

Institute of Hygiene and Infectious Diseases of Animals
Frankfurter Str. 85-89, 35392 Gießen

Edit: Prof. Christa Ewers

To whom it may concern

Frankfurter Str. 85-89, 3539s Gießen
Fon: +49 641 99-38300 | Fax: +49 641 99-38309
christa.ewers@vetmed.uni-giessen.de
www.uni-giessen.de/fbz/fb10

6 June 2023

REVIEW

**of a foreign scientific consultant on the dissertation work of Kairzhanova Alma Duisenbaykyzy
on the topic: "Genetic diversity of *Francisella tularensis* strains circulating in Kazakhstan"**

**submitted for the degree of Doctor of Philosophy (PhD) in veterinary sciences in the specialty
8D09101- Veterinary welfare of animals.**

Tularemia is a zoonoanthropoctic infection caused by the gamma-proteobacterium *Francisella tularensis*. This acute infectious disease has a pronounced natural foci with periodic epizootics. Currently, there are four recognized subspecies of *F. tularensis*: *tularensis*, *holarctica*, *mediasiatica* and *novicida*. All *F. tularensis* subspecies are distributed in many countries of the Northern Hemisphere.

Francisella tularensis has polyadaptive properties that allow them to parasitize a wide range of animals, both vertebrates and invertebrates. Epizootics accompanied by noticeable death of animals are characteristic of the common vole, water vole, house mouse, and muskrat.

Knowledge of the genotypes of circulating strains is important for epidemiological and epizootic monitoring at the local and global levels. At the local level genotyping allows us to trace the source and routes of infection spread. At the global level, it makes it possible to differentiate a natural outbreak from an artificially induced outbreak resulting from malicious intent and enables us to trace evolutionary changes. Only by studying circulating strains, any conclusions can be drawn about the epidemiology and of this important bacterial species.

The goal of the doctoral student's research was to study the genetic diversity of *Francisella tularensis* strains circulating in Kazakhstan using highly discriminatory methods and to map the distribution of genotypes to improve tularemia control.

As a result of research conducted by Kairzhanova A., MLVA genotyping of 148 strains of *Francisella tularensis* circulating in Kazakhstan was conducted for the first time. Thirty genotypes were identified, it was found that large genotypes combine strains isolated in different geographical areas. Whole-genome data of 39 strains of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* isolated in Kazakhstan from natural water bodies, ticks, rodents, predators and from one migratory bird were obtained for the first time. Two lines, B.4 and B.12, were identified. The study demonstrates a wider

distribution of B.4 genotype in Asia and revealed a more basal branching point in this subclade. The findings support the hypothesis of an Asian origin of *F. tularensis*. The detection of identical genotypes in strains separated in time by decades and thousands of kilometers of geographic distance confirms the bacteria's ability for long-term persistence and rapid spread over long distances. Based on MLVA typing and whole genome data, maps of genotype distribution in the territory of Kazakhstan were made. The results indicate an extensive distribution of strains with identical genotypes. The whole-genome data of *Francisella tularensis* strains were deposited in the international database; the optimal seven-locus MLVA typing scheme was determined, which allows reducing the costs and time for primary genotyping of strains.

The submitted dissertation work on qualification characteristics has a level that absolutely meets requirements for work for the degree of Doctor PhD, is recommended for public defense, and the author Kairzhanova Alma Duisenbaykyzy deserves to be awarded the scientific degree in the specialty 8D09101- Veterinary welfare of animals.

Doctor of Veterinary Sciences,
Professor, Head of the
Institute of Infectious Diseases and Animal Hygiene
Justus-Liebig University Giessen

Prof. Dr. Christa Ewers
Institut für Hygiene
und Infektionskrankheiten der Tiere
der Justus-Liebig-Universität
D-35392 Giessen, Frankfurt
Tel. 0641/99-38300 · Fax 99-38309

ОТЗЫВ

на диссертационную работу зарубежного научного консультанта Каиржановой Алмы Дуйсенбайкызы на тему: «Генетическое разнообразие штаммов *Francisella tularensis* циркулирующих на территории Казахстана», представленную на соискание ученой степени доктора философии (PhD) по ветеринарным наукам по специальности 8D09101- «Ветеринарное благополучие животных».

Туляремия - зооантропонозная инфекция, вызываемая гамма-протеобактерией *Francisella tularensis*. Это острое инфекционное заболевание имеет выраженную природно-очаговую природу с периодическими эпизоотиями. В настоящее время существует четыре признанных подвида *F. tularensis*: *tularensis*, *holarctica*, *mediasiatica* и *novicida*. Все подвиды *F. tularensis* распространены во многих странах Северного Полушария.

F. tularensis обладают полиадаптивными свойствами, которые позволяют им паразитировать на широком спектре животных, как позвоночных, так и беспозвоночных. Эпизоотии, сопровождающиеся заметной гибелью животных, характерны для обыкновенной полёвки, водяной полёвки, домовой мыши, ондатры.

Знание генотипов циркулирующих штаммов важно для эпидемиологического и эпизоотического мониторинга на местном и глобальном уровнях. Генотипирование на локальном уровне позволяет проследить источник и пути распространения инфекции. На глобальном уровне это позволяет отличить естественную вспышку от искусственно вызванной вспышки, вызванной злым умыслом, и позволяет проследить эволюционные изменения. Только изучая циркулирующие штаммы, мы можем сделать какие-либо выводы.

Целью исследования докторанта было изучение генетического разнообразия штаммов *Francisella tularensis* циркулирующих в Казахстане, с использованием высоко дискриминативных методов и картирование распределения генотипов для улучшения контроля туляремии.

В результате исследований Каиржановой А. впервые было проведено MLVA (мультилокусный анализ VNTR-повторов) - генотипирование 148 штаммов *Francisella tularensis*, циркулирующих в Казахстане. Выявлено 30 генотипов, установлено, что крупные генотипы объединяют штаммы, изолированные в разных географических районах. Полногеномные данные 39 штаммов *Francisella tularensis subsp. holarctica*, выделенных в Казахстане из природных водоемов, клещей, грызунов, хищников и от одной перелетной птицы, получены впервые. Были идентифицированы две линии: В.4 и В.12. Исследование демонстрирует более широкое распространение генотипа В.4 в Азии и выявило более базальную точку ветвления в этом субкладе. Полученные данные подтверждают гипотезу азиатского происхождения *F. tularensis*. Обнаружение идентичных генотипов у штаммов, разделенных во времени десятилетиями и тысячами километров географического расстояния, подтверждает способность бактерий к длительной персистенции и быстрому распространению на большие расстояния.

На основе MLVA-типирования и полногеномных данных составлены карты распространения генотипов на территории Казахстана. Результаты указывают на обширное распространение штаммов с идентичными генотипами. Полногеномные данные штаммов *Francisella tularensis* введены в международную базу данных; определена оптимальная семилокусная схема типирования MLVA, позволяющая сократить затраты и время на первичное генотипирование штаммов.

Представленная диссертационная работа по квалификационным характеристикам имеет уровень, соответствующий требованиям к работе на соискание ученой степени доктора PhD, рекомендована к общественной защите, а автор Каиржанова Алма

Дуйсенбайкызы заслуживает присуждения ученой степени по специальности 8D09101-
«Ветеринарное благополучие животных».



Дәлелдендірілгендігі
Тексерілгендігі және
Мөрленгендігі
Нотариус

Доктор ветеринарных наук,
Профессор, заведующий лабораторией
гигиены животных и инфекционных
заболеваний
Университета Юстуса Либиха Гиссен

Криста Эверс (Christa Ewers)

Республика Казахстан, Акмолинская область, город Косшы, двадцатое октября
две тысячи двадцать третьего года, я Омарбеков Мухтар Алдабергенович, нотариус
Акмолинской области, действующий на основании лицензии №13016165, выданной
12.10.2013 года Комитетом регистрационной службы и оказания правовой помощи
Министерства юстиции Республики Казахстан, свидетельствую подлинности подписи
переводчика Мырзаханулы Жанболат.

Личность переводчика установлена, дееспособность и полномочия проверены.



Зарегистрировано в реестре за №1654
Взыскано: согласно ст. 30, 30-1 Закона РК «О нотариате»
Нотариус

Настоящий документ был переведен
компетентным переводчиком

Мырзаханулы Жанболат



ИП SQUARE SERVICE
Тел.: +7771 478 5310
Email: square_service@mail.ru
AST21