ОТЗЫВ

на диссертационную работу

БУРАШЕВА ЕРБОЛА ДОСАНОВИЧА

«Изучение биологических свойств актуальных штаммов вируса гриппа лошадей, выделенных на территории Республики Казахстан в 2012 году», представленную на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности 6D060700 - Биология

1. Актуальность темы исследования и ее связь с общенаучными и общегосударственными программами

Грипп лошадей контагиозное заболевание, способное поразить до 100 % популяции животных. Возбудитель данного заболевания считается одним из важных инфекционных заболеваний лошадей, поражающих преимущественно респираторный тракт. Впервые гриппоподобное заболевание лошадей было описано в 5 веке до нашей эры и с тех пор периодически наносит значительный ущерб поголовью лошадей и экономике различных стран. Так, вспышка этого заболевания в 1872 году полностью заблокировала грузоперевозки в основных портах того времени Северной Америки. Вспышка гриппа лошадей в Монголии в 20 веке привела к заражению 30% всего поголовья лошадей этой страны. Эпизоотии этой инфекции были ограничены с развитием вакцинопрофилактики, но спорадические вспышки случаются регулярно и не регистрируются только в Антарктиде. Анализ эволюционных изменений вируса указывает на то, что эволюция вируса идет несколькими параллельными путями, приводящими к ошибкам вакцинации. Так линия вируса, выделенного в 21 веке в Японии, не совпадает с вирусами, выделенными в других азиатских странах. Проблема усугубляется рядом причин, одной из которых является возможность распространения вируса по вакцинированному поголовью. Кроме того, вирус гриппа лошадей способен передаваться другим млекопитающим (ослам и собакам), а также отмечены случаи сероконверсии к этому вирусу у человека. Все это делает работу Бурашева Е.Д. «Изучение биологических свойств актуальных штаммов вируса гриппа лошадей, выделенных на территории Республики Казахстан в 2012 году» весьма актуальной и своевременной. Диссертационная работа была выполнена в рамках Республиканской научно-технической программы «О.0534 Грипп лошадей:

эпизоотологический мониторинг, разработка средств специфической профилактики и диагностики на 2010-2012 годы».

2. Научные результаты и их обоснованность

Целью представленной диссертации является изучение биологических и молекулярно-генетических свойств штаммов вируса гриппа лошадей, выделенных на территории Республики Казахстан. Поставленная цель обоснована в обзоре литературы и отражает ее актуальность.

Результаты исследований обоснованы, проанализированы и обобщены.

Проведен скрининг проб из различных областей Казахстана на наличие вируса гриппа лошадей. Показано, что в период эпизоотических вспышек до 30% исследуемых материалов положительны на наличие антигена вируса гриппа лошадей H3N8.

Проведены исследования по подбору оптимальной системы культивирования выделенных изолятов. Подобраны условия культивирования, позволяющие получить вируссодержащий материал с высокими показателями инфекционной активности и биологическими свойствами.

Выделены препараты нуклеиновых кислот, амплифицированы фрагменты генома и проведено полное секвенирование исследуемых вирусов.

Показано, что в эволюционном плане исследуемые вирусы принадлежат к клайду *American*, субклайду *Florida 2*.

Разработанная диагностическая система, вкючающая ПЦР и олигонуклеотидный микрочип позволяет идентифицировать и субтипировать вирусы гриппа A/H3N8.

*Поставленная цель и задачи полностью решены, научно обоснованы; п*олученные соискателем научные результаты являются адекватными и соответствуют цели и задачам диссертационной работы.

3. Степень обоснованности и достоверности каждого научного результата, выводов и заключения соискателя, сформулированных в диссертации

Каждый из научных результатов исследования получен в соответствии с целью и задачами диссертации, является обоснованным, в совокупности диссертация представляет собой цельную, законченную работу.

В выводе 1 обобщены результаты скрининга большого количества носоглоточных смывов лошадей из различных областей Казахстана и их сывороток Выделено четыре штамма ВГЛ: A*/equine/Baizak/09/2012, A/equine/Kostanai/09/2012, A/equine/Matybulak/ 10/2012* и *A/equine/LKZ/09/2012*.

В выводе 2 обобщены результаты сравнительного исследования репродукции выделенных штаммов вирусов гриппа на различных моделях культивирования. Определены оптимальные модели культивирования, позволяющие получить вирус с высокими биологическими и инфекционными свойствами.

В выводе 3 описаны результаты исследований морфометрических и физических характеристик штаммов вируса гриппа *A/equine/Baizak/09/2012, A/equine/Kostanai/09/2012, A/equine/Matybulak/10/2012* (H3N8).

В выводе 4 обобщены результаты полногеномного секвенирования штаммов вируса гриппа лошадей. Указаны номера доступа для штамма *A/equine/LKZ/09/2012*: MH173319, MH173320, MH173321, KP202378, KP202382, MH173322, KP202374, KP202386, для штамма *A/equine/Kostanai/09/2012*: MH173056, MH173057, MH173058, KP202380, KP202384, MH173059, KP202376 и KP202388.

В выводе 5 представлены результаты исследований сравнительного филогенетического анализа выделенных штаммов вируса гриппа Установлена сублиния клайда вирусов, относящихся к азиатским штаммам различных годов выделения. Показано, что появление специфического кластера вирусов на филогенетическом древе обусловлено мутациями аминокислот гемагглютинина в положении 387 и 394.

В выводе 6 представлены итоговые результаты по возможному использованию практических результатов диссертации с использованием биологического микрочипа и методом ОТ-ПЦР. Разработан оптимальный дизайн расположения зондов на платформе. Подготовлена экспериментальная серия микрочипов.

Все результаты исследований опубликованы в открытой печати, что свидетельствует об их достоверности и обоснованности.

4. Степень новизны каждого научного результата вывода соискателя, сформулированных в диссертации

В диссертационной работе соискателя представлены результаты, обладающие высокой степенью новизны:

Впервые проведено полногеномное секвенирование штаммов ВГЛ *A/equine/Baizak/09/2012, A/equine/Kostanai/09/2012* и генов (HA, NA, M, NP, NS) штаммов *A/equine/Matybulak/10/2012, A/equine/LKZ/09/2012.*

Впервые установлена филогенетическая принадлежность эпизоотических штаммов ВГЛ *A/equine/Baizak/09/2012, A/equine/Kostanai/09/2012, A/equine/Matybulak/10/2012* и *A/equine/LKZ/09/2012* к клайду *American*, субклайду *Florida 2*, с антигенной формулой H3N8.

Впервые выявлены консервативные участки в матриксном (M) гене у штаммов ВГЛ, которые были использованы при разработке и дизайне олигонуклеотидных микрочипов для диагностики и субтипирования вируса гриппа A/H3N8.

Степень новизны исследований подтверждена наличием 4 патентов Республики Казахстан.

5. Практическая и теоретическая и значимость научных результатов

Диссертационная работа Бурашева Е.Д.. выполнена на хорошем методологическом и научном уровне, представляет собой законченное исследование от скрининга биологических образцов, выделения и культивирования новых штаммов вируса гриппа, секвенирования и поиска консервативных участков внутренних белков вируса гриппа с возможностью использовать полученные данные для дальнейших разработок методов современной диагностики различных подтипов вируса гриппа лошадей.

6. Замечания, предложения по диссертации

1. Наличие небольшого количества опечаток в работе не снижающих хорошего впечатления о работе.

2. Некоторая перегруженность справочной литературы 1972-1976 годов опубликования и ссылки на себя самого;

3. В обсуждении нет раздела, показывающего возможность использования Ваших результатов для изучения трансмиссивной способности вирусов

Сделанные замечания не уменьшают ценность данной работы и не влияют на основные положения, выносимые на защиту.

7. Соответствие содержания диссертации в рамках требований Правил присуждения ученых степеней

Диссертация выполнена соискателем на достаточно высоком научно-исследовательском уровне. Диссертационная работа изложена на 115 страницах, иллюстрирована 29 рисунками и 34 таблицами, список использованных источников для написания работы состоит из 180 наименований. Основные результаты диссертации опубликованы в 9 печатных работах, из которых 2 статьи в зарубежных рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science или Scopus с ненулевым импакт-фактором; 3 статьи в республиканских журналах из перечня Комитета по контролю в сфере образования и науки РК; 1 статья в журнале, входящем в перечень РИНЦ; 3 тезиса в материалах международных конференций и 4 патента Республики Казахстан.

Выполненная диссертационная работа Бурашева Е.Д. полностью соответствует требованиям «Правил присуждения ученых степеней», предъявляемым к диссертационным работам. Бурашев Ербол Досанович заслуживает присуждение степени доктора философии (PhD) по специальности 6D060700-Биология.

Официальный рецензент:
Заведующий лабораторией противовирусной защиты ТОО «Научно производственный центр микробиологии и вирусологии», д.б.н, проф. А.П.Богоявленский

18.02.2020 г.