

ОТЗЫВ

официального оппонента кандидата ветеринарных наук Шотина Андрея Романовича на диссертационную работу Коминой Алины Константиновны на тему: «Генетическое разнообразие и биологические свойства парвовирусов свиней, циркулирующих на территории Российской Федерации», представленную к защите в диссертационный совет 24.1.249.01 на базе ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 4.2.3 – Инфекционные болезни и иммунология животных и 1.5.10 – Вирусология.

1. Актуальность темы исследования

Парвовирусная инфекция свиней (ПВИС), вызываемая парвовирусом свиней 1 вида (ПВС1), является одной из причин репродуктивных потерь в свиноводстве, проявляясь у свиноматок, вызывая мертворождения, мумификацию плодов, эмбриональную смертность и бесплодие и нанося значительный экономический ущерб. В последние годы ситуация осложнилась появлением антигенных вариантов ПВС1 (27а-подобные штаммы), способных преодолевать иммунный ответ, индуцированный вакцинами, созданными на основе гетерологичных штаммов (NADL-2, NADL-7). Одновременно с этим с помощью современных методов секвенирования и метагеномного анализа во всем мире обнаружены еще семь видов парвовирусов свиней (ПВС2–ПВС8), циркулирующих как у домашних свиней, так и в популяциях диких кабанов. Патогенный потенциал большинства из этих вирусов остается невыясненным, а попытки их культивирования *in vitro* до настоящего времени были единичными и безуспешными. В Российской Федерации данные о циркуляции ПВС1 устарели, а исследования по выявлению ПВС2–ПВС8 не освещались. В связи с

Вх. №

54

17.04.2026

этим диссертационная работа Коминой А.К., направленная на комплексное изучение распространенности, генетического разнообразия и биологических свойств всех различных видов парвовирусов свиней на территории России, является, несомненно, актуальной, имеющей как фундаментальное, так и прикладное значение.

2. Достоверность результатов, обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций

Достоверность полученных результатов обеспечена значительным объемом проанализированного А.К. Коминой клинического и патологического материала, использованием современных молекулярно-генетических и вирусологических методов. Представленные в диссертационной работе научные положения и выводы логически вытекают из результатов собственных исследований соискателя. Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на двух научно-практических конференциях. По материалам диссертационной работы опубликовано четыре научных работы, из них одна статья в журнале, рекомендованном ВАК РФ, и три статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в международной базе Scopus и Web of Science.

Выводы диссертационной работы обоснованы, четко сформулированы и вытекают из результатов исследований.

3. Научная новизна исследования

Коминой А.К. впервые на обширном материале проведено системное исследование циркуляции семи видов парвовирусов свиней. Получены новые для России данные: показано присутствие ПВС1–ПВС7 как в промышленных свинокомплексах, так и в популяции дикого кабана в различных регионах страны. Впервые определены 41 нуклеотидная последовательность ОРС2 для изолятов

ПВС1–ПВС7, которые депонированы в базе данных «GenBank». С помощью филогенетического анализа установлено, что отечественные изоляты ПВС1 относятся к двум кластерам – PPV1b (27а-подобные) и PPV1d (Kresse-подобные), причем впервые для нашей страны показано доминирование 27а-подобных штаммов.

Важной частью исследования являлась работа по выделению в различных культурах клеток одних из самых распространенных в РФ видов – ПВС5 и ПВС6. Для ПВС5 впервые показана чувствительность первичной культуры клеток тестикул поросенка (ТП), для ПВС6 – перевиваемых линий СПЭВ и ПС. Охарактеризованы морфологические изменения в инфицированных клетках, включая образование симпластов, вакуолизацию цитоплазмы, маргинацию хроматина. Эти результаты открывают возможности для дальнейшего изучения патогенеза новых парвовирусов *in vitro* и *in vivo*.

4. Теоретическая и практическая значимость исследования

В ходе диссертационной работы А.К. Коминой подобраны системы праймеров и зондов для проведения ПЦР-РВ и оптимизированы условия проведения реакций для обнаружения ДНК парвовирусов ПВС2-ПВС7, а также сконструированы рекомбинантные положительные контрольные образцы, которые могут быть использованы в диагностических лабораториях и научных центрах для проведения диагностических и научно-исследовательских работ. Автором проведено системное исследование циркуляции не только классического ПВС1, но и шести «новых» видов парвовирусов свиней (ПВС2-ПВС7), не исследованных в России ранее. Продемонстрировано их широкое распространение как в промышленных свиноводческих хозяйствах (обнаружены в 67,7% обследованных свиноводческих площадок), так и в популяции дикого кабана (выявлены у 87,6% особей). Кроме того полученные данные о генетическом разнообразии ПВС1 (выявление 27а-подобных штаммов)

являются основанием для пересмотра стратегии специфической профилактики в российских свиноводческих хозяйствах. Проведенные соискателем исследования позволили получить 41 нуклеотидную последовательность изучаемых парвовирусов свиней, включая 24 полных нуклеотидных последовательностей ОРС2 изолятов ПВС1, по три полных нуклеотидных последовательностей ОРС2 изолятов ПВС2, ПВС3 и ПВС7, 2 последовательности от изолятов ПВС6, а также 2 полные и 4 частичные последовательности ОРС2 изолятов ПВС5. Все полученные нуклеотидные последовательности депонированы в международную базу данных «GenBank», что расширяет глобальные знания о парвовирусах свиней.

Депонированные штаммы «PPV5-Moscow-4060» и «PPV6-Kem-8» во Всероссийскую коллекцию патогенных и вакцинных штаммов микроорганизмов (ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН) могут послужить референтными образцами при разработке средств диагностики и профилактики парвовирусной инфекции свиней.

5. Оценка содержания, завершенность работы и качество ее оформления

Диссертация соискателя оформлена согласно ГОСТ Р 7.0.11-2011 «Диссертация и автореферат диссертации. Структура и правила оформления», изложена на 130 страницах и проиллюстрирована 19 рисунками и 9 таблицами. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, главы собственных исследований, обсуждения, заключения, раздела с рекомендациями и перспективами дальнейшей разработки темы, списка литературы (156 источников, из них 137 иностранных) и приложений.

В разделе «Введение» автором обоснована актуальность темы исследования, определены цель, задачи работы, методология исследования, сформулированы положения, выносимые на защиту, научная новизна,

теоретическая и практическая значимость работы, апробация результатов исследования и личный вклад автора.

Обзор литературы соответствует теме диссертации. Представленная информация отражает современные знания о классификации, эпизоотологических и молекулярно-биологических особенностях и патогенезе различных видов парвовирусов свиней, а также об эволюции, диагностике и профилактике ПВС1.

Раздел «Материалы и методы» содержит подробную информацию об исследуемом материале, используемом оборудовании и реактивах, а также применяемых молекулярно-генетических, вирусологических, биоинформатических и статистических методах исследования, что свидетельствует о высоком научно-методическом уровне работы.

В разделах, посвященных результатам исследований и их обсуждению, материал изложен последовательно в соответствии с поставленными задачами. Данные главы содержат информацию об оптимизации ПЦР-РВ систем для детектирования ПВС2-ПВС7, данные о распространенности ПВС1–ПВС7 среди домашних свиней и диких кабанов, филогенетический анализ изолятов ПВС1-ПВС7, анализ аминокислотных замен в капсидных белках ПВС1 и результаты выделения в культурах клеток ПВС5 и ПВС6 с их морфологической характеристикой. Каждый этап исследования сопровождается таблицами и рисунками, что подчеркивает информативность диссертационной работы.

В конце диссертации представлено заключение, содержащее основные выводы по теме исследования, практические предложения и перспективы дальнейшей разработки темы. Выводы диссертации четко сформулированы, обоснованы и соответствуют полученным данным.

Диссертация Коминой А.К. является завершенной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком методическом уровне. В автореферате отражены основные результаты диссертационной работы.

Все вышеизложенное позволяет дать работе положительную оценку. При этом, в процессе анализа автореферата и диссертационной работы возникли следующие вопросы и замечания:

1. В приложениях 1 и 2 диссертации необходимо было указать ссылки на работы, где впервые представлены последовательности олигонуклеотидов;

2. Автор утверждает, что изолят BelWB57 «образовал отдельную ветвь, которая не входит ни в один из выделенных кластеров». Однако согласно дендрограмме (рисунок 6) значение бутстреп-поддержки для данной ветви составляет всего 3. Такое крайне низкое значение не позволяет считать выделение данной ветви статистически достоверным. В филогенетическом анализе значения бутстреп ниже 70 принято интерпретировать как отсутствие надежной поддержки топологии. Следовательно, утверждение о формировании изолятом BelWB57 обособленной ветви не подтверждено представленными данными. Фактически данный изолят мог бы оказаться внутри одного из известных кластеров при незначительном изменении выравнивания или метода построения дерева;

3. В разделах 3.5 автореферата и 3.4 диссертации соискателем представлен анализ аминокислотных последовательностей двух белков VP1 и VP2. Однако в задачах исследования и выводах автор делает упор на белок VP1, белок VP2 даже не упоминает. Прошу пояснить, почему в задачах и выводах акцент сделан именно на белок VP1, ведь именно белок VP2 составляет капсид вириона, обеспечивает прикрепление вируса к клетке-мишени, ответственен за синтез вируснейтрализующих антител и является основным фактором вирулентности?

4. В разделах «Актуальность» и «Обзор литературы» соискатель широко освещает проблему ПВС8, упоминая его на равне с другими видами парвовируса свиней (ПВС1-ПВС7). При этом в заключении раздела «Обзор литературы», «Цель работы», «Обсуждение» и «Перспективы дальнейших

исследований» автор игнорирует проблему ПВС8, который широко распространен в Китае, а также Венгрии и Словакии (Igriczi B, et al. / First Report of Porcine Parvovirus 8 in Europe: Widespread Detection and Genetic Characterization on Commercial Pig Farms in Hungary and Slovakia / 2024). Почему ПВС8, упомянутый во введении, был исключён из экспериментальной части? Если это было связано с отсутствием референсных образцов или праймеров – почему это не было оговорено? Планируете ли вы в будущем исследовать ПВС8 на территории России, учитывая его обнаружение в соседних странах?

5. В одной из работ соискателя (Anoyatbekova A, Komina A, Vlasova N, et al. / Molecular Detection of Porcine Parvovirus 5 in Domestic Pigs in Russia and Propagation of Field Isolates in Primary Porcine Testicular Cells / 2025) указано, что перед выделением ДНК проводилось объединение сыворотки по 5 штук. Однако, в тексте диссертации данные сведения отсутствуют, а сама инструкция к набору (производитель ООО Ветбиохим) не подразумевает возможность исследования объединенных проб. Прошу пояснить каким образом вы поступали при получении положительных результатов, проводилась ли верификация тест-системы на возможность исследования объединенных проб, для каждого вида ПВС проводилось свое выделение или одно на все постановки ПЦР?

6. При выделении ПВС 5 и ПВС 6 автор использовал материал с свиноводческих площадок, где также регистрировали циркуляцию ПВС других видов, которые возможно могут реплицироваться в перевиваемых культурах клеток и вызывать сходные цитопатические изменения. Это ставит вопрос: насколько корректно связывать наблюдаемое ЦПД именно с изучаемыми видами ПВС, если не исключено присутствие в образце других парвовирусов и иных возбудителей?

7. Автор использует всего две возрастные группы диких кабанов: «молодые (до 1 года)» и «взрослые (старше 1 года)», хотя в ряде работ по парвовирусам (в том числе тех, на которые автор ссылается для сравнения)

применяется более детальная градация, например: до 6 месяцев, 6–18 месяцев, старше 18 месяцев и другие. Использование только двух групп (с пороговым возрастом 1 год) может нивелировать различия в распространенности ПВС, особенно если какие-то виды чаще встречаются у подсвинков (6–12 мес.) или у молодых взрослых (1–2 года). С чем связано выбранное вами деление?

8. В выборке диких кабанов с известным полом соотношение самцов и самок составило 53 / 22. Автор не комментирует это отклонение от ожидаемого соотношения ~1:1, которое обычно характерно для многих популяций диких кабанов (при отсутствии внешних факторов). Связано ли это с методикой отбора проб, сезоном, региональными особенностями, или же признать это ограничением исследования? Если отбор проб был неслучайным (например, преобладание самцов связано с особенностями отстрела или доступности материала), это могло повлиять на сформулированные выводы.

Высказанные замечания и вопросы не снижают высокой научной ценности диссертационной работы.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней.

Диссертационная работа по своей актуальности, научной новизне, объему проведенных исследований, достоверности и обоснованности научных положений и выводов, публикациям, в которых изложены ее основные научные результаты, теоретической и практической значимости соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям в соответствии с п. 9-11, 13, 14 Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (ред. от 16.10.2024) «О порядке присуждения учёных степеней» (вместе с «Положением о присуждении ученых степеней»), а ее автор, Комина Алина Константиновна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата

