

УТВЕРЖДАЮ

Ректор федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Московская
государственная академия ветеринарной
медицины и биотехнологии – МВА имени
К.И. Скрябина», профессор



С.В. Позябин

2021 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина» на диссертационную работу Шемельковой Галины Олеговны на тему «Выделение и анализ биологических свойств аденовируса крупного рогатого скота в качестве компонента инактивированной комбинированной вакцины», представленной к публичной защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.02 «Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук в диссертационный совет Д 006.033.02 при ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук»

Актуальность темы обусловлена этиологическим значением аденовируса в развитии различных патологий человека, многих видов домашних животных и птиц. Аденовирусная инфекция крупного рогатого скота (КРС) протекает с поражением органов дыхания и пищеварения, глаз, лимфоидной ткани. У взрослых животных, как правило, протекает бессимптомно, при этом они могут являться вирусоносителями и источником возбудителя для телят. Роль аденовируса в патогенезе респираторно-кишечных заболеваний крупного рогатого скота в настоящее время дискутируется.

Классифицировано 11 типов аденовируса крупного рогатого скота, относящихся к родам Mastadenovirus и Atadenovirus, что осложняет диагностику.

Лабораторная диагностика аденовирусной инфекции КРС основывается на применении различных методов, таких как индикация специфических антител в сыворотке крови, выделение вируса в культуре клеток с последующей идентификацией в серологических реакциях, обнаружении вирусного генома при помощи полимеразной цепной реакции.

Чаще аденовирусная инфекция протекает в виде смешанной респираторной и/или желудочно-кишечной инфекции в ассоциации с другими патогенами: вирусами вирусной диареи, инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, респираторно-синцитиальным вирусом, рота- и коронавирусами КРС, пастереллами, эшерихиями, манхемией, микоплазмой и т.д. Ввиду такой полиэтиологичности инфекций и невозможности разграничения ведущей роли того или иного агента в развитии патологии, наиболее эффективным методом специфической профилактики подобных смешанных заболеваний является применение комбинированных вакцин, содержащих антигены сразу нескольких из указанных возбудителей.

В настоящее время существует ряд поливалентных вакцин против двух, трех и более указанных респираторных и/или кишечных вирусных заболеваний телят, но эти вакцины не содержат в своем составе аденовирусный компонент.

Научная новизна

Выделен и адаптирован к перевиваемой культуре клеток полевой штамм аденовируса КРС I-го типа, изучены его биологические, в том числе антигенные свойства. Автором разработана родоспецифическая тест-система на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) для выявления ДНК аденовируса КРС и дифференциации родов Mastadenovirus и Atadenovirus.

Показан различный иммуностимулирующий эффект адьювантов (ISA50, ISA61, ISA70, ISA71, ISA206, ISA773, GOA с добавлением сапонина и экспериментальных разработок: ISCOM, полисахаридные адьюванты грибного и растительного происхождения, а также высокомолекулярного синтетического полиэлектролита (карбомер 971) со смесью поверхностно-активных гликозидов) на формирование поствакцинального гуморального иммунного ответа у лабораторных и естественно-восприимчивых животных при включении их в состав вакцин против инфекционных болезней КРС.

В ходе проведенных исследований был подобран эффективный и безопасный адьювант - ISA61, который вошел в состав семивалентной вакцины.

Практическая значимость работы подтверждена:

1. СТО и Инструкция по применению Тест-системы для выявления аденовируса крупного рогатого скота методом полимеразной цепной реакции;
2. Документация на лекарственный препарат «Вакцина инактивированная комбинированная против инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, вирусной диареи, респираторно-синцитиальной, рота-, коронавирусной болезнью и аденовирусной инфекции крупного рогатого скота (КОМБОВАК-А)»;
3. Инструкция по применению вакцины (утвержденная Россельхознадзором 20 сентября 2018 года);
4. Промышленный регламент 76418883-01-004-2018 производства вакцины «КОМБОВАК-А».

Анализ содержания работы

Материалы диссертационной работы изложены на 134 страницах компьютерного текста, включая введение, обзор литературы, собственные исследования (материалы и методы, результаты, обсуждение), заключение, список сокращений и условных обозначений, список литературы, приложения. Диссертация иллюстрирована 16 рисунками и 16 таблицами. Библиографический перечень содержит 142 источника, в том числе 48 - отечественных и 94 - иностранных. В приложении представлены копии удостоверения о депонировании штамма «Альфа» аденовируса крупного рогатого скота I-го типа; регистрационного удостоверения лекарственного препарата для ветеринарного применения № 005086, подтверждающие достоверность результатов работы, её научную новизну и практическую значимость.

Материалы диссертации легли в основу 4 научных работ, в том числе 2 работы были опубликованы в изданиях, включенных ВАК Минобрнауки в перечень российских рецензируемых научных журналов для опубликования основных научных результатов диссертации, одна работа в журнале, индексируемом в базе SCOPUS.

В «Обзоре литературы» на 32 страницах диссертант проанализировала данные литературы, характеризующие современное состояние вопроса. Однако нет сведений, подтверждающих широкое распространение аденовирусной инфекции на территории Российской Федерации и за рубежом.

Согласно теме диссертационной работы автор выделила аденовирус КРС на перевиваемых культурах клеток почки теленка: Т-1 и MDBK. На основании сведений в базе данных GenBank о строении генома аденовируса КРС диссертант подобрала универсальные праймеры, которые применила для идентификации генотипа вируса,

оптимизировала условия ПЦР. Корректность конструирования плазмид и соответствие встроенных фрагментов ДНК ВAdV-1 или ВAdV-8 (аденовирусы КРС I-го или VIII-го типов) автор проверяла секвенированием по Сэнгеру. Проведен сравнительный анализ полученных положительных результатов с нуклеотидными последовательностями разных типов аденовируса КРС, представленных в базе данных GenBank, показано присутствие 1-го (республика Мордовия), 3-го (Тамбовская обл.), 6-го (Московская обл.), 8-го (Воронежская обл.) типов аденовируса КРС среди положительных образцов.

Также автором в качестве адьюванта для дальнейшей работы был выбран масляный адьювант ISA61.

Завершается практическая часть работы испытанием разработанной семикомпонентной инактивированной комбинированной вакцины против инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, вирусной диареи, респираторно-синцитиальной, рота-, коронавирусной болезней и аденовирусной инфекции крупного рогатого скота на естественно-восприимчивых животных.

Автором с положительным эффектом исследована протективная активность разработанной семикомпонентной инактивированной комбинированной вакцины против инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, вирусной диареи, респираторно-синцитиальной, рота-, коронавирусной болезней и аденовирусной инфекции крупного рогатого скота. Установлено, что введение вакцины вызывает формирование поствакцинального гуморального иммунного ответа у коров, что в свою очередь обеспечивает формирование колострального иммунитета у телят, полученных от вакцинированных животных. Опытным путем определены оптимальные иммунизирующие дозы и схемы вакцинации.

Вопросы и замечания

1 В заключении по обзору литературы автор утверждает о широком распространении аденовирусной инфекции на территории Российской Федерации и за рубежом, однако в самом обзоре эти сведения отсутствуют.

2 Чем Вы можете объяснить, что из 174 исследованных проб смывов с конъюнктивы глаза и слизистой носовой полости из животноводческих хозяйств Центрального Федерального округа РФ, только одна проба оказалась условно-положительной на аденовирус (стр. 59)?

3 Автор на стр. 70 пишет, что чувствительность разработанной тест-системы составляет $5,4 \times 10^3$ мол/мкл для рода Mastadenovirus и $4,3 \times 10^3$ мол/мкл для рода

Atadenovirus. Но из рис. 9 и 10 не ясно, как определяли чувствительность тест-системы. Так как на стр. 70 автор указывает, что «... пределом чувствительности считали последнее разведение плазмиды, при котором наблюдали положительный результат ПЦР...», а в «Материалах и методах» об этом не сказано.

4 Почему моноспецифические референсные антисыворотки к вирусам ИРТ, ПГ-3, ВД, РС, РВ и КВ КРС получены из Центральной ветеринарной лаборатории, Великобритания (стр. 44)?

5 На стр. 72 автор заявляет, что на разработанную тест-систему для обнаружения аденовирусов КРС методом ПЦР подготовлена нормативная документация (Приложения 2, 8). Однако в Приложении есть только Приложения № 1 и № 2.

6 На стр. 73 указано, что при исследовании 1255 проб сыворотки крови КРС только в 26 % исследованных проб обнаружены антитела к аденовирусу. Далее, на стр. 74 указано, что из 124 полевых проб – выявлены в 11,3 % случаев антитела к Mastadenovirus и 7,2 % - к Atadenovirus. Можно ли говорить об этиологической роли аденовируса в симптомокомплексе пневноэнтеритов?

7 Почему на стр. 86 автор утверждает, что большинство из входящих в состав вакцины вирусов патогенны для животных?

Тем не менее, учитывая, что материалы диссертационной работы широко представлены научной общественности на Международной конференции "AGRITECH 2019" (г. Красноярск, 2019 г.); Научно-практической конференции, посвященной 115-летию со дня основания ВИЭВ: «Состояние и перспективы развития ветеринарной науки России», (г. Москва, 2013г.); научно-производственных совещаниях ООО «Ветбиохим» и АНО «НИИ ДПБ» (г. Москва, 2010-2019 гг.); межлабораторном совещании сотрудников ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (г. Москва, 2020 г.), а также тематику печатных работ, можно сделать вывод о практической значимости результатов проведенных Шемельковой Галиной Олеговной исследований.

Заключение

Диссертационная работа Шемельковой Галины Олеговны является законченным научно-исследовательским трудом, по своей актуальности, методическому решению поставленных задач, объему экспериментальных исследований, научной новизне и практической значимости рассматриваемая диссертационная работа соответствует требованиям п. 9 положения о порядке присуждения ученых степеней ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациями, а ее автор, Шемелькова Галина

Олеговна, заслуживает присвоения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Отзыв рассмотрен и одобрен на совещании сотрудников кафедры радиобиологии и вирусологии имени академиков А.Д. Белова и В.Н. Сюрин федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», протокол № 8 от 11 мая 2021 г.

И.о заведующего кафедры радиобиологии
и вирусологии имени академиков
А.Д. Белова и В.Н. Сюрин
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
образования «Московская государственная
академия ветеринарной медицины
и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»
(109472, Москва, ул. Академика Скрябина,23)
Доктор биологических наук

Елена Игоревна Ярыгина

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина» (ФГБОУ ВО МГАВМиБ - МВА имени К.И. Скрябина)

Адрес: 109472, г. Москва, ул. Академика Скрябина,23, тел. (495) 377-49-39, (495) 377-92-86, www.mgavm.ru, e-mail: rector@mgavm.ru

Подпись

Е.И. Ярыгина

заверяю Начальник административного отдела

Демешова Е.В.

"12" мая 2021 г.

