой комплексной работы не вызывает сомнений. Все полученные в ходе исследования экспериментальные данные хорошо представлены – по материалам диссертационного исследования опубликовано 25 научных работ, из них 13 научные статьи в журналах, рекомендованных ВАК. Материалы работы были представлены на 10 международных и отечественных научных конференциях. Автореферат и опубликованные работы в полной мере отражают содержание диссертации, поставленные цели и задачи.

Вопросы и замечания. Оценивая представленную работу в целом положительно есть ряд вопросов, которые требуют уточнения. Так, в практической значимости работы отмечается, что в ходе ее выполнения создана коллекция актуальных штаммов вируса гриппа птиц и свиней которая может быть использована в диагностике и сравнительном изучении вновь выделяемых штаммов вируса гриппа. Автору следовало уточнить, какое количество штаммов входит в эту коллекцию, в каком виде эти штаммы представлены в данной коллекции, кто может воспользоваться этой

коллекцией (только ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, только Роспотребнадзор) и каким образом это можно осуществить. Если коллекция – это приложение 2 к диссертации, то представленная в данном приложении информация не достаточна. В разделе материалы и методы, а именно 2.10 «Определение чувствительности вирусов гриппа к противовирусным препаратам» следовало указать, что это исследование проводилось для характеристики выделенных штаммов по чувствительности к действию ингибиторов нейраминидазы. В разделе «3.7 Серологический мониторинг вируса гриппа птиц» автор указывает, что исследовались сыворотки от лиц либо контактировавших с павшей птицей, либо занимающихся промыслом и проживающих в тех регионах, где отмечалась гибель птицы вызванная высокопатогенным вирусом гриппа А(Н5N8). Анализ представленных в данном разделе результатов не позволяет полностью согласиться с шестым выводом, сделанным автором, а именно с тем, что в сыворотках крови выявлены антитела к вирусам гриппа подтипов А/Н5N1 и А/Н5N8. Менее половины сывороток, представленных в таблицах 34-36 имели антитела к указанным штаммам, при этом встречаемость антител была характерна не для всех территориях, где они были собраны. В парных сыворотках, собранных у контактных людей в первый день начали гибели птиц и через 21 день наблюдения не отмечен прирост антител (таблицы 37 и 38). Автору следовало с большей заинтересованностью обсудить полученные данные, которые были бы более убедительны, если были бы исследованы сыворотки от лиц, не имевших контакта с птицей, но собранных в том же регионе – для сравнение. Тем не менее, сделанные замечания не носят принципиального характера и не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы.

Заключение.

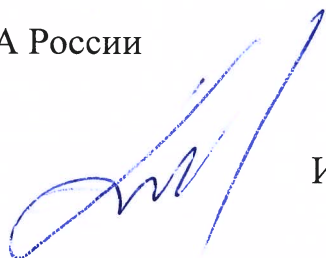
Диссертационная работа Марченко Василия Юрьевича «Мониторинг высокопатогенного вируса гриппа птиц на территории Российской Федерации», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10 – вирусология является

завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основе выполненных автором исследований и проведенного анализа систематизированы научно-методические принципы мониторинга высокопатогенного вируса гриппа птиц; проведено исследование биологического материала на наличие вируса гриппа птиц вирусологическими и молекулярно-генетическими методами; изучены биологические свойства наиболее важных в эпидемиологическом и эпизоотологическом значении вирусов гриппа и определены основные механизмы и пути распространения высокопатогенного вируса гриппа птиц на территории Российской Федерации.

Диссертация и автореферат полностью соответствуют критериям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 с изменениями от 21 апреля 2016 № 335, от 02 августа 2016 № 748, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а сам автор по совокупности представленных им материалов, актуальности темы выполненной диссертации, научно-практической значимости и ценности полученных результатов, личному вкладу достоин присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10 – вирусология.

Официальный оппонент:
доктор медицинских наук, профессор

Руководитель кафедры иммунобиотехнологии
Федерального Государственного Унитарного Предприятия
«Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт
вакцин и сывороток» ФМБА России



Игнатьев Георгий Михайлович

Почтовый адрес: 198320 Санкт-Петербург, Красное Село,

улица Свободы 52

тел: +7 812 660-06-28

e-mail: marburgman@mail.ru

Подпись д.м.н., профессора Г.М. Игнатьева заверяю



Заместитель директора по управлению персоналом

и организационному проектированию

Казакова Елена Владимировна