

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
(МИНОБРНАУКИ РОССИИ)

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт  
биологической промышленности»

141142, Московская обл., Щелковский р-н, пос. Биокомбината

Тел/ Факс 8 (49656)7-32-63 e-mail: [vnitibp@mail.ru](mailto:vnitibp@mail.ru)

ИНН 5050007071 КПП 505001001 ОГРН 1035010214436

«\_18\_» \_\_октября\_\_2018 г. №\_\_\_\_\_

Утверждаю

ВРИО директора ФГБН  
«Всероссийский научно-  
исследовательский и  
технологический институт  
биологической промышленности»  
член-корреспондент РАН



С.А. Гринь

«18» октября 2018 года

**ОТЗЫВ**

Ведущей организации ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» на диссертацию Стаффорд Виктории Васильевны «ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНОГО РЕПРОДУКТИВНОГО И РЕСПИРАТОРНОГО СИНДРОМА СВИНЕЙ», представленной к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

Актуальность избранной темы. Чтобы повысить эффективность диагностики и лечения в системе организации противоэпизоотических мероприятий необходимо расширить ассортимент высокоэффективных диагностических средств и методов, лечебных препаратов, пригодных к использованию в лабораторных и полевых условиях. Одним из методов,

Вх. № 93  
19 октября 2018 г.

позволяющих выявить антиген вируса *in vivo* практически сразу же после заражения, является иммуногистохимическое исследование, которое широко применяется за рубежом при диагностике болезней свиней. В нашей стране данное исследование пока не получило широкого применения из-за отсутствия отечественных специфических реагентов и методических основ.

В настоящее время среди болезней особое место занимает репродуктивный и респираторный синдром свиней (РРСС), который имеет широкое распространение во многих странах и причиняет большой экономический ущерб странам с высокоразвитым свиноводством. Подтверждение этиологической роли вируса РРСС при респираторной патологии до настоящего времени является важнейшей задачей. Это объясняется тем, что при диагностических мероприятиях, применяемых на практике, установлены особенности: реакция нейтрализации выявляет вируснейтрализующие антитела к вирусу РРСС только на 45 день от начала инфицирования животного; применяемый метод ПЦР позволяет выявить присутствие вируса, но не дает прямого подтверждения о роли данного вируса в наблюдаемых пораженных органах и тканях.

По настоящее время нет сведений о наличии и применении в отечественной лабораторной практике исследований по патоморфологической характеристике и иммуногистохимической диагностике репродуктивного и респираторного синдрома свиней в условиях эксперимента и при эпизоотическом процессе в свиноводческих хозяйствах. Очевидно, что их наличие и применение позволит сократить временные и материальные издержки при постановке диагноза и, как следствие, повысить эффективность противоэпизоотических мероприятий, проводимых при данном заболевании.

### **Содержание работы.**

Представленная соискателем работа построена по традиционному плану, изложена на 120 страницах компьютерного набора и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, материалов и методов проводимых исследований; содержит экспериментальную часть, заключение и

выводы. В заключительной части диссертации представлен библиографический список используемой литературы, состоящий из 159 источников, из которых 37 – отечественные, 122 зарубежные. Работа иллюстрирована 9 таблицами и 37 рисунками. В приложении представлены копии листов документов, подтверждающих результаты отдельных этапов работы, их научную новизну и практическую значимость.

Во введении, диссертант обосновывает выбор темы и её актуальность, определяет цель и задачи работы, формулирует ее научную новизну и практическую значимость.

В разделе «Обзор литературы» дана характеристика вируса, патогенез, описаны патологоанатомические признаки, дифференциальная диагностика, и особенности иммунного ответа, дана оценка диагностическим методам, подробно изложены методические особенности проведения иммуногистохимических исследований, меры борьбы с болезнью, ветеринарно-санитарные мероприятия.

На основе данных литературы автор анализирует роль вируса в этиологии респираторной патологии животных.

Приведённый обзор отражает настоящее состояние вопроса, одновременно показывает, что диссертант анализирует материал литературы и обосновывает необходимость проведения настоящей работы.

В разделе «Материалы и методы» Стаффорд В.В. представляет методики исследования, руководствуясь наставлениями по лабораторной диагностике болезни, приводит количество и виды животных, подвергнутых исследованию.

В разделе «Собственные исследования» представлены анализ клинических признаков инфекционной патологии при экспериментальном заражении и при естественном инфицировании, результаты лабораторно-диагностических исследований образцов из экспериментального материала и от естественно зараженных животных. Автор диссертации установил, что антиген к вирусу РРСС у экспериментально зараженных поросят выявляется на макрофагах в легких и макрофагах в бронхиальном лимфатическом узле. Исследования

других паренхиматозных органов и образца трахеи показал отрицательный результат. При анализе полученных данных после проведения патоморфологического и иммуногистохимического исследования, было выявлено, что основные патологические изменения сопровождаются накоплением вируса в легких и бронхиальных лимфатических узлах, а изменения, выявленные в других паренхиматозных органах, носят второстепенный характер. Проводимые комплексные диагностические исследования показали схожие данные разработанного диссертантом ИГХ метода с данными ИФА и ПЦР. Метод иммуногистохимического выявления вируса репродуктивного и респираторного синдрома свиней в тканях инфицированных животных дополняет и расширяет возможности лабораторной диагностики болезней свиней и отвечает на вопрос этиологии респираторной патологии свиней.

В разделе «Обсуждение», соискатель обобщил результаты исследований по изучаемым вопросам и провел сравнительный анализ данных. Это позволило сделать заключение, что внедрение в практику разработанных автором методик будет способствовать обеспечению эпизоотологического благополучия, улучшению качества ветеринарной диагностики РРСС в хозяйствах Российской Федерации.

В приложении представлены документы, утвержденные в установленном порядке.

Работа завершается 6 выводами, которые логически вытекают из результатов выполненной работы, и практическими предложениями.

### **Научная новизна.**

Применение иммуногистохимического метода позволило расширить и уточнить данные патоморфологических исследований органов свиней при естественной и экспериментальной инфекции РРСС. Определены гистоморфологические изменения в паренхиме и строме легкого, бронхиальных лимфатических узлов и других паренхиматозных органах при

экспериментальном заражении и естественном инфицировании. Прослежена динамика диссеминации возбудителя в организме свиней. Разработан метод иммуногистохимической диагностики РРСС, на основе отечественных моноклональных антител 4h7h9. Данные моноклональные антитела к капсидному белку вируса РРСС позволяют выявить возбудителя болезни в органах и тканях свиней при заражении европейским и американским типами вируса. Иммуногистохимическое исследование может служить в качестве подтверждения данных патологоморфологических исследований и использоваться как дополнительный метод диагностики РРСС.

### **Практическая значимость работы.**

Результаты исследований диссертанта представляют теоретическую и практическую ценность по использованию новых знаний для диагностики и оптимизации противоэпизоотических мероприятий против РРСС в хозяйствах Российской Федерации.

Результаты исследований Стаффорд В.В. использованы при составлении научно-нормативных документов, утверждённых в установленном порядке.

Регламент проведения иммуногистохимической диагностики РРСС апробирован при проведении диагностических исследований в хозяйствах, неблагополучных по респираторным и репродуктивным заболеваниям свиней. На основе анализа экспериментального материала и образцов, полученных из свиноводческих хозяйств, неблагополучных по респираторным патологиям и имеющих проблемы воспроизводства, разработана методика выявления вируса РРСС в органах и тканях больных и экспериментально зараженных свиней с использованием отечественных моноклональных антител. Разработаны методические указания по иммуногистохимической диагностике РРСС свиней, которые утверждены на Секции зоотехния и ветеринария отделения сельскохозяйственных наук РАН от 01.12.16. Выдан патент на изобретение «Способ диагностики репродуктивного респираторного синдрома свиней непрямым иммуногистохимическим анализом на основании моноклональных антител» № 2645114. Метод является важным звеном комплексной

диагностики, позволяющей определить этиологическую роль вируса РРСС, что дает основание для выбора стратегии иммуноспецифической профилактики.

#### **Апробация результатов исследования и публикации работ.**

Работа выполнялась в рамках государственного задания №0578-2015-0001 «Разработать метод применения непрямого иммуногистохимического исследования в органах и тканях свиней для диагностики репродуктивного респираторного синдрома свиней и цирковирусной инфекции свиней 2 типа». Полученные в ходе работы данные представлены на ежегодных отчетах Ученого Совета ФГБНУ ВИЭВ и апробированы на IV международной конференции «Инновационные разработки молодых ученых - развитию агропромышленного комплекса», ВНИИОиК, Ставрополь 2016; VII International Scientific Agriculture Symposium "Agrosym 2016" Босния и Герцеговина, Ягорина 2016; 97th Annual Conference of Research Workers in Animal Diseases, США Чикаго (Иллинойс) 2016; VII Международном ветеринарном конгрессе, Уфа 2017.

По материалам диссертации опубликовано 13 работ, в том числе 1 методическое указание, в том числе – 5 в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

#### **Замечания по работе.**

Принципиальных замечаний по содержанию и оформлению диссертационной работы нет. Ведущая организации просит автора диссертации пояснить, почему в методике проведения иммуногистохимического анализа не проводится пермеабилзация клеток, за счет каких особенностей этого не требуется. Что порекомендует диссертант исследователям, чтобы избежать возможного нарушения структуры наиболее чувствительных антигенов при фиксации препаратов широкоприменяемыми для этих целей химическими веществами.

#### **Значимость результатов исследований диссертанта для науки и производства**

При исследовании патологического материала от свиней, предложенная диссертантом отечественная тест-система иммуногистохимического выявления

вируса репродуктивного и респираторного синдрома может быть использована при проведении иммуногистохимической диагностики со всеми типами вируса. Метод, позволяющий выявить антиген вируса *in vivo* практически сразу же после заражения, - это иммуногистохимическое исследование, которое широко применяется за рубежом при диагностике болезней свиней. Использование разработанных автором методических приёмов позволит повысить результативность исследований патологического материала, сократить время диагностических исследований, своевременно поставить диагноз. Применение в ветеринарной практике РФ разработанных диссертантом методических положений позволит более современными методами проводить комплексные диагностические исследования и осуществлять необходимые лечебно-профилактические мероприятия. Автором диссертации определена целесообразность использования комплексной диагностики РРСС с использованием ИГХИ. Получение новых данных о ключевой роли рецепторной специфичности в патогенезе данного заболевания вызывает необходимость определения тканевого тропизма новых естественно возникающих и модифицированных штаммов вируса РРСС. Таким образом, разработанный подход к комплексной диагностике РРСС с использованием ИГХИ будет использован в будущем в фундаментальных и прикладных исследованиях, направленных на искоренение РРСС.

### **Заключение.**

На основании анализа материалов диссертации можно сделать вывод, что работа выполнена на современном методическом уровне, содержание автореферата отражает материалы, изложенные в диссертации.

Диссертация Стаффорд В.В. является научной квалификационной работой, в которой содержится решение задач по совершенствованию комплексной лабораторной диагностики РРСС, исследованию патоморфологических и иммуногистохимических характеристик репродуктивного и респираторного синдрома свиней в условиях эксперимента и при эпизоотическом процессе в свиноводческих хозяйствах.

На основании анализа материалов, изложенных в диссертации, считаем, что представленная работа по актуальности, новизне и практической значимости полученных результатов, методическому уровню, объёму выполненных исследований отвечает требованиям пункта 24 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым ВАК РФ к кандидатским диссертациям, а её автор, Стаффорд Виктория Васильевна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

Отзыв заслушан, рассмотрен и одобрен на заседании сотрудников отдела молекулярной биологии и вирусологии ФГБНУ «ВНИТИБП» (протокол № 7 от 17 октября 2018 г.)

18.10.2018 г.

Заведующая отделом  
молекулярной биологии и вирусологии,  
доктор биологических наук,  
профессор, Лауреат Премии  
Правительства РФ  
в области науки и техники

Матвеева Ирина Николаевна

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности», (ФГБНУ «ВНИТИБП»),

141142, Московская обл., Щелковский р.-н, пос. Биокомбината, дом 17,

e-mail: [vnitibp@mail.ru](mailto:vnitibp@mail.ru) , тел.(496) 56-7-32-63, (495)526-43-74

Подпись Матвеевой И.Н. удостоверяю:

Учёный секретарь  
ФГБНУ «ВНИТИБП»

Фролов Юрий Дмитриевич