

## ОТЗЫВ

на диссертацию Ковалева С.Ю. «Происхождение, распространение и эволюция вируса клещевого энцефалита», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Диссертационная работа Ковалева С.Ю. посвящена актуальной проблеме современной медицины – клещевому энцефалиту (КЭ). Несмотря на то, что это заболевание известно достаточно давно, подробно изучены эпидемиология и биология возбудителя, разработаны методы его диагностики и профилактики, ряд проблем остался нерешенным. В частности, не обнаружены маркеры вирулентности и патогенности возбудителя – вируса КЭ. То, что для различных регионов ареала распространения КЭ характерна разная тяжесть его течения, отмечали еще первые исследователи. На Дальнем Востоке преобладают более тяжелые формы и высока летальность по сравнению с сибирским и европейским регионами. Иммунологическими и молекулярно-биологическими методами удалось типировать штаммы вируса КЭ, доминирующие на различных территориях, но четких биохимических или генетических маркеров форм клинического течения КЭ установлено не было.

Многие исследователи надеются найти ключ к решению этой проблемы в расшифровке закономерностей эволюции ВКЭ и его взаимоотношений с иксодовыми клещами – основным хозяином и переносчиком вируса. Настоящая работа также имеет подобную направленность. Несмотря на ряд интересных гипотез и подходов, предложенных автором, доказательная база недостаточна для однозначных выводов.

В частности, автор использует для оценки скорости нуклеотидных замен сравнение последовательностей современных штаммов и штаммов, выделенных на той же территории в предыдущие периоды. Полученные значения затем легли в основу расчетов скорости эволюции вируса, поиска движущих сил эволюции и причин миграции возбудителей и переносчиков. Нужно сказать, что автором был выбран очень спорный метод. Невозможно никак доказать, что выделенные на одной территории более поздние штаммы

являются непосредственными потомками более ранних штаммов. Можно равновероятно предположить, что оба штамма циркулировали на этой территории уже в момент первого выделения, или позднее выделенный штамм был занесен на эту территорию в промежуток между двумя выделениями. Таким образом, все расчеты времени появления тех или иных штаммов вируса КЭ и выводы о связи наблюдаемых феноменов с рядом исторических событий выглядят неубедительно. Учитывая, что полученные автором результаты существенно отличаются от результатов других исследователей, полагаю, что необходима более тщательная проработка методов исследования.

Кроме того, вызывают вопросы и другие детали методологии. Так, автор использовал для исследования вакцину клещевого энцефалита производства ФГУП НПО «Вирион» (Томск, Россия). Препарат, произведенный в 1999, хранившийся 12 лет в жидком виде был использован для определения нуклеотидной последовательности генов РНК ВКЭ. Учитывая нестабильность РНК и массу факторов, воздействующих на нее в процессе производства и хранения, трудно ожидать результатов высокого качества. Ситуация осложняется тем, что через 10 лет после окончания срока годности образцы препарата этой серии невозможно найти для проверки полученных результатов. Поэтому выбор столь старого препарата вызывает недоумение. Тем более, что при соблюдении определенных правил, исследователь может получить в свое распоряжение высококачественный материал с любого этапа производства. Далее автор, используя полученную последовательность в филогенетическом анализе, ошибочно пишет о штамме «Софьин», якобы использованном для производства этой вакцины. Эта ошибка многократно воспроизводится в статье (Virus Genes. 2012 Apr;44(2):217-24), базе данных GenBank NCBI, в данной диссертации. Однако штамм «Софьин» в 1999 году не использовался на предприятии в г.Томск в качестве производственного. Предприятие выпускало вакцину в соответствии с ФСП 42-3259-96, в которой однозначно указано, что исходным штаммом является штамм «205» (восточный антигенный вариант). Подобные методологические и фактологиче-

ские ошибки ставят под сомнение остальные результаты, полученные в данной работе.

Поставленные С.Ю.Ковалевым цели и задачи выполнены не в полном объеме: выбранный метод оценки скорости эволюции не позволяет достоверно судить о времени возникновения различных штаммов, соответственно все выводы о влиянии различных социально-экономических факторов на эволюцию вируса и формирование очагов заболевания являются недостоверными. Обеспокоенность автора кросс-контаминациями, лабораторными и производственными ошибками на фоне собственных грубых методологических ошибок выглядит неубедительно. Автор не продемонстрировал хорошее знание проблемы. Используемые в работе методы не всегда адекватны сформулированным задачам. Не совсем понятны механизмы реализации результатов работы для решения задач практической медицины.

Таким образом, можно констатировать, что представленная диссертация не может быть квалифицирована как соответствующая требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней».

Директор центра разработок и внедрения (R&D)

ФГУП "НПО "Микроген" Минздрава России, к.т.н.

127473, г. Москва, 2-й Волконский переулок, д.10, тел. (495) 7907773

s.p.kalinin@microgen.ru

Подпись С.П.Калинина удостоверяю

Начальник Управления по работе с персоналом

Директор Филиала ФГУП "НПО "Микроген"

Минздрава России в г.Томск, к.м.н.

634040, г.Томск, ул.Ивановского, 8, тел. (3822) 905808

a.a.koltunov@microgen.ru

Начальник научного отдела

Филиала ФГУП "НПО "Микроген"

Минздрава России в г.Томск, к.м.н.

634040, г.Томск, ул.Ивановского, 8, тел. (3822) 905685

o.y.stronin@microgen.ru; stronin@mail.ru

Подписи А.А.Колтунова и О.В.Стронина удостоверяю

Начальник отдела по работе с персоналом

Филиала ФГУП "НПО "Микроген"

Минздрава России в г.Томск

Калинин С.П.

Ханина Н.Ю.

Колтунов А.А.

Стронин О.В.

Дудко О.С.