

### Письменный отзыв официального рецензента

на докторскую диссертацию Каиржановой Алмы Дуйсенбайкызы на тему: «Генетическое разнообразие штаммов *Francisella tularensis* циркулирующих на территории Казахстана», представленную в диссертационный совет по защите диссертаций на присуждение степени доктора философии (PhD) по образовательной программе 8D09101 - «Ветеринарное благополучие животных» при НАО «Казахский агротехнический исследовательский университет им. С. Сейфуллина».

№п/п	Критерии	Соответствие критериям (необходимо отметить один из вариантов ответа)	Обоснование позиции официального рецензента
1.	Тема диссертации (на дату ее утверждения) соответствует направлениям развития науки и/или государственным программам	<p>1.1 Соответствие приоритетным направлениям развития науки или государственным программам:</p> <p>1) <u>Диссертация выполнена в рамках проекта или целевой программы, финансируемого(ой) из государственного бюджета (указать название и номер проекта или программы)</u></p> <p>2) Диссертация выполнена в рамках другой государственной программы (указать название программы)</p> <p>3) <u>Диссертация соответствует приоритетному направлению развития науки, утвержденному Высшей научно-технической комиссией при Правительстве Республики Казахстан ("Наука о жизни и здоровье")</u></p>	<p>Тема диссертации соответствует направлениям развития науки по приоритету "Наука о жизни и здоровье".</p> <p>Исследования проводились в рамках программы грантового финансирования Комитета науки МОН РК по проекту: «Сравнительный анализ молекулярно-генетических особенностей геномов у возбудителей сибирской язвы и туляремии в Казахстане», AP05131460, 2018-2020 гг. по приоритетному направлению развития науки "Наука о жизни и здоровье".</p>
2.	Важность для науки	Работа вносит/не вносит существенный вклад в науку, а ее важность хорошо раскрыта/не раскрыта	<p>Результаты, полученные в ходе выполнения данной диссертационной работы, представляют собой значительный вклад в область молекулярно-генетических исследований возбудителей инфекций, особенно в контексте изучения бактерии <i>Francisella tularensis</i>, возбудителя туляремии. Автором была собрана значительная коллекция образцов ДНК различных штаммов <i>Francisella tularensis</i> из восьми областей Казахстана. Это значительно обогащает генетическое</p>

			<p>разнообразие бактерии в регионе и создает базу данных для дальнейших исследований.</p> <p>Разработан протокол генотипирования методом мультилокусного анализа, что обеспечивает быструю и точную типизацию штаммов и может быть использован в медицинских и ветеринарных лабораториях.</p> <p>Используя MLVA, было выявлено значительное генетическое разнообразие среди изученных штаммов <i>F. tularensis</i>, что позволяет лучше понять распространение и эпидемиологию туляремии в регионе.</p> <p>Впервые в Казахстане было проведено полногеномное секвенирование 40 штаммов <i>F. tularensis</i>, что способствовало подтвердить гипотезу об азиатском происхождении бактерии и оценить ее генетическое разнообразие и эволюционные пути распространения. Эти результаты имеют важное значение для понимания молекулярной эпидемиологии туляремии в Казахстане, а также могут быть полезны для разработки стратегий контроля и профилактики этого заболевания как в Казахстане, так и в других регионах, где туляремия является проблемой.</p>
3.	Принцип самостоятельности	<p>Уровень самостоятельности:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) <b>Высокий;</b></li> <li>2) Средний;</li> <li>3) Низкий;</li> <li>4) Самостоятельности нет</li> </ol>	<p>Уровень самостоятельности в данной диссертационной работе высокий, что подтверждается следующими аспектами:</p> <p>Сбор и анализ образцов - этап требует организации, планирования и самостоятельности автора, чтобы убедиться в правильном сборе образцов и минимизировать возможность контаминации.</p> <p>Автор самостоятельно провел очистку ДНК из собранных образцов и анализировал их концентрацию и качество.</p> <p>Диссертант провела анализ нуклеотидных последовательностей 16S rRNA гена для идентификации видов принадлежности образцов к <i>Francisella tularensis</i>. Это требует глубоких знаний в области биоинформатики и молекулярной биологии бактериальных патогенов для правильной интерпретации результатов.</p>

			<p>Она лично участвовала в разработке протокола генотипирования <i>F. tularensis</i> методом мультилокусного анализа 11VNTR повторов и подготовил методические рекомендации по его применению в соавторстве.</p> <p>Ею проведена анализ полученных данных о генетическом разнообразии и распространении штаммов <i>F. tularensis</i> на территории Казахстана и сделал выводы на основе этих данных. Таким образом, диссертант проявила высокий уровень самостоятельности во всех аспектах диссертационной работы, начиная с сбора образцов и заканчивая анализом результатов и формулированием выводов.</p>
4.	Принцип внутреннего единства	<p>4.1 Обоснование актуальности диссертации:</p> <p>1) <b>Обоснована</b>;</p> <p>2) Частично обоснована;</p> <p>3) Не обоснована.</p>	<p>Актуальность данной диссертации обоснована, особенно с учетом следующих факторов:</p> <p>Понимание распространения и генетического разнообразия данного патогена имеет критическое значение для разработки эффективных стратегий контроля за инфекцией.</p> <p>Диссертация предлагает методы анализа, которые могут быть использованы для отслеживания и контроля за распространением бактерии <i>F. tularensis</i>.</p> <p>Изучение генетического разнообразия <i>F. tularensis</i> имеет широкое применение для понимания эволюции этого патогена, его адаптации к различным условиям среды и механизмов заражения. Это знание может быть полезным для разработки новых методов диагностики и лечения инфекций.</p> <p>Диссертация о генетическом разнообразии <i>F. tularensis</i> в Казахстане представляет собой актуальное исследование, которое может иметь значительное значение как для научного сообщества, так и для общественного здоровья, ветеринарного благополучия и безопасности.</p>
		<p>4.2 Содержание диссертации отражает тему диссертации:</p> <p>1) <b>Отражает</b>;</p> <p>2) Частично отражает;</p> <p>3) Не отражает</p>	<p>Содержание диссертации полностью отражает тему диссертации. Все разделы, подразделы, а также анализ и выводы направлены на исследование и развитие выбранной темы.</p>

		<p>4.3. Цель и задачи соответствуют теме диссертации:  1) <b><u>соответствуют;</u></b>  2) частично соответствуют;  3) не соответствуют</p>	<p>Поставленные цель и задачи диссертационной работы соответствуют её теме.  Все задачи направлены на исследование генетического разнообразия штаммов <i>Francisella tularensis</i> и составление карты распределения генотипов, что соответствует цели усовершенствования контроля за туляремией в Казахстане.</p>
		<p>4.4 Все разделы и положения диссертации логически взаимосвязаны:  1) <b><u>полностью взаимосвязаны;</u></b>  2) взаимосвязь частичная;  3) взаимосвязь отсутствует</p>	<p>4.4 Все разделы и структура диссертации, главы, в том числе введение, определение направления исследования, заключение по обзору литературы, самостоятельное исследование, результаты исследования, заключение логически взаимосвязаны и последовательно развивает аргументацию проблемы исследования.</p>
		<p>4.5 Предложенные автором новые решения (принципы, методы) аргументированы и оценены по сравнению с известными решениями:  1) <b><u>критический анализ есть;</u></b>  2) анализ частичный;  3) анализ представляет собой не собственные мнения, а цитаты других авторов</p>	<p>4.5 Все научные результаты подкреплены критическим анализом, который прослеживается на протяжении всей диссертации. Обсуждение гипотезы азиатского происхождения <i>F. tularensis</i> и возможной роли птиц в филогеографии возбудителя демонстрирует глубокий уровень анализа и понимания полученных данных. Таким образом, результаты работы являются значимым вкладом в научное понимание туляремии и могут быть использованы для разработки более эффективных методов контроля за этим заболеванием.</p>
5.	Принцип научной новизны	<p>5.1 Научные результаты и положения являются новыми?  1) <b><u>полностью новые;</u></b>  2) <b><u>частично новые (новыми являются 25-75%);</u></b>  3) не новые (новыми являются менее 25%)</p>	<p>5.1 Научные результаты и положения являются полностью новыми и вносят значительный вклад в понимание генетического разнообразия и распространения <i>Francisella tularensis</i> в Казахстане.</p>
		<p>5.2 Выводы диссертации являются новыми?  1) <b><u>полностью новые;</u></b>  2) <b><u>частично новые (новыми являются 25-75%);</u></b>  3) не новые (новыми являются менее 25%)</p>	<p>5.2 Выводы диссертации являются полностью новыми и основаны на результате проведенного исследования. Выводы представляют собой значимый вклад в научное понимание генетического разнообразия и распространения <i>Francisella tularensis</i> в Казахстане.</p>

		<p>5.3 Технические, технологические, экономические или управленческие решения являются новыми и обоснованными:</p> <p>1) <u>полностью новые;</u></p> <p>2) <u>частично новые (новыми являются 25-75%);</u></p> <p>3) не новые (новыми являются менее 25%)</p>	<p>5.3 Результаты, полученные в ходе выполнения диссертационной работы, достигнуты благодаря новейшим методам в области молекулярно-генетических исследований, что соответствует мировой практике исследований такого рода, также является новым и обоснованным техническим, технологическим, экономическим или управленческим решением.</p>
6.	Обоснованность основных выводов	<p>Все основные выводы основаны/не основаны на весомых с научной точки зрения доказательствах либо достаточно хорошо обоснованы (для qualitative research и направлений подготовки по искусству и гуманитарным наукам)</p>	<p>Выводы диссертации являются новыми и основаны на результате проведенного исследования.</p> <p>Создание коллекции образцов ДНК 148 штаммов <i>Francisella tularensis</i> из различных областей Казахстана, пригодных для генотипирования методами MLVA, ПЦР и полногеномного секвенирования. Качество извлеченной ДНК подтверждено соотношением длин волн 260/280 и анализом нуклеотидной последовательности 16S rRNA гена.</p> <p>Разработка протокола генотипирования <i>F. tularensis</i> методом мультилокусного анализа 11 VNTR повторов включает состав реакционной смеси, режим амплификации и фрагментный анализ, а также выпущены методические рекомендации для использования в медицинских и ветеринарных лабораториях.</p> <p>MLVA типирование 148 штаммов <i>F. tularensis</i> по 11 гипервариабельным VNTR маркерам позволило определить суммарный индекс разнообразия MLVA-11. Была разработана упрощенная схема генотипирования с более высокой дискриминационной способностью.</p> <p>Определено генетическое разнообразие выделенных штаммов <i>F. tularensis</i> на территории Казахстана на основании MLVA-11.</p> <p>Кластеризация штаммов и построение дендрограммы и минимальных остовных деревьев позволило выявить 30 генотипов, указывающих на смешивание генотипов за счет передвижения животных и клещей.</p> <p>Впервые в Казахстане проведено полногеномное секвенирование 40 штаммов <i>F. tularensis</i>, что позволило подтвердить гипотезу</p>



			<p>азиатского происхождения <i>F. tularensis</i> и выявить роль птиц в распространении возбудителя.</p> <p>Эти выводы представляют собой новые научные результаты, которые дополняют и расширяют существующее знание о генетическом разнообразии и распространении <i>F. tularensis</i> в Казахстане.</p>
7.	Основные положения, выносимые на защиту	<p>Необходимо ответить на следующие вопросы по каждому положению в отдельности:</p> <p>7.1 Доказано ли положение?  <b>1) доказано;</b>  2) скорее доказано;  3) скорее не доказано;  4) не доказано</p> <p>7.2 Является ли тривиальным?  1) да;  <b>2) нет</b></p> <p>7.3 Является ли новым?  <b>1) да;</b>  2) нет</p> <p>7.4 Уровень для применения:  1) узкий;  <b>2) средний;</b>  3) широкий</p> <p>7.5 Доказано ли в статье?  <b>1) да;</b>  2) нет</p>	<p>7.1 Основные положения, выносимые на защиту полностью доказаны. Создание коллекций образцов ДНК штаммов <i>Francisella tularensis</i> пригодных для генотипирования методом MLVA и полногеномного секвенирования; видовая и внутривидовая идентификация штаммов <i>F. tularensis</i>; разработка протокола генотипирования <i>F. tularensis</i> методом мультилокусного анализа VNTR повторов; оптимизация условий постановки MLVA типирования <i>F. tularensis</i>; проведение MLVA типирование штаммов <i>F. tularensis</i> по гипервариабельным VNTR маркерам и получение MLVA профилей; полногеномное секвенирование штаммов <i>F. tularensis</i>; анализ результатов полногеномного секвенирования 40 штаммов <i>F. tularensis</i>; анализ результатов полногеномного секвенирования шт. <i>F. tularensis subsp. mediasiatica</i>; полногеномный SNP анализ подвида <i>holarctica</i>;</p> <p>MLVA генотипирование <i>in vitro</i>; <i>in silico</i> MLVA для <i>F. tularensis subsp. holarctica</i> из Казахстана; кластеризация <i>F. tularensis subsp. holarctica</i> с использованием MLVA и соответствие с <i>canSNP</i> являются доказательством положения выносимых на защиту.</p> <p>7.2 Основные защищаемые принципы не тривиальны.</p> <p>7.3 Основные принципы защиты являются новыми.</p> <p>7.4 Уровень для применения определяется размещение полногеномных данных штаммов <i>Francisella tularensis</i> в международную базу данных; протокол генотипирования <i>Francisella tularensis</i> методом мультилокусного анализа VNTR повторов, карты распределения генотипов на территории Казахстана.</p> <p>7.5 По материалам диссертации опубликовано четыре научные работы, в том числе в редакциях, рекомендованных КОКНВО: Научно-практический журнал «Наука и образование» Западно-</p>

			Казахстанского аграрно-технического университета имени Жангир хана (Уральск, 2020), опубликованы методические рекомендации «MLVA типирование штаммов Francisella tularensis» (Нур-Султан, 2020) (Приложение А), 1 публикация в журнале входящем в базу Scopus (Q4, 2020), 1 публикация в журнале «PLOS Neglected Tropical Diseases» (Q1, 2021).
8.	Принцип достоверности Достоверность источников и предоставляемой информации	8.1 Выбор методологии - обоснован или методология достаточно подробно описана 1) <u>да</u> ; 2) нет	8.1 Выбор методики обоснован, методика четко написана. Методология исследования в диссертации весьма подробно описана. Каждый подпункт раздела "Методы исследований" содержит описание конкретного метода, используемого в исследовании, что указывает на обоснованность выбора методологии.
		8.2 Результаты диссертационной работы получены с использованием современных методов научных исследований и методик обработки и интерпретации данных с применением компьютерных технологий: 1) <u>да</u> ; 2) нет	8.2 Результаты диссертационной работы получены с использованием современных методов научных исследований и методик обработки и интерпретации данных с применением компьютерных технологий, таких как: MLVA типирования штаммов Francisella tularensis, полногеномного секвенирования, определения однонуклеотидного полиморфизма (SNP) и назначения canSNP, а также биоинформатического анализа результатов полногеномного секвенирования и in silico MLVA и считывание необработанных последовательностей.
		8.3 Теоретические выводы, модели, выявленные взаимосвязи и закономерности доказаны и подтверждены экспериментальным исследованием (для направлений подготовки по педагогическим наукам результаты доказаны на основе педагогического эксперимента): 1) <u>да</u> ; 2) нет	8.3 Теоретические выводы, модели, установленные зависимости и законы доказаны и подтверждены экспериментальными исследованиями.
		8.4 Важные утверждения подтверждены/частично подтверждены/не подтверждены	8.4 Важные утверждения подкреплены ссылками примерно на 204 достоверными научными источниками, в том числе 87% англоязычной литературы.

		ссылками на актуальную и достоверную научную литературу	
		8.5 Используемые источники литературы достаточны/не достаточны для литературного обзора	8.5 Список литературы достаточен для обзора литературы.
9	Принцип практической ценности	9.1 Диссертация имеет теоретическое значение: 1) да; 2) нет	диссертация обладает высоким теоретическим значением, поскольку вносит вклад в развитие теоретических основ молекулярной эпидемиологии и предоставляет новые методологические инструменты для исследования бактериальных инфекций.
		9.2 Диссертация имеет практическое значение и существует высокая вероятность применения полученных результатов на практике: 1) <u>да</u> ; 2) нет	Да, диссертация имеет высокое практическое значение, и полученные результаты могут быть применены на практике. Депонирование данных в международную базу данных - обеспечивает доступность и удобство использования полученных полногеномных данных для научного сообщества и специалистов в области молекулярной эпидемиологии. Оптимизация схемы MLVA типирования позволяет сократить затраты и время на генотипирование штаммов, имеет прямое практическое применение в медицинских и ветеринарных лабораториях для более эффективного контроля за распространением инфекции. Составление карт распределения генотипов предоставляет важную информацию для эпидемиологического мониторинга на территории Казахстана, а также для разработки и реализации мер по предотвращению и контролю за туляремией. Полученные данные и методы могут быть использованы специалистами общественного здравоохранения, ветеринарными врачами и другими заинтересованными сторонами для улучшения контроля за инфекционными болезнями и обеспечения общественного здоровья.
		9.3 Предложения для практики являются новыми? <b>1) полностью новые;</b> 2) частично новые (новыми являются 25-75%);	9.3 Предложения для практики являются полностью новыми.



		3) не новые (новыми являются менее 25%)	
10.	Качество написания и оформления	Качество академического письма: <b>1) высокое;</b> 2) среднее; 3) ниже среднего; 4) низкое.	Качество академического письма хорошее, соответствует стандартам научного языка, содержат четко сформулированные мысли, логически связанные абзацы. Хотя допущены повторений и излишнего употребления однотипных слов и выражений.

### Решение официального рецензента

Ходатайствовать перед Комитетом по обеспечению качества в сфере образования и науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан о присуждении докторанту Кайржановой Алма Дуйсенбайкызы степени доктора философии (PhD).

### Официальный рецензент:

Доктор ветеринарных наук, профессор,  
заведующий лабораторией экологии  
вирусов НПЦ микробиологии и  
вирусологии



Кыдырманов Айдын Исагалиевич

29.03.2024 г.

