

## Отзыв

официального оппонента на диссертацию **Спрыгина Александра Владимировича** «Заразный узелковый дерматит КРС: генодиагностика и изучение потенциальных переносчиков на территории Российской Федерации», представленную к публичной защите в диссертационный совет 36.1.002.01 при ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности: 1.5.10 – «Вирусология»

**Актуальность темы диссертации.** Диссертация Спрыгина Александра Владимировича посвящена разработке молекулярно-генетических методов диагностики заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота и изучению потенциальных переносчиков возбудителя на территории Российской Федерации.

Актуальность темы диссертационной работы не вызывает каких-либо сомнений. Несмотря на то, что с момента регистрации заразного узелкового дерматита в качестве нозологической единицы прошло более 90 лет и то, что до недавнего времени заболевание считалось эндемичным для африканского континента, ареал его распространения в мире, в том числе в Российской Федерации в последние годы расширяется стремительными темпами, а интерес к вирусу, вызывающему заболевание, не только не ослабевает, но и продолжает активно нарастать. Это обусловлено: отсутствием эффективных диагностических тест-систем; данными о филогенетических связях между изолятами вируса заразного узелкового дерматита, циркулирующими среди крупного рогатого скота в России, а также – о спектре потенциальных переносчиков для трансмиссивной передачи вируса в разных географических и климатических зонах России.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.** К моменту начала исследований по теме диссертации Международным эпизоотическим бюро была рекомендована классическая полимеразная цепная реакция для идентификации генома капripоксвирусов (Ireland & Vinopal, 1998), отечественных диагностических тест-систем не было разработано, что препятствовало проведению масштабных мониторинговых исследований по изучению распространения вируса среди крупного

рогатого скота на территории Российской Федерации. Кроме того, отсутствовали научные данные о спектре возможных переносчиков вируса в различных географических и климатических зонах Российской Федерации.

В этой связи разработка и внедрение в практику комплекса методов идентификации и дифференциации возбудителя заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота на основе анализа его генома, выяснение филогенетических связей изолятов вируса, циркулирующих среди крупного рогатого скота в Российской Федерации, а также – изучение потенциальных переносчиков вируса в различных географических и климатических зонах России, является актуальным и имеет большое научное и практическое значение.

Для достижения данной цели автору необходимо было решить следующие задачи:

- разработать скрининговую тест-систему на основе полимеразной цепной реакции в реальном времени для выявления генома каприпоксвирусов;
- разработать тест-систему на основе полимеразной цепной реакции в реальном времени для выявления генома вируса заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота;
- разработать тест-систему на основе полимеразной цепной реакции в реальном времени для выявления генома полевых изолятов вируса заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота;
- разработать тест-систему на основе полимеразной цепной реакции в реальном времени для выявления генома вакцинных штаммов типа вируса заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота типа Neethling;
- провести филогенетический анализ выявленных изолятов вируса заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота, циркулирующего среди животных в Российской Федерации в период с 2015 по 2018 гг.;
- провести энтомологические исследования и апробацию разработанных тест-систем на насекомых, собранных во время вспышек заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота.

Все задачи, поставленные Спрыгиным А.В. в рамках данной диссертационной работы, были полностью решены. Диссертантом успешно достигнута поставленная цель. Справедливость сделанных выводов подтверждена тщательной статистической обработкой полученных автором результатов экспериментальных исследований.

**Достоверность научных положений, выводов и рекомендаций**, представленных в диссертации Спрыгина А.В., подтверждена большим объемом исследований, проведенных в период с 2014 по 2021 гг., анализом данных полученных в лабораторных условиях, статистической обработкой полученных результатов исследований. Работа спланирована методически правильно.

**Новизна исследований, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.** Научная новизна диссертационного исследования Спрыгина А.В. определяется разработкой и внедрением в лабораторную практику диагностического комплекса тест-систем на основе полимеразной цепной реакции в режиме реального времени для выявления генома каприпоксвирусов и вируса заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота с последующей дифференциацией полевых изолятов и вакцинных штаммов, включая идентификацию рекомбинантных изолятов.

Безусловными признаками новизны являются представленные в диссертационной работе результаты: изучения молекулярно-биологических свойств изолятов вируса заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота, выявленных у животных в Российской Федерации в период с 2015 по 2018 гг.; определения полной геномной последовательности полевого штамма Dagestan/2015 ЗУД КРС; выявления изолята вируса, являющегося результатом рекомбинации в естественных условиях, и определения его полной геномной последовательности.

Кроме того разработан метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с анализом пиков плавления, который дополняет схему диагностических исследований для выявления и идентификации рекомбинантных вакциноподобных изолятов вируса заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота, циркулирующих в Российской Федерации.

В результате проведенных исследований получены новые научные данные об особенностях трансмиссии вируса заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота на территории Российской Федерации.

Научная новизна исследований подтверждена получением четырех патентов на изобретение РФ.

Завершающие диссертацию выводы и практические предложения сформулированы на основе анализа современных литературных данных и результатов собственных исследований.

**Значимость полученных результатов исследования для науки и практики.** Практическая и теоретическая значимость работы подтверждается разработкой схемы диагностики заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота, позволяющей дифференцировать вакцинные и полевые изоляты вируса и выявлять рекомбинантные его варианты. Результаты проведенных исследований послужили основой для разработки семи методических рекомендаций и четырех СТО на тест-системы.

Результаты анализа полногеномных последовательностей изолятов вируса заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота послужили основой для создания филогенетической базы данных. На основе данных энтомологических исследований разработан «Проект программы энтомологического надзора за переносчиками трансмиссивных инфекций сельскохозяйственных животных».

Результаты проведенных исследований были представлены для научной общественности в 20 научных работах, из них 5 – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, 11 – в международных рецензируемых журналах, входящих в базы данных Scopus и Web of Science, 4 – в материалах международных конференций.

#### **Содержание диссертационной работы, ее завершенность и оформление.**

Диссертация изложена на 350 страницах компьютерного текста и содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования, результаты собственных исследований и их обсуждение, заключение, список сокращений и условных обозначений, список использованных источников и приложение.

ния. Диссертация иллюстрирована 41 таблицей и 70 рисунками. Список использованной литературы включает 295 источников, в том числе 237 – зарубежных авторов. В приложении представлены копии титульных листов документов, подтверждающих достоверность результатов работы, её научную новизну и практическую значимость.

Во «Введении» обоснована актуальность темы исследований, степень разработанности проблемы, сформулирована цель и задачи исследований, представлена научная новизна и практическая значимость работы, методология и методы исследований, описаны основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация материалов диссертации, личное участие автора, публикации результатов исследований, соответствие диссертации паспортам научных специальностей, объем и структура работы.

Раздел 2 «Обзор литературы» дает достаточно полное представление о характеристике каприпоксвирусов, их нозологическом профиле, особенностях распространения и иммунитета. Обращено внимание на лабораторную диагностику заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота, филогенетический анализ каприпоксвирусов и данные их секвенирования. Приведены данные о представителях энтомофауны – возможных переносчиках вируса заразного дерматита крупного рогатого скота в Российской Федерации.

Сделано заключение, мотивирующее необходимость проведения исследований по разработке эффективных генетических методов диагностики заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота, выяснению филогенетических связей у изолятов вируса, циркулирующих среди крупного рогатого скота в Российской Федерации, а также – по изучению потенциальных переносчиков вируса в различных географических и климатических зонах России

В разделах 3.1 «Материалы» и 3.2 «Методы» подробно описаны все использованные автором материалы и методы исследований: вирусологические, молекулярно-генетические, биотехнологические и статистические.

Раздел 4 «Результаты собственных исследований» имеет 10 основных подразделов, в которых описаны результаты исследований по: разработке диагности-

ческих тест-систем на основе полимеразной цепной реакции в режиме реального времени для выявления генома каприпоксвирусов и вируса заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота с учетом его происхождения (эпизоотический или полевой, вакцинный и рекомбинантный) в разных пробах биологического материала; филогенетическому анализу изолятов вируса заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота, циркулирующих среди животных на территории Российской Федерации; энтомологическим исследованиям.

Следует отметить, что диагностическая эффективность разработанных автором диссертации диагностических тест-систем определена на большом объеме проб биологического материала разного происхождения, отобранного от крупного рогатого скота из регионов Российской Федерации.

Большой научный интерес представляют данные о выявлении полевых, вакциноподобных и рекомбинантных изолятов вируса заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота в пробах биоматериала, а также – доказательство возможности рекомбинации между каприпоксвирусами в естественных условиях.

Кроме того, автором впервые разработан методический подход с использованием УФ-ловушек, при помощи которого произведен отлов и идентификация мокрецов рода *Culicoides*, которые отнесены к потенциальным переносчикам вируса заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота в условиях Российской Федерации.

В разделе «Заключение» представлены выводы (итоги выполненного исследования), которые полностью отражают результаты выполненных исследований, а также практические предложения.

Список использованной литературы оформлен в соответствии с требованиями ГОСТ и сопоставим с литературным обзором.

Работа носит заверченный характер, изложена четким и ясным научным стилем. Содержание автореферата соответствует разделам, изложенным в диссертации.

Оценивая работу в целом положительно, нельзя не отметить некоторые недостатки и получить ответы на возникшие вопросы:

1. раздел «Обзор литературы», на наш взгляд, несколько перегружен данными о вирусе оспы овец и коз;

2. в диссертации есть некоторые не совсем корректные названия, использованные в таблицах 4, 9, 12 и 16 (название: ДНК вируса, а приведены либо наименование заболевания, либо его возбудителя);

3. Вами разработано четыре диагностических тест-системы на основе полимеразной цепной реакции в режиме реального времени для выявления капripоксвирусов и вируса заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота. В чем их преимущество перед существующими в настоящее время зарубежными аналогами?

4. в результате проведенных молекулярно-генетических исследований Вами выявлены рекомбинантные изоляты вируса заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота, циркулирующие среди животных в Российской Федерации. Какие факторы, на Ваш взгляд, способствовали их образованию?

5. как Вы считаете, полученные Вами результаты исследований охватывают весь спектр возможных переносчиков вируса заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота на территории Российской Федерации?

Тем не менее, сделанные замечания не носят принципиального характера. Представленные результаты экспериментальных и теоретических исследований, существенные: научная новизна, практическая и теоретическая значимость, выводы, а также количество публикаций в отечественных изданиях, создают хорошее впечатление о диссертационной работе Спрыгина Александра Владимировича

### **Заключение**

Таким образом, материалы диссертационной работы Спрыгина Александра Владимировича «Заразный узелковый дерматит КРС: генодиагностика и изучение потенциальных переносчиков на территории Российской Федерации», представляют собой законченный научно-квалификационный труд, в котором изложены новые научные данные, обоснованные решения и разработки.

Материалы диссертации по актуальности изучаемой проблемы, степени научной новизны, теоретической и практической значимости, обоснованности научных положений и выводов, полноте публикаций материалов в научных печатных изданиях соответствует критериям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением № 842 Правительства РФ от 24.09.2013 г., предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор, Спрыгин А.В., заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по специальности: 1.5.10 – «Вирусология».

**Официальный оппонент:**

главный научный сотрудник лаборатории биотехнологии — диагностический центр Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского федерального научного центра агробiotехнологий Российской академии наук (СФНЦА РАН), доктор биологических наук по специальности: 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

Глотова Татьяна Ивановна

30 ноября 2021 г.

Адрес: 630501, Российская Федерация, Новосибирская область, Новосибирский район, р.п. Краснообск, а/я 463  
Телефон: 8(383)308-77-45, моб.: 8-913-739-24-99  
Адрес электронной почты: [t-glotova@mail.ru](mailto:t-glotova@mail.ru)

Подпись Т.И. Гловой заверяю:  
Ученый секретарь СФНЦА РАН,  
кандидат экономических наук Зяблицева Яна Юрьевна

30 ноября 2021 г.

