

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

старшего преподавателя кафедры вирусологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» кандидата биологических наук Евтушенко Екатерины Алексеевны на диссертационную работу Блиновой Екатерины Алексеевны на тему: «Генетические варианты хантавируса Пуумала – основного возбудителя геморрагической лихорадки с почечным синдромом в Российской Федерации», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология

Диссертационная работа Екатерины Алексеевны Блиновой посвящена изучению генетических вариантов *Orthohantavirus puumalaense* (хантавирус Пуумала) на территории Российской Федерации и разработке кандидатной тест-системы для дифференциальной диагностики этого вируса.

Инфицирование человека патогенными представителями рода *Orthohantavirus* может приводить к геморрагической лихорадке с почечным синдромом (ГЛПС), что характерно для вирусов, встречающихся в Европе и Азии (хантавирусы Старого света). Тогда как вирусы, встречающиеся в Северной, Центральной и Южной Америке (хантавирусы Нового света), способны вызывать хантавирусный пульмонарный синдром.

Хантавирус Пуумала – основная причина ГЛПС на территории РФ (около 98% от числа случаев всех заболеваний ГЛПС). Несмотря на относительно низкую летальность (0,1-1,0 %), ГЛПС-Пуумала протекает как острая инфекция с поражением почек, легких, центральной нервной и гормональной систем, наличием в ряде случаев несовместимых с жизнью осложнений и характеризуется длительным сроком восстановления до

полного выздоровления. В этой связи проблема ГЛПС представляет серьезную медико-социальную проблему.

Данные о генетических вариантах хантавируса Пуумала, распространенных на территории РФ, позволят расширить представления об эволюции этого вируса и его генетическом разнообразии на территории страны, а также станут основой для разработки эффективных диагностических тест-систем. Таким образом, актуальность диссертационной работы Екатерины Алексеевны Блиновой не вызывает сомнений.

Диссертация Е.А. Блиновой построена по общепринятому плану, изложена на 138 страницах и включает следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», а также разделы «Практические рекомендации» и «Перспективы дальнейшей разработки темы». Работа содержит 18 таблиц и 21 рисунок. Список цитируемой литературы включает 203 источника.

Во введении Е.А. Блинова обосновала актуальность, научную новизну и практическую значимость исследования и обозначила цели и задачи.

В обзоре литературы автором приведена подробная характеристика хантавирусов, рассмотрены строение вириона и жизненный цикл, описаны функции вирусных белков, география распространения различных хантавирусов, описаны процессы реассортации и рекомбинации. Особое внимание уделено взаимодействию хантавирусов и их резервуарных хозяев, ареалу возбудителей ГЛПС, генетическому разнообразию хантавируса Пуумала. Заключительная часть литературного обзора посвящена распространению хантавируса Пуумала на территории РФ. В целом обзор литературы позволяет сформировать целостную картину, отражающую современное состояние исследований в данной области.

Раздел «Материалы и методы» отражает высокий научно-методический уровень диссертационной работы, соответствующий мировым стандартам. В нем описан весь спектр использованных молекулярно-генетических и иммунологических подходов, представлены списки праймеров, а также

приведена информация о задействованных при обработке данных алгоритмах, методах анализа и программном обеспечении.

В разделе «Результаты и обсуждение» подробно изложены результаты исследований, проведенных автором. Было проведено расследование летального случая ГЛПС в Курской области. В процессе анализа было установлено, что аутопсийный материал всех исследованных органов (почки, легкие, сердце, печень, селезенка) содержал РНК хантавируса Пуумала. Для дальнейшей работы на территории предполагаемого заражения были отловлены грызуны, а РНК вируса, выделенная из их органов, была использована для филогенетического анализа. На следующей стадии работы для получения информации о генетическом разнообразии хантавируса Пуумала на территории РФ помимо образцов от пациента и рыжих полевок из Курской области были также исследованы биоматериалы от грызунов, полученные из различных регионов (Ульяновская область, Саратовская область, Удмуртская Республика, Ивановская область, Рузский и Волоколамский районы Московской области, Пензенская область, Архангельская область, Тюменская область). Последовательности всех трех сегментов вирусного генома были получены по меньшей мере для одного геноизолята из каждого региона. Последовательности хантавируса Пуумала были депонированы в базу данных GenBank. С учетом данных о нуклеотидных заменах в идентифицированных в настоящей работе последовательностей хантавируса Пуумала, Е.А. Блинова предложила усовершенствованную методику ОТ-ПЦР в реальном времени для выявления генетических вариантов этого вируса на территории РФ. Диагностические характеристики данной методики были изучены на 684 биологических образцах. Была проведена оценка чувствительности и специфичности разработанной методики. Полученные последовательности были использованы при построении филогенетических деревьев. Проведенный филогенетический анализ позволил выделить в пределах генетических линий RUS и FIN отдельные сублинии, что еще раз подчеркивает несомненную

новизну представленной работы. Открытые Е.А. Блиновой последовательности позволили обнаружить реассортационные события в пределах линии RUS, что проливает свет на пути эволюции хантавируса Пуумала. Если же говорить о практической значимости работы, то нельзя не упомянуть, что на основании полученных данных об актуальном генетическом разнообразии и разработанной методики ОТ-ПЦР в реальном времени была создана кандидатная тест-система для выявления вируса Пуумала. Результаты были обсуждены и сопоставлены с данными, полученными ранее в этой области исследований.

Таким образом, полученные Е.А. Блиновой результаты обладают научной новизной и представляют большой интерес для понимания эволюции и генетического разнообразия хантавируса Пуумала на территории РФ и несут несомненную практическую значимость, так как позволяют разрабатывать эффективные диагностические тест-системы для выявления этого вируса, и одна из тест-систем кандидатов уже была создана в рамках представленной диссертационной работы.

Публикации автора соответствуют результатам проведенных исследований. Положения, выносимые на защиту, и выводы диссертационной работы научно обоснованы, а автореферат диссертации отражает основную часть диссертационной работы, по результатам которой было опубликовано 6 научных работ в журналах, входящих в международные библиографические базы данных – Web of Science и/или Scopus, в том числе 3 работы в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук (Перечень ВАК). Материалы исследования были представлены на 7 научных конференциях (в том числе с международным участием – две) и одном научно-практическом семинаре.

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 1.5.10. Вирусология. Результаты проведенного исследования соответствуют областям исследований: пунктам 8 «Проблемы экологии вирусов, их географического распространения, эпидемиологии и путей распространения вирусных инфекций, изучение путей передачи вирусов, их носительства, выявление естественных хозяев» и 10 «Разработка мер предупреждения, диагностики и лечения вирусных заболеваний, совершенствование лабораторной диагностики, терапии, и иммунопрофилактики вирусных инфекций, проблемы санитарной вирусологии» паспорта специальности 1.5.10. Вирусология.

Несмотря на то, что работа заслуживает самой высокой оценки, у меня есть несколько вопросов и замечаний:

-Крайне интересно было бы узнать мнение автора, какова вероятность инфицироваться хантавирусом Пуумала при посещении лесов Московской области и на дачных участках после зимы.

-Способ оформления подписей к рисункам показался мне нестандартным. Однако, ознакомившись с пунктом 6.5.7 ГОСТ 7.32-2017, я поняла, что его можно трактовать именно так, как это сделала автор диссертационной работы.

-При оформлении рисунков для обозначения отдельных частей рисунка автор иногда использует русский алфавит, а в некоторых случаях латинский. Более правильно было бы везде использовать русские буквы.

-Стр. 34. Фраза «У других вирусных таксонов, например, у Рео-, Арена- и Буньявирусов реассортация хорошо описана [20]. При этом до недавнего времени отличительной чертой хантавирусов считали редкость реассортационных событий. Действительно, для остальных Буньявирусов описана векторная передача через членистоногих». В первой фразе буньявирусы как будто противопоставляются хантавирусам, а в последней – наоборот, что путает читателя.

-В разделе 3.3.2, на мой взгляд, автор недостаточно четко обозначила, что все-таки было использовано в качестве референсного подхода, «гнездовой» ПЦР («вложенный» ПЦР, nested PCR) или «гнездовой» ПЦР с последующим секвенированием по Сэнгеру.

-Стр. 84, Рисунок 13. Хотелось бы видеть чуть более подробное обсуждение представленного графика в тексте, не совсем понятно, на каком основании отдельные точки были обозначены в виде выбросов.

-Стр. 85, Рисунок 14, часть «В» (Рисунок 4 автореферата). На оси X, показывающую часть кодирующей последовательности сегмента M, два раза продублирована цифра 1525.

-Стр. 106. Фраза из раздела «Заключение» «На основании результатов секвенирования вирусного материала, а также данных, представленных в базе GenBank были построены дендрограммы, позволившие сформулировать положения и гипотезы, которые стали выводами...» сформулирована не удачно, так изложенные в работе выводы гипотез не содержат.

Указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования.

Заключение:

Диссертационная работа Блиновой Екатерины Алексеевны на тему: «Генетические варианты хантавируса Пуумала – основного возбудителя геморрагической лихорадки с почечным синдромом в Российской Федерации» соответствует паспорту научной специальности 1.5.10. Вирусология и отвечает требованиям пунктов 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (в ред. Постановлений Правительства РФ от 30.07.2014 N 723, от 21.04.2016 N 335, от 02.08.2016 N 748, от 29.05.2017 N 650, от 28.08.2017 N 1024, от 01.10.2018 N 1168, от 20.03.2021 N 426, от 11.09.2021 N 1539, от 26.09.2022 N 1690, от 26.01.2023 N 101, от 18.03.2023 N 415, от 26.10.2023 N 1786, от 25.01.2024 N 62, от 16.10.2024 №1382 с изменениями от 01.01.2025 г.), предъявляемым к

диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, ученой степени кандидата наук, а ее автор Блинова Екатерина Алексеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

Согласна на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» моих персональных данных (в соответствии с требованиями Приказа Минобрнауки России №1 от 09.01.2020 г. (ред. от 01.03.2024 г.), необходимых для работы диссертационного совета Д. 24.1.255.01.

Официальный оппонент:

Старший преподаватель кафедры вирусологии
биологического факультета Федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Московский государственный
университет имени М.В. Ломоносова»
кандидат биологических наук,
e-mail: evtushenkoea@my.msu.ru
тел. 8 499-939-53-67

Евтушенко Екатерина Алексеевна

Подпись к.б.н. Евтушенко Е.А. удостоверяю.

Зам. декана по научной работе биологического факультета
Федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования «Московский
государственный университет имени М.В. Ломоносова»
профессор, доктор биологических наук



А.М. Рубцов

«06» февраля 2026 г.