

«Утверждаю»



Врио ректора ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» д.в.н., профессор, член-корреспондент РАН

К.В. Племяшов

2022 года

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» на диссертационную работу Лартона Ростислава Рустамовича «Разработка мультиплексной полимеразно-цепной реакции (обратная транскрипция) для лабораторной диагностики респираторных вирусных инфекций (инфекционный ринотрахеит, вирусная диарея, парагрипп-3)», представленной в диссертационный совет Д 220.034.01 при ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Актуальность темы. Патология органов дыхания молодняка крупного рогатого скота (КРС) остается основной причиной экономических потерь в сфере скотоводства, которые складываются из нарушений воспроизводства, отставания в росте и развитии телят, их гибели и недополучения продукции от больных и переболевших животных, а также затрат на профилактику и терапию. Успешная борьба с респираторными инфекциями крупного рогатого скота во многом зависит от быстрой и правильно проведенной диагностики,

основанной на применении высокоспецифичных тест - систем, создания высокоактивных моно - ассоциированных вакцин с учетом современных достижений науки биотехнологии.

Следовательно, разработка и усовершенствование средств и методов лабораторной диагностики и специфической профилактики респираторно-кишечных инфекций крупного рогатого скота, а также внедрение их в ветеринарную практику все еще остаются в центре внимания современного научного поиска.

Цель и задачи исследования. Целью исследования явилась разработка мультиплексной полимеразно-цепной реакции (обратная транскрипция) для лабораторной диагностики респираторных вирусных инфекций (инфекционный ринотрахеит, вирусная диарея, парагрипп-3).

Научная новизна. Соискателем впервые выявлены наиболее консервативные локусы у каждого вида возбудителя, которые могут быть использованы в качестве маркерных фрагментов при проведении мультиплексной ПЦР.

На основе отобранных консервативных участков геномов возбудителей созданы праймеры и зонды, разработаны оптимальные условия проведения режима мультиплексной ПЦР, которые обеспечивают проведение ПЦР с положительным эффектом для используемых возбудителей респираторных инфекций (ИРТ, ПГ-3, ВД).

Разработана технология проведения мультиплексной ПЦР, обеспечивающая одновременную индикацию возбудителей респираторных инфекций (ИРТ, ПГ-3, ВД) в различных биопробах.

Теоретическая и практическая значимость. Технологии проведения мультиплексной ПЦР обеспечивает одновременное выявление наличия геномов возбудителей инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи и парагриппа-3, что имеет важное теоретическое и практическое значение. Результаты исследований дополняют существующие представления по амплификации геномов возбудителей респираторных инфекций и могут быть

использованы в их диагностике. Разработанный набор и режим мультиплексной ПЦР повышают эффективность и обеспечивают экспресс-индикацию и идентификацию искомых возбудителей. Материалы, полученные в результате исследований используются в учебном процессе при ФГБОУ ВО «Казанская ГАВМ» им. Н.Э. Баумана.

Апробация работы, публикация результатов исследований. Соискатель принимал непосредственное участие в планировании и постановке научных экспериментов, получении, обработке и интерпретации экспериментальных данных, анализе научной литературы, подготовке публикаций по выполненной работе. Материалы исследований были доложены на ежегодных научных отчетах кафедры, семинарах и научных конференциях:

1. 2ая Всероссийская школа-конференции молодых ученых, г. Казань КФУ,
2. Международная научная конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. (Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны) 24-25 ноября 2020, г. Санкт Петербург, ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины.

Участие в научных проектах, грантах:

1. Участие в конкурсе «50 лучших инновационных идей в республике Татарстан» 2019, 2020 г.;
2. Внутривузовский конкурс на соискание молодежных научно-исследовательских грантов ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ, 2020, 2021 г.;
3. Конкурс на получение стипендии молодых ученых и аспирантов МСХиП РТ, 2020 г. (Стипендия присвоена).

Научные положения диссертации и ее основные результаты исследований опубликованы в 6-ти печатных работах, в том числе 3 статьи - в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации.

Структура и содержание диссертационной работы. Диссертационная работа изложена на 106 страницах компьютерного текста, включает: введение, обзор литературы, собственные исследования, заключение, практические предложения, список использованной литературы, приложения. Список литературы включает 178 источника, в т.ч. 85 отечественных и 93 иностранных. Диссертация иллюстрирована 7 рисунками и 5 таблицами.

В разделе *Введение* обоснована актуальность темы диссертационной работы, выдвинуты цели и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, сведения об апробации результатов работы и публикации, основные положения, объем и структура диссертации.

В разделе *Обзор литературы* автором дана характеристика респираторных инфекций крупного рогатого скота, распространенность возбудителей (ИРТ, ПГ-3, ВД) в Российской Федерации и в мире. Подробно разобрано морфологическое строение исследуемых вирусов, дана информация о методах диагностики и лечения данных инфекций, описаны мероприятия, предотвращающие занос и распространение в хозяйствах респираторных инфекций.

В разделе *Материалы и методы исследований* описан отбор материала, соблюдение мер по подготовке проб для исследований. Приведены методы по сбору, транспортировке проб клинического и секционного материала в строгом соответствии с требованиями. Автором подробно описаны технологии проведения соответствующих молекулярно-генетических исследований.

В разделе *Результаты собственных исследований* соискателем проведен анализ нуклеотидной последовательности возбудителей, с последующим созданием тест-систем для индикации геномов искомым вирусом. На основании экспериментов для контроля амплификации был произведен дизайн и осуществлен синтез кольцевых молекул ДНК (плазмид), включающих в себя амплифицируемые последовательности ДНК.

Опытным методом определены реакционная смесь и условия проведения реакции, обеспечивающие эффективное накопление продуктов амплификации для всех исследуемых возбудителей.

Автором подробно описана технология создания мультиплексной ПЦР тест-системы. При оценке эффективности созданной тест системы были использованы пробы биологического материала из неблагополучных по респираторным инфекциям хозяйств. Материал: носовые истечения, влагалищные истечения, легочная ткань, средостенные и мезентериальные лимфоузлы, инфицированные культуры клеток ПЭК. Созданная тест-система и разработанная технология проведения мультиплексной ПЦР обеспечивала индикацию и идентификацию вирусов при исследовании вышеперечисленных материалов. Дана оценка эффективности тест-системы.

В разделе *Заключение* автор дает адекватную оценку полученных результатов, с привлечением литературных источников, что показывает способность автора анализировать полученные данные. Диссертант обобщил результаты исследований по изучаемым вопросам.

Объективные и аргументированные выводы и практические предложения, вытекают из сути выполненных исследований, достоверность которых подтверждена фактическими и экспериментальными данными. Результаты проведенных исследований позволяют сделать заключение о том, что научно-квалификационная работа имеет завершенный характер.

Автором совместно с коллегами выпущены временные ветеринарные правила, предназначенные для лабораторных работников, ветеринарных специалистов, магистров и аспирантов, интересующихся вопросами молекулярной биологии.

Содержание автореферата опубликованных работ соответствует основным положениям и выводам, изложенным в диссертации.

Вышеизложенное позволяет констатировать, что диссертационная работа Лартона Ростислава Рустамовича представляет собой научно-квалификационную работу имеющую завершенный характер, которая

выполнена на достаточно высоком научно-методическом уровне. Диссертационная работа оформлена в соответствии с требованиями ВАК РФ, написана доступным литературным языком, легко читается.

В целом положительно оценивая рецензируемую работу, хотелось выяснить некоторые вопросы и отметить отдельные недостатки.

1. В работе имеются стилистические и орфографические погрешности, которые следует устранить.
2. На сколько переменны геномы возбудителей ИРТ, ПГ-3, ВД?
3. Какие температурные режимы были апробированы при определении оптимальной температуры отжига для искомым возбудителей?

Высказанные замечания и вопросы не отразились на сути выполненных исследований, а основаны на проявленном интересе к данной работе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Лартона Ростислава Рустамовича на тему «Разработка мультиплексной полимеразно-цепной реакции (обратная транскрипция) для лабораторной диагностики респираторных вирусных инфекций (инфекционный ринотрахеит, вирусная диарея, парагрипп-3)» является завершенной научно-квалификационной работой, выполненной автором на достаточном высоком научно-методическом уровне. Основные положения, научные выводы и практические рекомендации достаточно экспериментально обоснованы и подтверждаются фактическими данными, вытекают из сути выполненных исследований. Результаты исследований имеют теоретическое и практическое значение.

Принимая во внимание актуальность темы, новизну, теоретическую и практическую значимость, объем исследований, обоснованность, считаем что диссертационная работа «Разработка мультиплексной полимеразно-цепной реакции (обратная транскрипция) для лабораторной диагностики респираторных вирусных инфекций (инфекционный ринотрахеит, вирусная диарея, парагрипп-3)» отвечает требованиям ВАК при Министерстве науки и

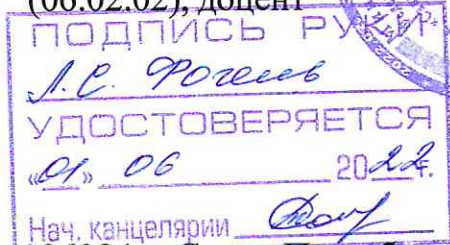
высшего образования РФ, полностью соответствует пункту 9 «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г., а её автор – Лартон Ростислав Рустамович заслуживает присуждения ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Материалы диссертационной работы, автореферат и опубликованные работы рассмотрены, обсуждены и одобрены на заседании профессорско-преподавательского состава кафедры эпизоотологии им. В.П. Урбана федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

«01» июня 2022 года, протокол № 12.

Заведующий кафедрой эпизоотологии им. В.П. Урбана
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Санкт-Петербургская государственная академия
ветеринарной медицины», кандидат ветеринарных наук
(06.02.02), доцент

Фогель Леонид Сергеевич



196084, Санкт-Петербург, Черниговская ул., дом 5; (812) 388-99-72,
<https://spbguvm.ru/>, Федеральное государственное образовательное учреждение
высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины» (ФГБОУ ВО СПбГУВМ).

06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,
микология с микотоксикологией и иммунология (ветеринарные науки).