

## УТВЕРЖДАЮ

Директор федерального государственного  
бюджетного учреждения «Национальный  
исследовательский центр эпидемиологии  
и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи»

Министерства здравоохранения  
Российской Федерации

Академик РАН, доктор биологических  
наук, профессор

А.Л. Гинцбург

«15» ноября 2018 г.



федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный  
исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф.  
Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации в качестве  
ведущей организации на диссертационную работу Волынкиной Анны  
Сергеевны «Молекулярно-генетический анализ вариантов вируса Крымской-  
Конго геморрагической лихорадки, циркулирующих в Российской  
Федерации», представленную на соискание ученой степени кандидата  
биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология

Диссертационная работа А. С. Волынкиной построена по  
традиционной схеме. Введение включает необходимые, хорошо  
обоснованные и сформулированные разделы, отражающие актуальность  
проблемы, уровень разработанности темы, цели и задачи исследований,  
научную новизну, теоретическую и практическую значимость полученных  
результатов, степень их достоверности и апробации, вопросы методологии,  
положения, выносимые на защиту, личный вклад соискателя.

Обзор литературы (глава 1), основанный на анализе 186 источников  
(28 отечественных и 158 зарубежных авторов), содержит всестороннюю  
информацию по характеристике вируса ККГЛ, таксономии, географическом

распространении, заболеваемости, экологических аспектах, строении вириона, организации генома, генетическом разнообразии штаммов, механизмах эволюции и методах молекулярно-генетического изучения вируса ККГЛ. Содержание обзора свидетельствует о высокой профессиональной эрудиции автора диссертации. На основании данных анализа литературы А.С. Волынкина формулирует следующие актуальные направления собственных исследований: получение новых сведений о генетическом разнообразии вируса ККГЛ в южном регионе России; выявление преобладающих генетических вариантов и особенностей их территориального распространения; секвенирование полноразмерных последовательностей S, M и L сегментов генома российских штаммов; оценка динамики эволюционных изменений популяций вируса ККГЛ на эндемичных территориях страны.

Глава 2 содержит сведения о методах, использованных для молекулярно-генетического анализа в общей сложности 607 РНК-позитивных образцов, включающих 501 пробу сывороток крови больных ККГЛ и 106 проб суспензий иксодовых клещей 6 видов, относящихся к родам *Hyalomma*, *Rhipicephalus*, *Haemaphysalis* и *Dermacentor*, собранных на территориях 9 субъектов Южного и Северо-Кавказского федеральных округов за период с 2007 по 2017 годы. Впечатляет объем этих уникальных материалов, многообразие использованных методов и тщательность анализа результатов.

Главные задачи исследований А.С. Волынкиной, представленных в главе 3 «Изучение генетического разнообразия вируса ККГЛ в России» заключались в генетической идентификации изолятов РНК вируса, циркулирующих в Южном регионе России, выявлении преобладающих генетических вариантов и закономерностей территориального распределения. В этой связи был создан банк образцов клинических и полевых проб, содержащих РНК вируса ККГЛ. В результате выполнения этого раздела А.С. Волынкиной получены новые данные о генетическом

разнообразии вируса ККГЛ в России. Впервые на молекулярном уровне охарактеризованы РНК-изоляты, циркулирующие в Калмыкии, Крыму, Дагестане и Краснодарском крае. Впервые обнаружены РНК-изоляты нового генотипа Европа-3, генотипа Африка-3 и генетической подгруппы «Крым», а также реассортантные варианты вируса ККГЛ генотипа Европа-1. Определены ареалы распространения вариантов вируса в эндемичных регионах страны. Установлено, что доля реассортантных вариантов составляет 9 %, доля изолятов генотипа Европа-3 – 1 %.

Секвенированы полноразмерные нуклеотидные последовательности S, M и L сегментов РНК-изолятов генотипа Европа-1, полноразмерные последовательности S сегмента трех изолятов генотипа Европа-3 и одного изолята генотипа Африка-3. На основании сравнительного анализа нуклеотидной и выведенной аминокислотной последовательности S сегмента выявлены специфические аминокислотные замены у штаммов других генетических групп.

Представляет значительный теоретический и практический интерес глава 4 «Сравнительный геномный анализ изолятов вируса ККГЛ, относящийся к основным генетическим вариантам вируса, циркулирующего на территории РФ». Глава включает разделы по реконструкции пространственной эволюционной истории генотипов Европа-1 и Европа-3. Число публикаций по данной проблеме весьма ограничено (можно упомянуть статьи G. Zehender et al., 2005, А.Н. Лукашева и соавт., 2005). Поэтому результаты исследований А.С. Волынкиной заслуживают большего внимания, несмотря на гипотетический характер некоторых выводов автора. Однако гипотезы, основанные на концепциях филогеографии и математических расчетах, имеют большое значение для последующего развития мало разработанного научного направления. Автор диссертации справедливо проявляет определенную осторожность в отношении интерпретации полученных результатов. Например, в отношении модели пространственно-временного распространения генотипа Европа-3 считает,

что в процессе познания этого варианта вируса ККГЛ необходимо пополнение сведений о современном ареале распространения гомологичных штаммов, а также секвенирование полноразмерных нуклеотидных последовательностей S, M и L сегментов геномов изолятов генотипа Европа-3 из различных регионов. Кроме того, текст главы 4 сопровождается такими вполне корректными оборотами как «наиболее вероятно», «наиболее вероятные модели», «можно предположить», «прослеживается тенденция» и др.

*Теоретическая и практическая значимость диссертационных исследований*

В результате проведения работы установлена генетическая гетерогенность популяции и закономерности географического распределения вариантов вируса ККГЛ в Южном регионе Европейской части России. Идентифицированы новые варианты вируса ККГЛ генотипа Европа-1. Выполнена реконструкция процесса эволюции и пространственно-временного распространения штаммов вируса ККГЛ генотипа Европа-3, генотипа Европа-1 и его генетического варианта «Крым». Получены новые данные о генетической гетерогенности вируса ККГЛ в России и других эндемичных странах.

Определены полноразмерные нуклеотидные последовательности генома 20 изолятов вируса ККГЛ, относящихся к четырем генетическим подгруппам генотипа Европа-1, выявленным на территории России (номера доступа в GenBank: KR814837-KR814893, KU161582-KU161587); полноразмерные нуклеотидные последовательности фрагментов S сегмента трех изолятов генотипа Европа-3 и одного изолята генотипа Африка-3, (номера доступа в GenBank: KR814833-KR814836); нуклеотидные последовательности фрагментов S, M и L сегментов генома 368 РНК-изолятов вируса ККГЛ (номера доступа в GenBank: KR814895-KR818338, KR821171-KR821604, KR821607-KR822021, KU161576-KU161581).



Создана и зарегистрирована в ФГУ ФИПС база данных «Результаты генотипирования вируса ККГЛ», свидетельство об официальной регистрации базы данных №2017620626 от 07 июня 2017 г.

Разработаны методические рекомендации «Генетическое типирование вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки».

Результаты диссертации могут использоваться при планировании и проведении эколого-эпидемиологического мониторинга очагов ККГЛ, дальнейшего изучения вопросов таксономии, классификации, генетической изменчивости вируса ККГЛ и возможного значения этих процессов в трансформации патогенных свойств и вирулентности штаммов; для определения географической принадлежности и происхождения.

#### Заключение

Диссертационная работа Волынкиной Анны Сергеевны «Молекулярно-генетический анализ вариантов вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки, циркулирующих в Российской Федерации», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология, является законченной научно-квалификационной работой, и представляет собой крупный вклад в актуальную проблему изучения Крымской-Конго геморрагической лихорадки и, в общем плане, в проблему арбовирусов, относящихся к семейству *Bunyaviridae*. Исследование носит оригинальный характер, выполнено на высоком современном методическом уровне, имеет важное научное и практическое значение и открывает новые перспективы научных изысканий. В выводах в достаточной степени отражено основное содержание работы.

По объему и методическому уровню выполненных исследований, научной новизне, практической значимости полученных результатов, а также полноте опубликования данных в рецензируемых научных изданиях, работа полностью соответствует п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от

24.09.2013 г. №842, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 вирусология.

Отзыв обсужден на расширенной конференции Отдела арбовирусов и экспериментального производства ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (протокол №\_10\_\_ от \_8\_ ноября 2018 г.)

Заведующий отделом арбовирусов и  
экспериментального производства и лаборатории  
биологии и индикации арбовирусов федерального  
государственного бюджетного учреждения  
«Национальный исследовательский центр  
эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
доктор биологических наук,  
профессор  
Александр Михайлович Бутенко



09.11.2018

123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18

Тел. 8 499 190 30 53

E-mail: arboelisa@mail.ru

