

ОТЗЫВ

официального оппонента, кандидата биологических наук, доцента ФГБОУ ВО «Московский государственный университет технологий и управления имени К.Г. Разумовского (ПКУ)» Бычковой Ларисы Ивановны на диссертационную работу Карповой Марианны Алексеевны по теме **«Разработка тест-системы для выявления вируса инфекционного некроза поджелудочной железы лососевых (IPNV) иммуноферментным методом»**, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология; 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

1. Актуальность избранной темы. Анализ данных по эпизоотической ситуации в мире свидетельствует о не снижающейся роли инфекционного некроза поджелудочной железы лососевых в структуре инфекционных заболеваний лососевых в условиях индустриального рыбоводства. Работа посвящена актуальному вопросу разработки метода идентификации вируса *Infectious pancreatic necrosis* в нативной и лиофилизированной культуральной жидкости зараженных клеток, а также в биологическом материале от естественно и искусственно инфицированных рыб.

Инфекционный некроз поджелудочной железы лососевых представляет собой инфекционную болезнь лососевых рыб. Это одна из самых значимых вирусных инфекций для рыбоводческих хозяйств во всем мире. Возбудителем является вирус, относящийся к роду *Aquabirnavirus* из семейства *Birnaviridae*. Клинически IPN оценивается как одно из самых высококонтагиозных болезней в производстве лососевых, вызывающее до 90 % смертности в условиях рыбоводческого хозяйства. Чаще всего поражается молодь радужной форели (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*), американской палии (*Salvelinus fontinalis Walbaum*), кумжи (*Salmo trutta L.*), атлантического лосося (*Salmo salar L.*), и некоторых других видов тихоокеанского лосося (*Oncorhynchus spp.*).

Вх. № 49
18 мая 2018 г.

Движение живой рыбы между хозяйствами несет высокий риск передачи IPNV, поэтому необходим ветеринарный контроль поступающей рыбы. Основное внимание должно быть в периоды, когда рыба наиболее подвержена заболеванию: во время пересадки смолтов из пресной в морскую воду и в течение нескольких месяцев после, до и во время нерестового сезона, при переходе из стадии зародыша в личинку.

Традиционным методом обнаружения IPNV, является вирусная изоляция в клеточной культуре, которая рекомендована в руководстве OIE. С последующим подтверждением иммунологической идентификацией в реакции нейтрализации.

Представленная диссертационная работа Карповой М.А. направлена на разработку иммуноферментной тест-системы и предназначена для идентификации вируса инфекционного некроза поджелудочной железы лососевых рыб. Разработанный метод может стать альтернативой традиционным методам, требующих высококвалифицированного персонала, дорогостоящего оборудования, значительных временных затрат.

2. Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций.

Карпова Марианна Алексеевна провела большую, многоплановую и последовательную работу для достижения цели исследования — разработки иммуноферментной тест-системы для определения вируса инфекционного некроза поджелудочной железы лососевых.

Использованные автором материалы, оборудование и методы исследования позволили ей обеспечить выполнение поставленных задач и дать научное обоснование выводов. Последовательность проведенных опытов, а также использование, как фундаментальных, так и прикладных исследований, применение классических и современных методов исследования, испытания разработанной тест-системы ИФА в лабораторных и производственных условиях характеризуют диссертационную работу Карповой М.А. как законченный труд, а научные положения, выводы и рекомендации вполне обоснованными.

3. Достоверность и новизна научных положений.

Автором разработана отечественная тест-система на основе твердофазного «сэндвич» варианта ИФА

для определения вируса *Infectious pancreatic necrosis* в нативной и лиофилизированной культуральной жидкости зараженных клеток, а также в биологическом материале от естественно и искусственно инфицированных рыб.

Обоснованность результатов, выдвинутых соискателем, основывается на согласованности данных эксперимента и научных выводов.

Положительной оценки заслуживает применение автором комплекса методов, как классической вирусологии, цитологии, так и современной иммунологической и биохимической биологии.

Представленные в работе выводы четко сформулированы и логически соответствуют результатам исследований. Достоверность выводов автора сомнений не вызывает.

4. Ценность для науки и практики проведенной соискателем работы.

Получена новая постоянная отечественная линия клеток OMG из гонад радужной форели, которая паспортизирована и депонирована в Специализированной коллекции перевиваемых соматических культур клеток сельскохозяйственных и промысловых животных Российской коллекции клеточных культур при Всероссийском научно-исследовательском институте экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко. Линии клеток присвоен коллекционный номер 75. Получен Патент РФ на изобретение «Постоянная линия клеток OMG из гонад радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*)».

Полученные автором данные и разработанные методологические подходы являются теоретической базой для конструирования иммуноферментных тест-систем, предусматривающие детекцию антигена.

Автором разработана схема гипериммунизации получения антивидовых сывороток для серологических реакций, а также оптимизированы методы накопления и очистки вируса инфекционного некроза поджелудочной железы лососевых, получения иммунопероксидазного конъюгата.

По материалам исследований диссертантом представлен и утвержден пакет научно-технической документации, что позволит усилить контроль за

распространением инфекционного некроза поджелудочной железы лососевых в РФ.

5 Завершенность диссертации. Диссертационная работа изложена на 118 страницах и включает введение, обзор литературы, собственные исследования (материалы и методы исследования и результаты), заключение, выводы, список литературы. Материалы диссертации иллюстрированы 6 таблицами 6 рисунками. Список литературы включает 180 источников, в том числе 155 иностранных авторов.

Во введении автором обоснованы актуальность, анализ и степень изученности проблемы, поставлены цель и задачи исследований, сформулированы научная новизна, теоретическая и практическая значимость, методология и методы исследований. Положения, выносимые на защиту, и сведения об апробации диссертационной работы представлены в автореферате.

В обзоре литературы изложены данные, характеризующие современное состояние рассматриваемой проблемы.

Собственные исследования выполнены в достаточном объеме экспериментального материала с использованием современных методов. Изложение материалов подчинено внутренней логике исследований.

В разделе «Обсуждение результатов» диссертантом отражена согласованность полученных результатов с литературными данными и научными концепциями в области рассматриваемой проблемы.

В диссертации приведены 8 выводов, которые представляют в достаточном объеме результаты работы и логически вытекают из полученных данных, соответствуют достигнутой цели и поставленным задачам, отражая их успешное решение и завершенность работы. Научные положения, выносимые на защиту, в полной степени отражены в результатах работы и соответствуют паспортам заявленным специальностям 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология; 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

6. Подтверждение опубликования результатов в научной печати.

Основные результаты диссертационного исследования опубликованы в девяти научных работах, в том числе четыре статьи в научных журналах, рекомендованных ВАК РФ, а так же Патент РФ №2495120.

7. Соответствие содержания автореферата материалам диссертации.

Автореферат диссертационной работы Карповой Марианны Алексеевны «Разработка тест-системы для выявления вируса инфекционного некроза поджелудочной железы лососевых (IPNV) иммуноферментным методом», адекватно отражает содержание диссертации, его структура соответствует предъявляемым требованиям.

8. Замечания и вопросы. В процессе ознакомления с диссертационной работой Карповой М.А. возникли следующие вопросы и замечания:

1. В диссертационной работе не четко дано преимущество представленного метода в сравнения его с зарубежными методами.

2. Автором отмечено, что диагностикумы по выявлению вирусных заболеваний в РФ отсутствуют, а какие есть и снова в чем преимущество представленного метода.

3. Автором приведена характеристика 11(12) лиофилизированных штаммов IPN, однако, не указано были они депонированы.

4. При описании метода нейтрализации нет авторских ссылок на методическую часть.

5. В работе имеются отдельные погрешности в стилистике и представлении изложения материала, однако они не существенные и не снижают качество диссертационной работы.

Заключение

Диссертационная работа Карповой Марианны Алексеевны «Разработка тест-системы для выявления вируса инфекционного некроза поджелудочной железы лососевых (IPNV) иммуноферментным методом» является завершенной научно-квалификационной работой, которая по актуальности, новизне, научной и

практической значимости результатов, объему проведенных исследований, завершенности отвечает требованиям «Положения о порядке присуждения ученой степени» (п.9 и п.24), утвержденного Постановлением №842 Правительства РФ от 24.09.2013 г., к предъявляемым кандидатским диссертациям, а ее автор — Карпова Марианна Алексеевна — заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальностям 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология; 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Доцент кафедры «Биоэкологии и ихтиологии» Московского государственного университета технологий и управления им. К.Г. Разумовского (ПКУ),
г. Москва Земляной вал дом 73
тел 8903544-71-35
larabychkova@mail.ru
кандидат биологических наук

Л.И.Бычкова

Подпись *Бычковой Л.И.* заверяю

Заместитель директор
правового и кадрового
Ачмизова Н.М.

