

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию **Шемельковой Галины Олеговны** **«Выделение и анализ биологических свойств аденовируса крупного рогатого скота в качестве компонента инактивированной комбинированной вакцины»**, представленную к защите в диссертационный совет Д 006.033.02 на базе ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.02 - «Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология».

Актуальность темы диссертационной работы

Аденовирусная инфекция крупного рогатого скота является актуальной инфекционной патологией, наносящий значительный ущерб промышленному животноводству. Взрослые животные часто болеют бессимптомно, являясь при этом источником возбудителя для молодняка. Наиболее остро болезнь протекает у телят в возрасте 2-3 недель и сопровождается повышением температуры тела, конъюнктивитами, поражением органов респираторного и/или желудочно-кишечного тракта.

Кроме того, аденовирусы обладают выраженным иммунодепрессивным действием, способствуя развитию других инфекционных патологий.

Ввиду значительного генетического разнообразия аденовируса КРС, представители которого классифицированы в два разных рода, затруднена диагностика данного заболевания.

Не смотря на довольно широкое распространение аденовируса КРС, на момент начала исследований Шемельковой Г.О. в нашей стране отсутствовали зарегистрированные вакцинные препараты, предназначенные для специфической профилактики аденовирусной инфекции КРС.

Таким образом, проведенные исследования, результатом которых стало выделение и изучение полевого изолята аденовируса КРС, разработка

диагностической тест системы ПЦР и инактивированной комбинированной вакцины, содержащей аденовирусный компонент, являются актуальными и представляют существенный практический и научный интерес.

Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Диссертационная работа выполнена на высоком методическом уровне с применением современных методов исследований и обработки полученных данных.

В работе были использованы вирусологические, биотехнологические (культуральные), серологические, клинические, молекулярно-биологические и другие методы исследований с использованием современного сертифицированного оборудования.

В ходе проделанной работы автором было проведено большое количество разноплановых исследований и экспериментов направленных на выделение вируса из полевого материала, его идентификацию, отработку методов промышленного культивирования выделенного вируса, разработку диагностической тест-системы ПЦР, оценку эпизоотической ситуации, сравнительную оценку различных адъювантов, разработку комбинированной семикомпонентной вакцины, в результате которых были получены значительные объемы данных, позволяющие сделать заключение об обоснованности научных положений и выводов.

Статистическая обработка полученных результатов проведена по общепринятым методикам.

Таким образом, сформулированные в диссертации выводы и заключение вытекают из ее содержания, базируются на большом объеме исследований и экспериментальных данных, являются логическими и обоснованными и не вызывают сомнений в своей достоверности.

Научная новизна работы.

В ходе проведенных исследований диссертантом был выделен и адаптирован к перевиваемой культуре клеток полевой штамм аденовируса КРС I–го типа, изучены его биологические, в том числе антигенные свойства.

Была разработана родоспецифическая тест-система ПЦР для выявления ДНК аденовируса КРС.

Автор представил новые обобщенные данные о распространенности основных вирусных респираторных и желудочно-кишечных болезней телят в период с 2010 по 2019 годы на территории РФ.

Кроме того, приведена сравнительная оценка влияния различных адъювантов (ISA 50, ISA 61, ISA 70, ISA 71, ISA 206, ISA 773, ГОА с добавлением сапонины, ISCOM, полисахаридные адъюванты грибного и растительного происхождения, карбомер 971) на формирование поствакцинального гуморального иммунного ответа у лабораторных и естественно-восприимчивых животных.

Значимость полученных результатов для науки и практики.

Результаты, полученные Шемельковой Г.О. имеют весомое значение для науки и практики, в частности:

- для биологической промышленности был выделен, адаптирован и охарактеризован новый производственный штамм аденовируса КРС I–го типа «Альфа».

- разработана тест-система ПЦР для обнаружения ДНК аденовируса КРС, которая может быть использована при проведении диагностических исследований.

- на основании экспериментальных данных из большого перечня существующих коммерческих и новых экспериментальных разработок выбран адъювант (ISA 61), который зарекомендовал себя как наиболее эффективный и безопасный для конструирования комбинированных противовирусных вакцин для КРС.

- для ветеринарной практики разработана методика получения аденовирусного вакцинного компонента, который вошел в состав семикомпонентной инактивированной комбинированной вакцины против инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, вирусной диареи, респираторно-синцитиальной, рота-, коронавирусной болезней и аденовирусной инфекции крупного рогатого скота КОМБОВАК-А.

- разработаны и обоснованы методы контроля комбинированной вакцины, содержащей аденовирусный компонент и новый адъювант. Экспериментально установлена безвредность, антигенная и иммуногенная активность препарата для лабораторных и естественно-восприимчивых животных и возможность его использования для формирования колострального иммунитета у телят.

Содержание диссертационной работы, ее завершенность и оформление.

Диссертационная работа изложена на 134 страницах и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение полученных результатов, заключение и выводы, практические предложения, рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений, список использованной литературы, приложения. Список литературы содержит 142 источника, из которых 94 зарубежных авторов. Диссертационная работа иллюстрирована 16 рисунками и 16 таблицами.

Введение содержит все необходимые разделы: «Актуальность темы», «Степень разработанности темы исследования», «Цель работы», «Основные задачи исследований», «Научная новизна работы», «Теоретическая и практическая значимость исследований», «Методология и методы исследования», «Личный вклад соискателя», «Степень достоверности и апробация результатов исследования», «Публикации», «Структура и объем диссертации», «Основные положения выносимые на защиту».

Раздел «Обзор литературы» состоит из двух частей. Первая содержит подробную информацию об аденовирусной инфекции крупного рогатого скота, ее возбудителе, патогенезе и клинических проявлениях, патологоанатомических изменениях. Так же описаны методы диагностики, профилактики и лечения данного заболевания. Во второй части описана современная классификация вакцинных препаратов, перечислены основные типы адъювантов, используемые при производстве вакцин, указаны их достоинства и недостатки.

В разделе «Материалы и методы» приведено описание использованных в работе культур клеток и вирусов, экспериментальных животных (вес, количество в группах, способы и дозы вакцинации, указаны сроки крововзятия), методов исследования, в том числе выделение вируса, постановка ПЦР, секвенирование по методу Сэнгера, получение рекомбинантных плазмид.

Результаты собственных исследований автора содержатся в 4, 5, 6 и 7 разделах. Они описывают проведенную работу по выделению, идентификации и изучению свойств аденовируса КРС, отработку условий его культивирования и последующей инактивации, а также включение полученного вируса в состав семикомпонентной вакцины против основных респираторных и кишечных инфекций КРС. Описана разработка родоспецифичной тест-системы ПЦР для выявления ДНК аденовирусов КРС и последующее ее использование для мониторинга эпизоотической ситуации. Так же представлены данные об исследовании 1255 проб сывороток крови на наличие антител к вирусам ИРТ, ВД, ПГ-3, РС, РВ, КВ и АВ.

В разделе «Обсуждение» автор приводит достаточно подробный анализ полученных результатов исследования.

В разделе «Заключение и Выводы» представлены четко сформулированные и обоснованные выводы, полностью отражающие результаты проведенных исследований.

В разделе «Практические предложения» перечислена документация, разработанная на основании проведенных автором исследований.

Автореферат отражает основные результаты диссертационной работы, его содержание соответствует содержанию диссертации. По теме работы опубликованы 4 статьи в научных журналах, в том числе 1 статья в журнале, индексируемом в базе Scopus, 2 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Оценивая положительно представленную к защите диссертационную работу Шемельковой Галины Олеговны, отмечая ее завершенность и практическую значимость, необходимо сделать следующие замечания:

- в работе отсутствуют данные о наличии или отсутствии перекрестной иммуногенности и/или протективной активности вакцинного штамма «Альфа», относящегося к I-му типу аденовирусов КРС, в отношении других типов аденовируса КРС;

- при разработке родоспецифичной тест-системы ПЦР для выявления ДНК аденовируса крупного рогатого скота целесообразно было дополнительно использовать ВКО (внутренний контрольный образец), который добавляется в пробу до выделения ДНК и позволяет снизить вероятность получения ложноотрицательных результатов;

- при изучении нейтрализующей активности антител против вирусов данные представлены таким образом, что затруднительно оценить разброс титров антител у разных животных.

Заключение.

Диссертационная работа Шемельковой Галины Олеговны «Выделение и анализ биологических свойств аденовируса крупного рогатого скота в качестве компонента инактивированной комбинированной вакцины» является завершенной научно-квалификационной работой. Актуальность, научная новизна, практическая значимость и обоснованность полученных результатов полностью соответствует требованиям, предъявляемым к

кандидатским диссертациям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г., а ее автор Шемелькова Галина Олеговна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.02 - «Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология».

Официальный оппонент:

Официальный оппонент,
доктор биологических наук
Заведующий лабораторией молекулярной биотехнологии
ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России
123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18, тел. +7 (499)193 30 01
E-mail: mshmarov@yahoo.com



Шмаров Максим Михайлович

Подпись М.М. Шмарова заверяю:

Ученый секретарь

ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России

кандидат биологических наук



Вожевникова Людмила Кондратьевна