



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН НИИ эпидемиологии
и микробиологии имени Пастера
академик РАН, д.м.н., профессор

А.А. Тотолян

«16» февраля 2022 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации Марченко Василия Юрьевича на тему: «Мониторинг высокопатогенного вируса гриппа птиц на территории Российской Федерации», представленной к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10 – вирусология.

Актуальность темы диссертационного исследования и ее связь с планами отраслевой науки

Диссертационная работа Марченко В.Ю. посвящена мониторингу вирусов гриппа птиц среди людей и животных на территории России. Грипп представляет собой одну из наиболее распространенных и опасных вирусных инфекций человека. Ежегодно от гриппа и его осложнений страдают миллионы пациентов, что приводит к огромному экономическому ущербу, а зачастую и к гибели людей. Благодаря низкой точности репликации вирус гриппа способен преодолевать межвидовой барьер между животными и человеком, что приводит к регулярному появлению штаммов – родоначальников пандемий. Сегментарный характер генома вируса гриппа способствует получению антигенно новых штаммов вируса, вызывающих пандемии гриппа. В этой связи проведенная работа является высоко актуальной и имеет бесспорный приоритет.

В работе проведен сбор биологического материала от животных и людей, в котором затем определено наличие вируса гриппа вирусологическими и молекулярно-генетическими методами. Биологические свойства наиболее важных в эпидемиологическом и эпизоотологическом значении вирусов гриппа изучены особенно подробно. Определены основные механизмы и пути распространения высокопатогенного вируса гриппа птиц на территории Российской Федерации, осуществлен серологический мониторинг среди людей, по роду своей деятельности контактирующих с дикой и/или домашней птицей.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций

Актуальность выбранной темы не вызывает сомнений. На основании комплексного мониторинга высокопатогенного вируса гриппа птиц доказана

циркуляция штаммов вируса гриппа А, имеющих важное как эпизоотологическое, так и эпидемиологическое значение и сформирована коллекция наиболее репрезентативных штаммов, часть из которых депонирована в Государственную коллекцию вирусов. Впервые на территории Российской Федерации выявлен высоко патогенный вирус гриппа птиц подтипа А/Н5N8 клады 2.3.4.4а, который впоследствии распространился с дикими перелетными птицами в Европейские страны. Доказана его роль в последующих вспышках инфекции среди диких и домашних птиц. Также впервые был зарегистрирован повторный случай заноса вируса гриппа А/Н5N8 на территорию России. Было показано, что вирус гриппа подтипа А/Н5N8 клады 2.3.4.4b с дикими птицами распространился в Европейскую часть России, где с 2016 по 2018 годы вызвал эпизоотию среди диких и домашних птиц. На территориях Камчатского края и Саратовской области впервые выявлена циркуляция вирусов гриппа А/Н5N5 клады 2.3.4.4b и А/Н5N6 клады 2.3.4.4h соответственно. В отношении вируса гриппа подтипа А/Н9N2 В 2018 году была зарегистрирована циркуляция трех различных генетических линий вирусов.

Доказано, что эпизоотия в Европейской части России, зарегистрированная в 2016-2018 гг., была вызвана высоко патогенным вариантом вируса гриппа птиц подтипа А/Н5N8 клады 2.3.4.4b. Показано, что высоко патогенные вирусы гриппа подтипа А/Н5Nx были занесены на территорию Российской Федерации из стран Юго-Восточной Азии и распространялись с дикими мигрирующими птицами преимущественно отрядов гусеобразные и ржанкообразные.

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

Основные положения диссертации, выносимые на защиту, отражающие научную новизну и практическую значимость работы, хорошо аргументированы. В первую очередь, несомненную и практическую значимость имеет сама стратегия мониторинга за циркулирующими штаммами вируса гриппа. При этом комплексное и всестороннее изучение вирусных изолятов позволяет максимально полно охарактеризовать эти патогены с самых разных точек зрения, как научной, так и практической.

В ходе исследования подтверждены и широко изучены основные закономерности патогенности вирусов гриппа, такие как строение сайта протеолиза гемагглютинина, круг хозяев вируса и его адаптация к тому или иному виду, и др.

Практическая значимость полученных результатов несомненна. Полученные в работе результаты можно будет использовать для дальнейшего совершенствования и внедрения комплексного мониторинга за гриппом в масштабах Российской Федерации. На основании полученных данных можно сделать вывод, что необходимость поиска основных путей решения проблемы распространения вируса гриппа является очевидной.

Содержание диссертации и её оценка

Диссертационная работа имеет традиционное построение, состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения полученных результатов и выводов, содержащего обсуждение полученных данных в сравнении с имеющимися известными фактами по данной проблеме, выводов и практических рекомендаций, списка литературы и приложений. Диссертация изложена на 275 страницах текста, список литературы содержит 482 работы отечественных (19 работ) и зарубежных (463 работы) авторов. Диссертация иллюстрирована 41 таблицей и 21 рисунком.

Первая глава посвящена обзору данных литературы по основной теме работы на основании анализа научных публикаций за период 1961-2020 годов. Автором проанализированы молекулярные маркеры, отвечающие за биологические свойства вирусов гриппа птиц, история изучения и экология этого патогена, освещены аспекты взаимоотношений вирусов гриппа с разными хозяевами. Особое внимание уделено высоко патогенным вирусам гриппа птиц и стратегиям борьбы с ними. Изложение материала помогает глубже познакомиться с проблемой и потому специальных комментариев не требует.

Во второй главе представлена информация об использованных в работе материалах и методах исследования. Из представленной информации видно, что в работе использован широкий спектр методов молекулярно-биологического, вирусологического и иммунологического исследования. Так, для оценки антигенных свойств вирусов использована реакция торможения гемагглютинации, для определения первичной последовательности генов – методы ПЦР и секвенирования, для оценки патогенности вирусов - опыты на животных, для изучения чувствительности вирусов к ингибиторам нейраминидазы – биохимический люминесцентный тест MUNANA. Огромное впечатление производит объем обработанного материала – 49398 образцов. Так, лишь за 2015 г. было собрано и обработано 7930 проб. Важно, что биоматериал был представлен не только образцами от птиц, но также пробами от свиней и морских млекопитающих – морского зайца (*Erignathus barbatus*) и ларги (*Phoca largha*) на территории Камчатского края и Магаданской области.

В 3 главе – результаты - представлены данные об изучении вирусов гриппа птиц в каждый год оцениваемого периода. Приведены результаты исследования инфекционной активности вирусов, их антигенной специфичности, патогенности для птиц и мышей, а также представлены данные секвенирования этих вирусов и их филогенетического анализа.

В главе «Обсуждение результатов» приведена трактовка представленных результатов, описывается, насколько полученные в работе данные соответствуют

данным, полученным ранее в других лабораториях, проанализированы сильные и слабые стороны системы мониторинга за вирусами гриппа птиц.

Выводы и практические рекомендации составлены четко и логично вытекают из материалов диссертации. Автореферат диссертации адекватно отражает её основные положения. Апробацию результатов работы следует признать достаточной: по материалам диссертационной работы опубликовано 25 печатных работ, в том числе 13 статей в изданиях, включенных в перечень ВАК, а также 12 тезисов в сборниках трудов научных конференций. Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на 13 профильных научных конференциях и симпозиумах.

Принципиальных замечаний по существу диссертации нет.

Из недочетов работы следует указать следующие. В ряде случаев в тексте постулируется, что полученные результаты согласуются с литературными данными, однако ссылок на эти источники не приводится. Это касается трактовки функционального значения мутаций в белке НА (стр. 133) и М2 (стр.134).

Перечисленные замечания ни в коей мере не умаляют научной и практической ценности проведенного исследования и касаются лишь технической и оформительской его стороны.

К автору работы имеется несколько вопросов.

1. В положениях, выносимых на защиту указано, что «...выявление в сыворотках крови людей антител к высоко патогенным вирусам подтипов H5N8 и H5N1 может свидетельствовать об инфицировании людей в предшествующий период циркуляции вирусов... ». Проводился ли анализ заболеваемости таких людей за предшествующий период? Обязательно ли, по мнению автора, говорить в данном случае об инфицировании, а не о контакте с вирусным антигеном?

2. При изучении первичных последовательностей гена М2 была выявлена мутация I51V, которая, совместно с мутацией S31N, может обуславливать устойчивость к антивирусным препаратам адамантанового ряда, однако мутация S31N у исследуемых штаммов выявлена не была. Являлись ли эти штаммы ремантадин-устойчивыми?

3. Согласно представленным данным, в НА штамма A/chicken/Kostroma/1718/2017 (H5N2) была выявлена замена Y155H, связанная с устойчивостью к ингибиторам нейраминидазы. Однако в MUNANA-тесте практически все исследованные штаммы оказались чувствительными к этим препаратам. Как автор может объяснить полученное противоречие?

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Полученные в работе результаты можно будет использовать для дальнейшего совершенствования и внедрения комплексного мониторинга за

гриппом в масштабах Российской Федерации. Эффект от внедрения результатов настоящего исследования будет выражаться в повышении эффективности контроля за этой инфекцией и снижением частоты ее неблагоприятных последствий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Марченко Василия Юрьевича на тему: «Мониторинг высокопатогенного вируса гриппа птиц на территории Российской Федерации», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10 – вирусология, представляет собой самостоятельно выполненную и законченную научно-квалификационную работу, по актуальности, объему проведенных исследований, методическому уровню, научной ценности и практической значимости соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 30.07.2014 г. № 723, от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 20.03.2021 г. № 426 и от 11.09.2021 г. № 1539 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор, Марченко Василий Юрьевич, заслуживает присуждения ему ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10 – вирусология.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании Проблемной комиссии по вирусологии ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», протокол № 1/22 от «16» февраля 2022 года.

Ведущий научный сотрудник
лаборатории экспериментальной вирусологии
ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ
эпидемиологии и микробиологии
имени Пастера»,
доктор биологических наук



В.В. Зарубаев

Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

197101, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Мира, дом 14. Телефон +7(812)233-20-92. <https://www.pasteurorg.ru/>

Подпись В.В.Зарубаева заверяю



ученый секретарь Г.Ф.Трифонова