

ОТЗЫВ

официального оппонента,
доктора биологических наук, доцента Ильичёвой Татьяны Николаевны,
на диссертацию Мурашкиной Татьяны Александровны
«Разнообразие вируса гриппа А в популяциях диких водоплавающих
птиц на западном побережье Среднего Каспия», представленной на
соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности
4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных

1.Актуальность темы диссертационной работы

Вирусы гриппа А относят к одним из самых значимых для человечества возбудителей возникающих инфекционных болезней. В результате ежегодных эпидемий гриппа во всем мире регистрирую 3-5 миллионов случаев тяжелых заболеваний и примерно от 250 000 до 500 000 летальных исходов. Однако наибольшее опасение вызывают возникающие пандемий в связи с большей угрозой нанесения вреда здоровью населения планеты. Исследования в этой области значимы как для углубления фундаментальных представлений о взаимодействии пандемических вирусов гриппа с восприимчивым организмом, так и для прикладных молекулярно-биологических работ.

Идентификация принципиально новых детерминант патогенности, которые позволяют вирусу гриппа А преодолевать межвидовой барьер и адаптироваться к популяции человека с последующим распространением по всей планете высококонтагиозного и смертельного заболевания, является весьма актуальной.

Дикие птицы являются основным природным резервуаром вируса гриппа А, у которые заболевание протекает бессимптомно. Сезонные миграции птиц способствуют широкому распространению вируса, а массовые скопления на местах остановок - появлению реассортантов. Что актуализирует проведение мониторинга гриппа птиц в естественной среде обитания.

Сегодня, по состоянию на начало 2025 года известно о крайне напряженной ситуации по гриппу птиц H5Nx-субтипов по всему миру. Крайне важно это и для Среднего Каспия, региона, где такие вспышки были ранее зарегистрированы.

В своей работе автор затрагивает комплекс актуальных теоретических вопросов современной вирусологии, а именно вероятные пути распространения вирусов, процессы обмена генными сегментами в результате реассортации (пересортировки геномов).

2. Степень обоснованности научных положений

На основе анализа методических подходов, материалов диссертации считаю выводы и положения, выносимые на защиту, обоснованными.

3. Достоверность и новизна выводов и результатов диссертации

Автором впервые проведен мониторинг вируса гриппа А в популяциях диких птиц в ключевых орнитологических территориях западного побережья Среднего Каспия.

Установлены факты совместной циркуляции вируса гриппа птиц и парамиксовируса птиц в популяциях водных и околоводных птиц исследованной территории.

Автором впервые выделены редкие субтипы вируса гриппа птиц в исследованном регионе. Описаны филогенетические паттерны вируса гриппа птиц редких субтипов H7N3, H10N5, H12N5 и обнаружены реассортантные штаммы у диких птиц, содержащие сегменты европейских и среднеазиатских вариантов, а также сегменты высокопатогенных вирусов гриппа.

Вирус гриппа птиц представляет собой один из наиболее известных патогенов, которые оказывают значительное воздействие на здоровье населения и состояние мировой экономики. Его структура стала предметом активных исследований с первой половины 1970-х годов, что стало возможным благодаря современным молекулярно-биологическим методам. За это время хорошо изучены его особенности распространения в природе, вирусологические и биологические свойства, пути передачи и репродукции в клетках хозяина, а также различные методы диагностики. Однако, из-за высокой генетической изменчивости вируса гриппа птиц периодически возникают его новые пандемические варианты, способные вызывать вспышки среди домашней птицы или преодолевать межвидовой барьер.

Мониторинг вируса гриппа птиц позволил автору получить данные о современном разнообразии вариантов, провести изучение биологических свойств новых вариантов вируса гриппа А.

Хорошо проанализированы так называемые «горячие точки» (hotspot) на территории России для мониторинга вируса, где совокупность условий позволяет надеяться на раннее обнаружение новых патогенных вариантов и выявление максимального генетического разнообразия вирусов гриппа. При этом предложена своя точка для долгосрочных наблюдений.

Несомненно, вирус гриппа является одним из наиболее изученных патогенов. Но автор выявил пробелы в знаниях об экологии вируса гриппа птиц и его генетическом разнообразии в Каспийском регионе, и поставил адекватные задачи для своего исследования. Эти факты подчеркивают новизну и актуальность данного исследования, а также очевидную необходимость постоянного наблюдения за вирусом гриппа в популяциях диких птиц Каспийского региона.

4. Ценность для науки и практики проведенной соискателем работы.

Автором сформирована коллекция штаммов и принята на патентное депонирование в основные Государственные коллекции вирусов, которые существуют в РФ, в том числе в коллекцию ГНЦ вирусологии и биотехнологии Вектор Роспотребнадзора и коллекцию вирусов гриппа и ОРЗ (Лаборатория эволюционной изменчивости вирусов гриппа отдела этиологии и эпидемиологии ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России). Коллекция представлена штаммами вируса гриппа H3N8, H1N1, H7N3, H10N5, H12N5, H8N4, H4N6-субтипов. Выделенные штаммы могут быть использованы в диагностических целях, в частности, при разработке тест-систем в качестве контрольных образцов, а также в качестве штаммов-продуцентов для создания вакцин для сельскохозяйственных птиц. Полученные нуклеотидные последовательности опубликованы в Базе данных GISAID и могут быть использованы при дизайне праймеров и создании контрольных препаратов, содержащих генетический материал вируса. Данные о видах-хозяевах вируса, полученные в результате мониторинга позволяют предполагать более вероятные пути распространения вируса гриппа. Разработанную карту-схему ключевых точек исследования вируса гриппа у диких птиц предлагается применять в качестве составной части методических рекомендаций для мониторинга высокопатогенного гриппа птиц в Каспийском регионе.

5. Оценка содержания диссертации, ее завершенности

Автор успешно справился с поставленными задачами и достиг желаемой цели. Материалы исследования оформлены в виде диссертационной работы, которая содержит традиционные разделы (введение, обзор литературы, собственные исследования (описания материалов и методов, результатов), обсуждение. Работа изложена на 192 страницах компьютерного текста и состоит из обзора литературы, описания материалов и методов, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, списка литературы и приложения. Диссертация иллюстрирована 46 рисунками и 11 таблицами. Список литературы включает 234 источника, в том числе 206 работ зарубежных авторов и 9 интернет-источников. Ссылки сделаны на классические работы по гриппу птиц и авторитетные научные коллективы.

В *обзоре литературы* кратко изложены сведения о строении, антигенном разнообразии и механизмах изменчивости вирусов гриппа; описаны пути распространения вируса гриппа в дикой природе, факторы, влияющие на развитие вирусной инфекции; видовое разнообразие диких птиц и характеристика водных угодий западного побережья Среднего Каспия.

Методики исследования описаны подробно и могут быть воспроизведены в случае необходимости.

В разделе «результаты собственных исследований» приведены результаты исследования биологического материала, собранного во время сезонных экспедиций в период 2017-2020 гг.

Описан видовой состав птиц, присутствующих в периоды исследования на исследуемых территориях, с указанием процента инфицированности разных видов птиц вирусом гриппа, представлен список из 43 изолятов, среди которых 18 штаммов ВГА с установленным субтипом.

В отдельных подразделах детально описан генетический и филогенетический анализ трех штаммов, интересных своей типовой принадлежностью (H7N3, H10N5 И H12N5.). Поскольку субтип H7 может обладать повышенным эпизоотическим потенциалом, а субтип H10 и H12 являются редкими, и, вместе с тем, описанными как потенциально зоонозными, наибольшее внимание уделено именно им. Результаты наглядно представлены в таблицах и в виде филогенетических деревьев на соответствующих рисунках.

Обсуждение результатов вынесено в отдельный раздел, где диссертант суммирует полученные данные, сопоставляет их с опубликованными результатами других исследователей и рассуждает о предполагаемых свойствах изученных вирусов на основе анализа известных генетических маркеров патогенности, рецепторной специфичности, филогенетических связей сегментов вируса.

Раздел «Заключение» включает выводы из 7 пунктов и практические предложения.

В **Приложении** приведены копии документов, подтверждающих депонирование в Государственную коллекцию возбудителей вирусных инфекций и риккетсиозов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора и коллекцию вирусов гриппа и ОРЗ, отдел этиологии и эпидемиологии ФГБУ «НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева» Минздрава России.

Автореферат включает все требуемые структурные элементы и в краткой форме отражает основное содержание Диссертации.

6. Подтверждение опубликования основных результатов в научной печати

Результаты работы отражены в 10 публикациях в отечественных и зарубежных изданиях, из которых 2 статьи в рецензируемом научном журнале, рекомендованном ВАК Минобрнауки РФ («Юг России»); 2 статьи – в базах, индексируемых Scopus (Viruses, Microorganisms). Результаты работы неоднократно представлены автором лично в виде устных докладов на различных международных конференциях.

В целом, в диссертационной работе убедительно обоснована актуальность темы, объективно освещена степень разработанности проблемы, четко сформулированы цели и задачи исследования. Работа выполнена на хорошем методическом уровне с использованием

вирусологических, молекулярно-биологических методов и привлечения биоинформационных ресурсов и специальных компьютерных программ для анализа нуклеотидных и аминокислотных последовательностей и выяснения филогенетических связей. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Выводы отражают основные результаты проведенных исследований.

Диссертант принял личное участие в исследовании полевого материала, выделении вирусов, их культивировании и типировании, филогенетическом анализе.

Замечания к диссертационной работе

1. Во Введении на странице 6 написано, что вирусы гриппа субтипа H9 относятся к высокопатогенным вариантам, и дана ссылка на статью Y. Bi et al., 2024. Во-первых, среди вирусов гриппа субтипа H9, выделенных к настоящему времени, нет высокопатогенных штаммов. Во-вторых, указанной ссылки нет в списке использованных источников литературы.

2. В Литературном обзоре не всегда корректно использованы ссылки на источники. Например, на странице 13 описан состав семейства *Orthomyxoviridae* и дана ссылка на статью Osterhaus et al., 2000, хотя вирусы гриппа D впервые выделены в 2011 году. На стр. 29 упоминается пандемия «свиного гриппа» 2009 года и дана ссылка на статью Wu et al., 2004.

3. В диссертации встречаются странные и неудачные выражения, например, «Побочные явления иногда приводят к заражению людей» (стр. 40); «штамм H5N8 HPAI, сочетающий сегменты разных регионов» (стр. 36); «..., представляющих значительную угрозу для различных видов животных, птиц и человека» (стр. 50).

4. По тексту всей диссертации встречаются словосочетания «внутренние гены» и «наружные гены», вместо «гены внутренних белков» и «гены поверхностных белков».

5. Материалы и методы описаны хорошо. Тем не менее, не хватает некоторых важных подробностей. Например, какие референс-сыворотки использованы в работе, кем они получены. Обработка сывороток препаратом RDE описана только в результатах, хотя логичнее было привести методику в Материалах и методах.

6. Результаты, страница 94: описано исследование патогенности вируса A/mallard/Dagestan/1051/2018 (H7N3). «На 21 день после введения взяты сыворотки и определены титры РТГА». Не указано, какие титры в РТГА получены.

7. Список использованных сокращений не полный. Так, в списке нет APMV - авулавирius птиц.

8. В тексте диссертации и автореферата есть опечатки и грамматические ошибки

Отмеченные недочеты не снижают достоинства работы. Диссертация заслуживает положительной оценки.

7. Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

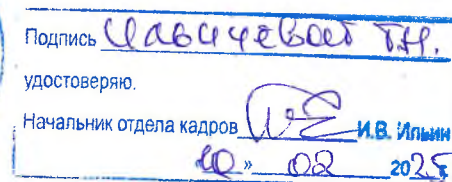
Диссертационная работа Мурашкиной Татьяны Александровны «Разнообразие вируса гриппа в популяциях диких водоплавающих птиц на западном побережье Среднего Каспия», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности по специальности 4.2.3. - Инфекционные болезни и иммунология животных, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой, на основе выполненных автором исследований, описаны основные генетические и экологические особенности вируса гриппа птиц в Каспийском географическом регионе.

Диссертация и автореферат полностью соответствуют критериям пункта 9 «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 кандидата наук, а сама автор, Мурашкина Татьяна Александровна, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.2.3. - Инфекционные болезни и иммунология

животных.

Официальный оппонент

Доцент, ведущий научный сотрудник
отдела зоонозных инфекций
и гриппа ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора
д.б.н. Ильичёва Татьяна Николаевна
тел. +79137949130
e-mail: ilicheva_tn@vector.nsc.ru



Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»» Роспотребнадзора
630559, Новосибирская обл., Новосибирский р-н, р.п. Кольцово www.vector.nsc.ru