

ОТЗЫВ

официального рецензента на диссертацию Бурашева Ербола Досановича на тему: «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 (ГЛ) – чрезвычайно заразное заболевание лошадей (в том числе диких), вызываемое вирусами гриппа А. Эти вирусы известны высокой степенью трансмиссии у самых разных видов животных. Вирус гриппа лошадей (ВГЛ), возбудитель ГЛ, считается одним из наиболее важных вирусных респираторных патогенов лошадей. ГЛ в основном вызывается двумя подтипами вирусов гриппа А, а именно H7N7 (впервые выделенный в 1956 г.) и H3N8 (впервые выделенный в 1963 г.). Ранее подтип H7N7 считался основной причиной возникновения эпизоотий, в то время как второй подтип H3N8 в основном отвечает за вспышки эпизоотий во всем мире. Эволюция (внутривидовая) ВГЛ была зарегистрирована у восприимчивых лошадей и во время полевых вспышек. Антигенный дрейф (вызванный точечной мутацией) привел к появлению "европейской" и "американской" линий подтипа H3N8.

В связи с широким распространением заболевания и непрерывной генетической эволюции вируса Международным сообществом приняты рекомендации по основным направлениям борьбы с гриппом лошадей: подготовка законодательства и просветительская работа, эпидемиология и эпизоотология, методы диагностики, обеспечение биологической безопасности и вакцинация. Выполнение этих рекомендаций напрямую зависит от изучения штаммов вирусов, циркулирующих в регионе, так как их характеристика является основой для создания эффективных диагностических тест-систем, а также являются неотъемлемой частью разработки технологии изготовления вакцин против ГЛ.

В связи с вышеизложенным работа по изучению биологических и молекулярно-генетических свойств ВГЛ, выделенных на территории Казахстана, является весьма актуальной.

Диссертационная работа Бурашева Е.Д. выполнялась в рамках Республиканской научно-технической программы «О.0534 Грипп лошадей: эпизоотологический мониторинг, разработка средств специфической профилактики и диагностики на 2010-2012 годы» в РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК (НИИПББ).

2. Научные результаты и их обоснованность, степень обоснованности и достоверности каждого научного результата (научного положения), выводов и заключения соискателя, сформулированных в диссертации.

В представленной диссертационной работе достигнуты следующие результаты:

Осуществлен эпизоотологический мониторинг гриппа лошадей на территории РК, в результате которого изолировано 4 новых штамма вирусов гриппа лошадей: *A/equine/Baizak/09/2012*, *A/equine/Kostanai/09/2012*, *A/equine/Matybulak/10/2012* и *A/equine/LKZ/09/2012*.

Подобраны адекватные модели (развивающиеся куриные эмбрионы и культура клеток MDCK) и установлены оптимальные параметры культивирования штаммов вируса, позволяющие получать вируссодержащие материалы с необходимой для вакцинных кандидатов инфекционной активностью и гемагглютинирующим титром.

Проведено электронно-микроскопическое исследование морфометрических характеристик вирионов, показавшее, что вирусные частицы преимущественно представлены округлыми формами с поверхностными шипами.

Определена нуклеотидная последовательность полного генома штаммов ВГЛ *A/equine/Baizak/09/2012*, *A/equine/Kostanai/09/2012* и генов (НА, NA, М, NP, NS) штаммов *A/equine/Matybulak/10/2012*, *A/equine/LKZ/09/2012*.

Проведен филогенетический анализ поверхностных генов (НА, NA) штаммов *A/equine/Baizak/09/2012*, *A/equine/Kostanai/09/2012*, *A/equine/Matybulak/10/2012*, *A/equine/LKZ/09/2012* и установлена их филогенетическая принадлежность к клайду *American*, субклайду *Florida 2*.

Разработан олигонуклеотидный микрочип и система проведения полимеразной цепной реакции для диагностики и субтипирования вируса гриппа А/Н3N8.

Результаты научных исследований, заключение и выводы, сформулированные в диссертации, являются обоснованными и достоверными.

3. Степень новизны каждого научного результата (положения), вывода соискателя, сформулированных в диссертации.

Новизна результатов исследований заключается в том, что впервые определена и опубликована в базе GenBank нуклеотидная последовательность полного генома штаммов ВГЛ *A/equine/Baizak/09/2012*, *A/equine/Kostanai/09/2012* и генов (НА, NA, М, NP, NS) штаммов *A/equine/Matybulak/10/2012*, *A/equine/LKZ/09/2012*. Впервые установлена филогенетическая принадлежность 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 Н3N8. Впервые выявлены консервативные участки в матричном (М) гене у штаммов ВГЛ, с использованием

биоинформатических методов. Определенные консервативные нуклеотидные последовательности М гена были использованы при разработке и дизайне олигонуклеотидных микрочипов для диагностики и субтипирования вируса гриппа А/Н3N8.

Новизна исследований подтверждена 4 инновационными патентами на изобретения (штаммы ВГЛ) Национального института интеллектуальной собственности Министерства юстиции Республики Казахстан.

4. Практическая и теоретическая значимость научных результатов.

Теоретическая значимость результатов научных изысканий диссертанта заключается в выделении впервые на территории Казахстана штаммов ВГЛ относящихся к клайду *American*, субклайду *Florida 2*, с антигенной формулой Н3N8 и в подробном изучении их биологических и молекулярно-генетических характеристик. Практическая значимость очевидна и заключается в предложенной технологии культивирования ВГЛ, сконструированных и подобранных специфических олигонуклеотидных зондов и праймеров на грипп А/Н3N8, а также разработанном микрочипе, которые удовлетворяют современные требования проведения диагностики и субтипирования штаммов ВГЛ.

5. Недостатки по содержанию и оформлению диссертации.

Содержание работы изложено хорошим литературным языком. Недостатки по содержанию и оформлению диссертации сводятся к отдельным опечаткам и стилистическим неточностям. В ряде случаев допускаются повторные сокращения терминов ранее внесенных в список обозначений в начале основного текста.

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

Считаю, что диссертационная работа Бурашева Ербола Досановича на тему: «Изучение биологических свойств актуальных штаммов вируса гриппа лошадей, выделенных на территории Республики Казахстан в 2012 году» по актуальности, объему проведенных исследований, степени новизны, теоретической и практической значимости полученных результатов соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора философии (PhD) по специальности 6D060700 – «Биология», а ее автор Бурашев Е.Д. достоин присуждения искомой степени доктора философии (PhD).

Ассистент кафедры

«Биологическая безопасность»

**НАО Казахский национальный
аграрный университет, доктор PhD**



К.К. Табынов