

FAKULTI PERUBATAN VETERINAR
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

6th November 2024

Review of PhD thesis of Ms Baikara Barshagul Tenyzbaykyzy: Genotyping of avian influenza strains wide spread in the territory of the Republic of Kazakhstan submitted to the defence for degree of Doctor of Philosophy (PhD) in specialty 8D05105-Biotechnology.

Dear Sir/Madam,

I am writing to provide my official review of Ms Baikara Barshagul Tenyzbaykyzy's doctoral thesis.

Avian influenza (AI) is a highly contagious viral disease affecting both domestic and wild birds. Although less frequently, avian influenza viruses have also been isolated from mammalian species, including humans. Currently, 19 hemagglutinin and 11 neuraminidase viral subtypes are known, occurring in various combinations. Molecular changes in the RNA genome occur through two main mechanisms: point mutations and reassortment of RNA segments. While the disease occurs worldwide, certain subtypes show regional prevalence patterns.

In recent years, the epidemiology of highly pathogenic avian influenza (HPAI) virus has evolved, becoming endemic in domestic birds across multiple countries and causing major outbreaks in both domestic and wild bird populations worldwide. Several AIV subtypes, notably H5, H7, and H9, have crossed the interspecies barrier, infecting humans and other mammals. Historically, HPAI viruses have not been transmitted back into wild aquatic birds, and these birds have not played a significant role in spreading HPAI to poultry or other domestic birds.

In Kazakhstan, the first HPAI outbreak was reported in 2005 at a poultry farm in the Pavlodar region. Subsequently, in 2020, an AI outbreak caused mass mortality in poultry across several farms in seven regions. Recent AI outbreaks reported worldwide were found to be reassortants of closely related influenza viruses of Iraqi origin. The current epizootic situation among poultry in many countries, including the Republic of Kazakhstan, necessitates monitoring measures to prevent the emergence and spread of avian influenza among agricultural birds. Therefore, large-scale avian Influenza outbreaks require timely and effective preventive measures.

Systematic molecular biological screening of samples collected from wild birds during spring-summer migration and from poultry kept in private farms near bird migration routes across various regions of Kazakhstan significantly expands our knowledge of AIV distribution patterns and ongoing evolution. This research can also contribute to the selection of relevant vaccine

strains and minimize the role of birds as sources of new, potentially dangerous variants of avian influenza.

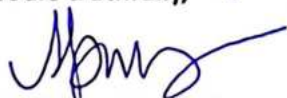
The main aim of this doctoral dissertation is to isolate and characterize Type A avian influenza virus strains from wild and domestic birds in the Republic of Kazakhstan.

Total of 3383 biological samples (2020-2022) from wild and domestic birds were used in the study. Methods used includes standard virological methods, serological (enzyme-linked immunosorbent assay, GGA, HAI, etc.), molecular biology methods (polymerase chain reaction, sequencing) and bioinformatics analysis methods (Clustal W algorithm, "neighbor joining" method, Tamura-Nei model, BLASTn analysis). Results revealed that 100 samples were positive for H5 antibodies. Four AIV strains were isolated from chicken embryos namely the (1) A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020 (H5N8), (2) A/Mute swan/Mangystau/9421/2022 (H5N1), (3) A/Caspian tern/Atyrau/9184/2022 (H5N1) and (4) A/Chicken/Almaty/220/2020 (H9N2) from wild and domestic birds. The three H5 isolates are closely related strains, while the H9N2 strain is not related to the previously isolated Kazakhstani H9N2 viruses isolated from wild birds. Moreover, the H9N2 showed a deletion of the TEI amino acids which resemble the highly pathogenic marker of the A/Duck/HongKong/Y280/97 strain isolated during the epidemic of poultry in China. In addition to that, the HA gene of H5N8 and H5N1 contains motif indicating of highly pathogenic AIV variants detected in European countries. Complete genome sequences of selected strains were published in the international GenBank and GISAID databases.

Furthermore, 2 patents were generated for utility models (1) No. 7497 "Method for developing a real-time PCR test system for detecting and differentiating avian influenza virus" and (2) No. 8586 "Avian influenza virus strain clade 2.3.4.4b A/chegrava/Atyrau/9184/2022 (H5N1), used for the preparation of diagnostic drugs and vaccines".

Ms Tenyzybaykyzy has published 2 articles in Q2 and Q3 journals and presented 2 scientific papers at an International and scientific Conferences. Kazakhstan local AIV isolates has been molecularly characterized and phylogenetic analysis showed their significant findings. The methods of testing AIV has been patented and the selected AIV whole genome sequences has been submitted to public domain. The thesis has the scientific merit and clearly meet the requirement of the thesis for a PhD degree in the speciality 8D05105-Biotechnology.

Yours truthfully,



Dr Siti Suri Arshad

Teaching Fellow

Department of Veterinary Pathology and Microbiology

Faculty of Veterinary Medicine

Universiti Putra Malaysia

DR SITI SURI ARSHAD
Felo Pengajar
Jab Patologi & Mikrobiologi Veterinar
Fakulti Perubatan Veterinar
Universiti Putra Malaysia
43400 UPM Serdang, Selangor

ПУТРА МАЛАЙЗИЯ УНИВЕРСИТЕТИ

ВЕТЕРИНАРИЯЛЫҚ МЕДИЦИНА ФАКУЛЬТЕТИ

6 қараша 2024 ж.

8D05105-Биотехнология мамандығы бойынша философия докторы (PhD) ғылыми дәрежесін алу үшін қорғауға ұсынылған «Қазақстан Республикасының аумағында таралған құс тұмауы штаммдарын генотиптеу» атты Байқара Баршагүл Теңізбайқызы ханымның кандидаттық диссертациясына сын пікір.

Құрметті мырза/ханым,

Мен Байқара Баршагүл Теңізбайқызы ханымның докторлық диссертациясына ресми сын пікір беру үшін жазудамын.

Құс тұмауы (ҚТ) — үй құстарына да, жабайы құстарға да әсер ететін өте жұқпалы вирустық ауру. Құс тұмауының вирустары сирек болса да, сүтқоректілерден, соның ішінде адамдардан да табылады. Қазіргі уақытта әртүрлі комбинацияларда кездесетін 19 гемагглютинин және 11 нейраминидаза вирусының ішкі түрлері белгілі. РНҚ геномындағы молекулалық өзгерістер екі негізгі механизм арқылы жүреді: нүктелік мутациялар және РНҚ сегменттерінің қайта ассортациясы. Ауру бүкіл әлемде кездессе де, кейбір ішкі типтармақтардың таралудың аймақтық заңдылықтарын көрсетеді.

Соңғы жылдары эпидемиология жоғары патогенді құс тұмауы вирусы (ЖПҚТ) көптеген елдерде үй құстарына эндемикалық болып, бүкіл әлемде үй құстары мен жабайы құстар арасында кең таралу тудырды. Құс тұмауы вирусының бірнеше ішкі түрлері, атап айтқанда H5, H7 және H9, адамдар мен басқа сүтқоректілерді жұқтыру арқылы тұраралық тосқауылды бұзды. Тарихи тұрғыдан алғанда, ЖПҚТ вирустары жабайы суда жүзетін құстарға қайта берілмеді және бұл құстар ЖПҚТ-ын үй құстарына немесе басқа үй құстарына таратуда маңызды рөл атқармады.

Қазақстанда ЖПҚТ-ның алғашқы кең таралуы 2005 жылы Павлодар облысындағы құс фермасында тіркелді. Кейіннен, 2020 жылы ҚТ-ның кең таралуы жеті аймақтағы бірнеше фермаларда құстардың жаппай қырылуына алып келді. Жақында бүкіл әлемде тіркелген ҚТ-ның таралуы Ирактан шыққан тұмау вирустарының реассортанттары екені анықталды. Көптеген елдерде, соның ішінде Қазақстан Республикасында құстар арасында қалыптасқан эпизоотиялық жағдай ауыл шаруашылығы құстары арасында құс тұмауының пайда болуы мен таралуын бақылау жөніндегі іс-шараларды жүргізу қажеттігін негіздейді. Сондықтан құс тұмауының ауқымды өршуі уақтылы және тиімді алдын алу шараларын қажет етеді. Көктемгі-жазғы көші-қон кезінде жабайы құстардан және Қазақстанның әртүрлі аймақтарындағы құстардың көші-қон маршруттарына жақын жеке шаруашылықтарда ұсталатын үй құстарынан жиналған үлгілердің жүйелі молекулалық-биологиялық скринингі құс тұмауы вирусының таралу заңдылықтары мен ағымдағы эволюциясы туралы білімімізді айтарлықтай кеңейтеді. Бұл зерттеу сонымен қатар вакциналардың тиісті штаммдарын таңдауға және құс тұмауының жаңа, ықтимал қауіпті нұсқаларының көзі ретінде құстардың рөлін азайтуға ықпал етуі мүмкін.

Путра Малайзия университеті

43400 ПМУ Серданг, Селангор Дарул Эхсан, Малайзия.
603-9769 3800/3896

Ветеринарлық медицина факультеті,

603-9769 1971

<http://www.vet.upm.edu.my>

Осы докторлық диссертацияның негізгі мақсаты Қазақстан Республикасының жабайы және үй құстарынан А типті құс тұмауы вирусының штаммдарын бөліп алу және сипаттау болып табылады.

Зерттеу барысында жабайы және үй құстарының 3383 биологиялық үлгілері (2020-2022) қолданылды. Қолданылған әдістерге стандартты вирусологиялық әдістер, серологиялық (иммуноферменттік талдау, ГТР, ГАТР және т.б.), молекулалық биология әдістері (полимеразды тізбекті реакция, секвендеу) және биоинформатикалық талдау әдістері (Clustal W алгоритмі, «жақын байланыстыру» әдісі, Тамура-Ней моделі, BLASTn талдауы) жатады. Нәтижелер 100 үлгінің H5 антиденелеріне оң екенін көрсетті. Құс тұмауы вирусының төрт штаммы тауық эмбриондарынан оқшауланған, атап айтқанда: (1) A/Chicken/North Kazakhstan/184/2020 (H5N8), (2) A/Mute swan/Mangystau/9421/2022 (H5N1), (3) A/Caspian tern/Atyrau/9184/2022 (H5N1), (4) A/Chicken/Almaty/220/2020 (H9N2) жабайы және үй құстарынан. H5 үш изоляты бір-бірімен тығыз байланысты штаммдар болып табылады, ал H9N2 штаммы жабайы құстардан оқшауланған бұрын оқшауланған қазақстандық H9N2 вирустарымен байланысты емес. Сонымен қатар, H9N2-де Қытайдағы құс эпидемиясы кезінде оқшауланған A/Duck/HongKong/Y280/97 штаммының жоғары патогенді маркеріне ұқсайтын TEI аминқышқылдарының жойылуы анықталды. Сонымен қатар, H5N8 және H5N1 вирустарының HA генінде Еуропа елдерінде кездесетін тұмау вирусының жоғары патогенді нұсқаларын көрсететін дәлел бар. Таңдалған штаммдардың толық геномдық тізбегі GenBank және GISAID халықаралық дерекқорларында жарияланды.

Сонымен қатар, пайдалы модельдерге 2 патент алынды (1) № 7497 «Құс тұмауы вирусын анықтау және саралау үшін нақты уақыттағы ПТР-тест жүйесін әзірлеу тәсілі» және (2) № 8586 «Диагностикалық препараттар мен вакциналарды дайындау үшін қолданылатын 2.3.4.4b A/Caspian tern/Atyrau/9184/2022 (H5N1) тармағының құс тұмауы вирусының штаммы».

Теңізбайқызы ханым Q2 және Q3 журналдарында 2 мақала жариялап, халықаралық және ғылыми конференцияларда 2 ғылыми баяндама ұсынды. Қазақстандық жергілікті ҚТВ изоляттары молекулалық сипатталды, ал филогенетикалық талдау олардың маңызды нәтижелерін көрсетті. ҚТВ тестілеу әдістері патенттелді және ҚТВ геномының таңдалған тізбектері көпшілікке берілді. Диссертацияның ғылыми маңызы бар және 8D05105-Биотехнология мамандығы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін диссертацияға қойылатын талаптарға толық сәйкес келеді.

Құрметпен, /қолы/

Доктор Сити Сури Аршад

Оқытушы

Ветеринариялық патология және микробиология кафедрасы

Ветеринария факультеті

Путра Малайзия Университеті

Мөр: Доктор Сити СУРИ АРШАД

Оқытушы

Ветеринариялық патология және микробиология

Ветеринария факультеті

Путра Малайзия Университеті

43400 ПМУ Серданг, Селенгор