



Федеральное государственное бюджетное научное
учреждение
«Федеральный исследовательский центр
вирусологии и микробиологии»
(ФГБНУ ФИЦВиМ)

601125, Россия, Владимирская область, Петушинский район,
п. Вольгинский, ул. Академика Бакулова, стр.1
Тел./факс: (4922) 37-92-51; 37-92-61 ,
e-mail: info@ficvim.ru; www.ficvim.ru

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Губенко Олеси Григорьевны на тему: «Разработка тест-систем на основе иммуноферментного анализа для диагностики болезни Шмалленберг»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.02.02. - вирусология

Актуальность темы

Диссертационная работа Губенко Олеси Григорьевны является результатом научных исследований, посвященных разработке иммуноферментных тест-систем для контроля вирусного антигена на этапах получения и индикации антител к вирусу болезни Шмалленберг.

За последние годы болезнь Шмалленберга широко распространилась на территории стран Европейского союза. Отмечены случаи выявления заболевания в странах Азии и Африки. В следствие широких торговых и туристических связей с ближним и дальним зарубежьем, велик риск заноса возбудителя БШ на территорию России из стран с пораженным поголовьем восприимчивых животных.

Поэтому разработка отечественной тест-системы на основе конкурентного варианта ИФА, для проведения серологического мониторинга болезни Шмалленберг среди местных и импортированных на территорию РФ животных является, несомненно, актуальной целью данной работы и

определяющей значимость проведенных исследований.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций диссертации

Диссертационная работа выполнена в ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»).

Разработанная тест-система на основе конкурентного варианта ИФА была оценена при проведении серологических исследований сывороток крови КРС, поступивших в ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Автором диссертации проведены исследования с применением материалов, методов и оборудования соответствующих современному уровню лабораторной диагностики.

По теме диссертации изучены 127 источников, из которых 30 – отечественные, 97 - зарубежные.

Диссертационная работа изложена на 120 страницах и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение результатов исследований, выводы, практические предложения, список литературы и приложения. Работа иллюстрирована 19 таблицами и 25 рисунками.

В приложениях представлены:

1. Методические рекомендации по очистке и концентрированию антигена вируса болезни Шмалленберг;
2. Методические рекомендации по выявлению антигена вируса болезни Шмалленберг в твердофазном непрямом «сэндвич»-варианте иммуноферментного анализа;
3. Методические рекомендации по выявлению антител к вирусу болезни Шмалленберг в конкурентном варианте иммуноферментного анализа;
4. Паспорта на вирус болезни Шмалленберг штамм «ВН80/11-4», штамм «ВБШ/Калининград/2016».

В характеристике работы обоснована актуальность решаемой проблемы, сформулированы цель и задачи работы, научная новизна,

практическая значимость и основные положения диссертации, выносимые на защиту. Представлены сведения об апробации работы и публикациях автора, а также структуре и объеме диссертации.

Обзор литературы состоит из разделов, содержащих информацию о роли болезни Шмалленберг в инфекционной патологии различных видов животных, биологической характеристике возбудителя, патогенезе, клинических и патологоанатомических признаках, иммунном ответе организма, методах диагностики и дифференциальной диагностики.

В разделе «Собственные исследования» представлены «Материалы и методы» и «Результаты исследований».

В разделе «Материалы и методы» описаны методы культивирования и инаktivации вируса БШ, получения антигена вируса БШ, иммунизации животных для получения специфических сывороток, иммуноферментные методы исследований, методы статистической обработки полученных результатов.

Для решения поставленной цели были предусмотрены следующие задачи:

1. Адаптировать вирус болезни Шмалленберг штамм «ВН80/11-4» к перевиваемым линиям культур клеток;
2. Подобрать оптимальные условия культивирования вируса болезни Шмалленберг штамм «ВН80/11-4», обеспечивающие стабильное накопление вируссодержащего материала;
3. Получить препараты антигена вируса БШ и специфические сыворотки лабораторных животных;
4. Разработать тест-систему на основе непрямого «сэндвич»-варианта ИФА для выявления антигена вируса БШ;
5. Разработать тест-систему на основе конкурентного варианта ИФА для выявления антител к вирусу БШ в сыворотках крови восприимчивых животных.
6. Применить разработанные тест-системы в лабораторной диагностике.

При решении поставленных задач вирус БШ был адаптирован к различным перевиваемым линиям клеток, подобраны оптимальные условия культивирования вируса для получения антигена. Разработана тест-система на основе непрямого «сэндвич»-варианта ИФА для выявления и оценки качества антигена вируса БШ. Тест-система позволяет выявлять антиген в минимальных количествах.

Полученный антиген вируса БШ применялся для иммунизации животных с целью получения специфических сывороток, которые в дальнейшем использовали при разработке тест-системы на основе конкурентного варианта ИФА для выявления антител к вирусу БШ в сыворотках крови восприимчивых животных.

Результаты, полученные при исследовании сывороток крови животных с помощью разработанной тест-системы коррелируют с результатами, полученными при использовании коммерческой тест-системы ИФА фирмы IDVet (относительная чувствительность разработанной тест-системы составила 96%, относительная специфичность – 97%). Таким образом разработанная тест-система дополняет и расширяет возможности лабораторной диагностики и серологического мониторинга БШ.

Анализ полученных результатов позволяет сделать вывод, что они содержат не только научную новизну, но и практическую значимость, которая подтверждена при исследовании проб сывороток крови от скота из Нижегородской, Псковской, Калининградской, Тюменской, Воронежской областей и от импортного скота, завезенного из стран ЕС (Дания, Польша, Венгрия, Швеция, Германия, Франция).

Степень достоверности диссертационной работы и качество ее оформления. Диссертационная работа Губенко Олеси Григорьевны является актуальной, завершенной научно-квалификационной работой, посвященной разработке тест-систем на основе иммуноферментного анализа для диагностики болезни Шмалленберг.

Работа выполнена на высоком научно-методическом уровне, обладает научной новизной, теоритической и практической значимостью и оформлена

в соответствии с современными требованиями.

Результатом экспериментальных исследований явились адаптация вируса болезни Шмалленберг штамм «ВН80/11-4» к перевиваемым линиям культур клеток и выбор оптимальных условий культивирования, получение препаратов антигена вируса БШ, разработка тест-системы на основе «сэндвич»-варианта ИФА для выявления антигена, разработка тест-системы на основе конкурентного варианта ИФА для выявления антител.

Экспериментальные данные и научные факты подвергнуты анализу и обсуждены по всем направлениям проведенных исследований.

Выводы и практические предложения логически вытекают из результатов собственных исследований и обобщают весь объем информации, а автореферат соответствует содержанию диссертации. В диссертации Губенко О.Г. ссылается на авторов и источники заимствования.

Представленная работа полезна в научном и практическом плане и направлена на решение актуальных проблем отрасли.

Выше изложенное позволяет дать работе положительную оценку. Вместе с тем по работе имеются некоторые замечания:

1. В разделе 3.1.4. на стр. 33, абзац 4 дублируется абзацем 7.

2. В разделе 4.1. на стр. 44 при описании рисунков написано: проведение каждого последующего пассажа приводило к усилению проявления ЦПД и сокращению времени работы вируса. Не корректно писать о сокращении времени работы вируса, т.к. в работе не проводилась оценка скорости репродукции вируса. Корректнее говорить о сроках проявления ЦПД вируса в культуре клеток.

3. В разделе 4.2.3 и 4.2.4. описывается методика определения рабочих разведений улавливающих и детекторных антител. При этом нет описания методики получения сывороток крови после взятия крови (очистка, выделение глобулинов и т.д.).

4. В разделе 3.2.9. и 4.2.2. описываются схемы иммунизации животных для получения специфических гипериммунных сывороток крови к вирусу БШ.

В этих схемах указаны различные сроки введения антигена. В соответствии с какой схемой проводилась иммунизация животных?

Отмеченные недостатки не носят принципиального характера и не влияют на общую положительную оценку диссертации, представляющей законченное исследование, несомненно, содержащее научную новизну и результатом которого явилась разработка тест-системы на основе конкурентного варианта ИФА для выявления антител к вирусу БШ в сыворотках крови восприимчивых животных. При помощи разработанной тест-системы проведены исследования 8933 образцов сывороток крови на наличие антител к вирусу БШ и определено количество серопозитивных животных.

В целом материал диссертационной работы представляет научный и практический интерес и является законченным исследованием, в котором решается важная научная проблема, имеющая существенное практическое значение для серодиагностики болезни Шмалленберг. Основные результаты исследований обсуждены на конференциях и опубликованы в научной печати согласно требованиям ВАК РФ.

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

Диссертационная работа Губенко О.Г. выполнена на современном научно-методическом уровне и представляет собой научно-квалификационную работу, выполненную на актуальную тему. Диссертация обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты и положения, выдвигаемые для публичной защиты, обоснованные выводы, свидетельствует о личном вкладе автора диссертации в науку и характеризуется существенной практической значимостью.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

По актуальности темы, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов и объему выполненных исследований диссертационная работа Губенко О.Г. отвечает требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней»,

