

О Т З Ы В

официального оппонента на диссертационную работу Сафоновой Марины Викторовны «Оценка эпидемического потенциала вируса Кемерово (р. *Orbivirus*, сем. *Reoviridae*) на основе анализа его генетического разнообразия», представленную на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальностям 03.02.02 – вирусология и 14.02.02 – эпидемиология

Актуальность темы диссертационного исследования

Природные очаги инфекционных болезней, возбудители которых передаются клещами, широко распространены в мире, в том числе и на территории Российской Федерации. В настоящее время, согласно формам статистической отчётности по инфекционной заболеваемости, регистрируется семь наиболее актуальных нозологий, в то же время клинико-эпидемиологические данные о случаях заболеваний с лихорадкой невыясненной этиологии свидетельствует о неблагополучии на территории страны по другим, нерегистрируемым формам инфекций, возбудители которых передаются клещами. Вклад в структуру инфекционной патологии ряда патогенных агентов остаётся невыясненным.

Одним из таких агентов, эпидемиологическое значение которого изучено недостаточно, является представитель рода *Orbivirus* – вирус Кемерово, впервые выделенный в 1962 г. в эндемичном очаге клещевого энцефалита в Кемеровской области. К сожалению, после периода активного изучения вирус Кемерово попал в разряд «забытых инфекций с неизвестным эпидемическим потенциалом». В настоящее время учёт заболеваемости лихорадкой Кемерово не ведётся, специфическая диагностика не осуществляется, случаи заболевания не регистрируются.

Несомненно, оценка эпидемического потенциала вируса Кемерово и генетическое изучение этого вируса актуальны, и диссертационная работа Сафоновой Марины Викторовны своевременна.

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

О достоверности результатов работы свидетельствует достаточный объём материала с применением современных методов исследования, полностью соответствующих поставленным задачам. Результаты диссертационной работы получены с использованием современного поверенного оборудования и методов статистической обработки. Выводы диссертации отражают суть выполненной работы, основаны на собственных результатах и вполне аргументированы. Таким образом, качество представленного диссертационного материала позволяет дать надёжную оценку научной обоснованности основных положений диссертации и сделать заключение о достоверности представленных автором данных.

Научная новизна

Автором получены полногеномные последовательности девяти штаммов вируса Кемерово, в том числе впервые – для штамма, изолированного от человека. Впервые оценено внутривидовое генетическое разнообразие вируса Кемерово и механизмы его формирования. Впервые на основании анализа полногеномных последовательностей рассмотрены видовые взаимоотношения представителей группы Грейт-Айленд на генном уровне. Обобщена и дополнена информация о циркуляции вируса Кемерово на территории Российской Федерации. Разработана система оценки эпидемического потенциала природно-очаговых инфекций вирусной этиологии, позволяющая оценить степень эпидемиологической опасности возбудителя в количественном выражении с оценкой ведущего фактора эпидемиологического риска.

Теоретическая и практическая значимость результатов заключается в разработке количественной системы оценки эпидемического потенциала возбудителей природно-очаговых инфекций, которая может применяться как для уже известных возбудителей, так и для оценки рисков заражения населения, возбудителями новых и возвращающихся инфекций. Депонированы в международную базу GenBank NCBI 9 полногеномных последовательностей штаммов вируса Кемерово и одна частичная, в том числе полногеномный сиквенс уникального штамма, изолированного от человека. Разработана методика высокопроизводительного секвенирования геномов двухцепочечных РНК-содержащих вирусов. Оценена целесообразность включения вируса Кемерово в систему надзора за ИПК.

Полученные результаты используются в учебно-методической работе при подготовке специалистов биологического и медицинского профиля: включены в состав лекций в рамках семинара ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора «Инфекции, передающиеся клещами: современные требования и организация профилактических мероприятий».

Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы, полнота опубликования результатов

При выполнении исследований автором были сформулированы цель работы, задачи исследования и положения, выносимые на защиту, определены объекты и методы исследований, дизайн диссертации. М.В. Сафоновой внесён существенный вклад в работы, предшествующие диссертационному исследованию: в изучение превалентности вируса Кемерово в популяциях иксодовых клещей на территории Российской Федерации и в оптимизацию метода пробоподготовки библиотек РНК-содержащих вирусов для высокопроизводительного секвенирования. Основной объём исследования проведён автором работы самостоятельно: наращивание штаммов вируса

Кемерово в культуре клеток, экстракция РНК из высокотитражной вирусосодержащей культуральной жидкости, предварительная пробоподготовка для последующего секвенирования высокопроизводительными методами, количественный анализ репликационной активности вируса в культурах клеток. Также лично автором в полном объёме осуществлялась сборка геномов по референсной последовательности, сравнительный и филогенетический анализ полученных последовательностей, их аннотация и депонирование в базу данных GenBank, систематизирование и эпидемиологическая оценка полученных данных. По полученным результатам диссертантом сформулированы выводы.

Общая характеристика содержания диссертации

Диссертация изложена на 151 странице и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, изложения и обсуждения собственных результатов, заключения, выводов, списка литературы, включающего 150 источников, из них 36 – отечественных и 114 – зарубежных, авторов, и 4 приложений. Работа иллюстрирована 13 таблицами и 21 рисунком.

Во ВВЕДЕНИИ обоснованы актуальность направления исследования и степень разработанности темы, чётко и конкретно сформулированы цель и задачи исследования, новизна, теоретическая и практическая значимость, пять основных положений, выносимых на защиту.

В главе ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ дана характеристика инфекций, передающихся клещами, представлены сведения об истории изучения вируса Кемерово, проведён анализ методов секвенирования в вирусологии и определено значение эпидемического потенциала как меры эпидемиологической опасности.

В главе МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ представлены данные об использованных М.В. Сафоновой материалах и методах исследования. Автором изучены 10 штаммов вируса Кемерово из коллекции ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН», изолированных из различных источников в период с 1962 по 1973 гг. Используются вирусологические, молекулярно-генетические, эпидемиологические и статистические методы.

Глава РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ посвящена детальному изучению вируса Кемерово. Автором проведён сравнительный анализ полученных геномных последовательностей вируса Кемерово и полных геномов других вирусов группы Грейт-Айленд. Выполнена филогенетическая реконструкция внутривидовых взаимоотношений для штаммов вируса Кемерово, по результатам которой была показана множественная сегментная реассортация. Проведено исследование альтернативных рамок считывания в сегменте 9. Для оценки эпидемического потенциала вируса Кемерово

разработана система оценки эпидемического потенциала природно-очаговых инфекций в целом. Установлено, что наиболее значимой составляющей эпидемического потенциала вируса Кемерово является группа свойств, характеризующая опасность источника возбудителя инфекции и обусловленная строением генома вируса и механизмами формирования генетического разнообразия, что влияет на устойчивость природных очагов вируса, а также может приводить к возникновению высокопатогенных реассортантных форм.

В разделах ЗАКЛЮЧЕНИЕ и ВЫВОДЫ соискателем обобщены полученные данные и подведён итог работы.

Диссертационная работа М.В. Сафоновой представляет самостоятельное законченное исследование и вносит вклад в изучение генетического разнообразия вируса Кемерово и его связей с близкородственными вирусами группы Грейт-Айленд.

Замечания и предложения к содержанию и оформлению диссертации

1. Один из основных результатов диссертационной работы – разработка системы оценки эпидемического потенциала природно-очаговых инфекций вирусной этиологии. Однако в тексте диссертации не представлены исследования, позволившие автору создать таблицу «Критерии оценки эпидемического потенциала возбудителей природно-очаговых инфекций вирусной природы» (с. 80), не показано почему выбраны именно предложенные элементы фактора, на чём основана величина баллов, почему опасность одних элементов выше, чем других. Например, опасность «способности к межвидовой реассортации и/или рекомбинации» оценена в 5 баллов, а «внутривидовая реассортация и/или рекомбинации у близкородственного вируса, патогенного для человека» в 2 балла. Нет статистической подтверждённости опасности элементов факторов и величины их опасности. Фактически в диссертации представлена субъективная эмпирическая экспертная оценка опасности факторов.

2. В выше указанной таблице в 1 звене критериев «Опасность источника инфекции» преимущественно дана характеристика свойств вирусов и только один пункт связан с характеристикой источника инфекции. Несомненно, характеристика свойств вирусов важна для определения его опасности, но она не относится к источникам инфекции.

3. В главе «Материалы и методы» очень подробно описываются все методы, однако, в диссертации не описаны эксперименты – на каком основании «оптимизированы» методики, почему выбран именно представленный вариант, чем хуже другие пути оптимизации, должно быть

сравнение хотя бы отдельных элементов методики. По тексту они выглядят как установившиеся методики без ссылки на источник литературы.

4. В диссертации встречаются технические неточности. Например, при первом написании видов клещей родовое название должно быть указано полностью и написано курсивом – *Ixodes persulcatus* и другие (с. 8); сокращения родовых названий должно соответствовать правилам – *H. marginatum* (с. 22); ссылка на СП 1.3.3118-13 (с. 39) не корректна, поскольку с 01.09.2021 действуют СанПиН 3.3686-21; нозологические формы и названия вирусов должны быть указаны в соответствии с международной классификацией – болезнь Крымская геморрагическая лихорадка, вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки, лихорадка Западного Нила, вирус Западного Нила и прочее (с. 113).

5. Рекомендуется в дальнейшей работе для объективной характеристики эпидемической опасности вируса Кемерово усилить изучение эпидемиологических аспектов болезни, используя скрининг клинических случаев, обусловленных (подозрительных) этим вирусом, провести эпизоотологический мониторинг на возможность существования природных очагов лихорадки Кемерово в других ландшафтно-климатических районах, вклад вируса в структуру заболеваемости природно-очаговыми инфекциями в регионах Российской Федерации.

Материалы диссертации представлены в 13 опубликованной работе, из них 7 статей в журналах из перечня ВАК РФ и баз данных Scopus/Web of Science, а также на конференции с международным участием «Актуальные проблемы эпидемиологии, микробиологии, природной очаговости болезней человека», посвященной 95-летию основания Омского научно-исследовательского института природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора (15-16 ноября 2016 г., г. Омск); V Российском конгрессе лабораторной медицины (11-13 сентября 2018 г., г. Москва); интернет-конференции с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность» (6-8 октября 2020 г., г. Москва).

Автореферат отражает содержание диссертационной работы, основные положения и выводы проведенного исследования.

Заключение

Диссертационная работа Сафоновой Марины Викторовны «Оценка эпидемического потенциала вируса Кемерово (р. *Orbivirus*, сем. *Reoviridae*) на основе анализа его генетического разнообразия», выполнена на актуальную тему, является самостоятельной и завершённой научно-квалификационной работой, имеющей научную ценность и практическую значимость, существенное значение в решении проблемы изучения вируса Кемерово и совершенствования эпидемиологического надзора за лихорадкой Кемерово,

полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (с изменениями, опубликованными в Постановлениях Правительства РФ от 24.04.2016 № 335, от 02.06.2016 № 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 кандидатским диссертациям, отрасли науки «Биологические науки», паспортам специальностей 03.02.02 вирусология и 14.02.02 эпидемиология, а её автор Сафонова Марина Викторовна заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.02 – вирусология и 14.02.02 – эпидемиология.

Официальный оппонент

Заместитель директора по научной
и противоэпидемической работе
Федерального казённого учреждения
здравоохранения «Ставропольский
научно-исследовательский противочумный
институт» Федеральной службы по надзору
в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека,
д.м.н., профессор

Малецкая Ольга Викторовна

22.08.2022

Подпись Малецкой О.В. удостоверяю:

Начальник отдела кадров ФКУЗ
Ставропольский противочумный институт
Роспотребнадзора

С.М. Исмаилова

Адрес: 355035, Ставропольский край, г. Ставрополь,
ул. Советская, тел. +7 (865-2) 26-03-12
Эл. почта: stavnipchi@mail.ru

