

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу **Метлина Артема Евгеньевича** «Комплекс средств и методов диагностики и борьбы с бешенством», представленную в диссертационный совет Д 220.034.01 при ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук по специальности 06.02.02 - ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

Актуальность темы

По данным Всемирной организации здоровья животных (МЭБ), ВОЗ и ФАО рабическая инфекция входит в группу трансмиссивных болезней, воздействующих на общественную экономику и здравоохранение отдельных стран, и мира в целом. Эпизоотическое проявление бешенства оказывает существенное влияние на эпидемическое и эпизоотическое состояние более 110 стран мира, ежегодно является причиной смерти десятков тысяч людей и более миллиона животных. В последние десятилетия XX и нынешнего веков резко обострилась эпизоотическая и эпидемическая ситуация по бешенству в странах СНГ и России. В связи с этим направление исследований Метлина Артема Евгеньевича, связанное с совершенствованием средств диагностики и борьбы с бешенством, углубленным изучением молекулярно-биологических характеристик и вакцинных штаммов вируса бешенства для применения их в ветеринарной практике, является чрезвычайно актуальным.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационном исследовании

Сформулированные в диссертационной работе научные положения, выводы и практические предложения аргументированы и обоснованы. Автором проведен детальный обзор обширного литературного материала и на основании изученности основных проблем по теме диссертационного исследования, автор сформулировал четкую цель, отвечающую названию работы. Для реализации намеченной цели соискателем поставлены 9 задач, логично связанных между собой. Рациональный подбор задач, четкие методические и методологические подходы при их решении дают полное представление об объеме исследований, намеченных для выполнения эксперимента. Выводы логически вытекают из результатов исследований диссертанта. Методы, использованные автором в работе, специфичны, адекватны и отвечают современному научно-методическому уровню исследований.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций

Результаты работы опубликованы в ведущих российских и в 7 международных изданиях с высоким импакт-фактором (Developments in Biologicals, J. Equine Veterinary Science, Arch. Virology, Virus Research,

Vaccines and Vaccination, Infect. Genet. Evol., PLoS Negl. Trop. Dis.), что является подтверждением высокой научной ценности и достоверности результатов исследований, полученных в ходе подготовки диссертационной работы. По материалам работы представлены доклады на заседаниях ученого совета ФГБУ «ВНИИЗЖ», а также российских, международных научно-практических конференциях, семинарах и совещаниях.

Тщательно продуманный методологический подход в диссертационной работе позволил диссертанту не только выполнить намеченные позиции с конкретными результатами, но и выделить важнейшие элементы новизны, которые заключаются в следующем.

На основании существующих, адаптированных, усовершенствованных и разработанных диссертантом диагностических реакций предложен комплекс методов лабораторной диагностики бешенства и расширенная схема их применения, на основе 10 лабораторных методов, позволяющих проводить выявление антигена, генома, и выделение живого вируса. Методы разделены на 3 уровня в зависимости от показаний по их применению, условий, которые должны быть соблюдены при принятии решения о постановке диагноза, и позволяют исследовать патологический материал любого качества и способа его консервации. Впервые разработана и внедрена на территории РФ с 2010г. система межлабораторных сличительных испытаний по диагностике бешенства, позволяющая подтверждать компетентность проверяемых лабораторий, выявлять ошибки специалистов и впоследствии проводить корректирующие мероприятия.

Разработана и внедрена на территории России программа активного мониторинга бешенства, и только в период с 2011 по 2013 г. количество регионов РФ, участвующих в мониторинге, возросло с 22 до 55, что позволило уточнить эпизоотологическую ситуацию по бешенству в РФ, выявить большее число случаев заболевания, своевременно провести антирабические ветеринарные мероприятия.

Предложена схема применения лабораторных методов, позволяющих проводить оценку эффективности применения антирабической вакцинации.

Изучены молекулярно-биологические и антигенные характеристики полевых изолятов вируса бешенства, а также молекулярная эпизоотология бешенства на территории РФ, Камбоджи, Лаоса, Вьетнама, Мьянмы, Таиланда и Китая. Установлена связь филогенетической группировки вирусов, входящих в сублинию 2-й филогруппы «SEA1» с их уникальными биологическими характеристиками, такими как ускоренная гибель зараженных лабораторных животных и необычное клиническое проявление заболевания.

Изучены молекулярно-биологические и антигенные характеристики вакцинных штаммов вируса бешенства, используемых в России и за рубежом, установлены их филогенетические связи.

Все полученные последовательности генома изолятов и вакцинных штаммов вируса бешенства депонированы в международной базе данных GeneBank.

Ценность для науки и практики проведенной соискателем работы

Практическая значимость выполненной работы заключается в том, что научные выводы и методические рекомендации можно использовать в практике ветеринарных лабораторий, оценке их деятельности, при разработке перспективных программ и планов по профилактике и борьбе с бешенством, мониторинга и оценке эффективности специфической профилактики заболевания. Внедрена система активного мониторинга бешенства на территории России с применением разработанного комплекса методов лабораторной диагностики бешенства, позволившая уточнить эпизоотологическую ситуацию по бешенству в ряде регионов РФ. Разработана схема оценки эффективности антирабической иммунизации диких и домашних видов животных в зависимости от вида и качества поступающего для проведения исследований биологического материала.

На основе полученных результатов адаптированы, разработаны и внедрены в лабораторную практику современные методы лабораторной диагностики бешенства, обобщенные в 9 Методических указаниях и рекомендациях.

С применением разработанных методов проведен мониторинг эффективности антирабической вакцинации различных видов животных на территории РФ, иммунизированных инактивированными антирабическими вакцинами.

Впервые разработана, внедрена на территории РФ программа межлабораторных сличительных испытаний по диагностике бешенства, позволившая установить реальный уровень подготовки специалистов ряда региональных ветеринарных лабораторий, а также реализовать корректирующие мероприятия по снижению количества диагностических ошибок.

Впервые изучены молекулярно-биологические и антигенные характеристики полевых изолятов вируса бешенства, циркулирующих на территории ряда регионов России, а также вакцинных штаммов вируса бешенства, используемых в России и за рубежом, их филогенетические связи. Установлены филогенетические связи изолятов вируса бешенства, циркулирующих на территории стран Юго-Восточной Азии, имеющих с РФ активные туристические и торговые связи.

Разработаны и представлены к утверждению методические рекомендации по борьбе с бешенством, разработан и утвержден «Комплекс совместных действий государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с бешенством на период до 2025 г.».

Успешно реализованы программы международного сотрудничества в области борьбы и профилактики бешенства между Россией и рядом зарубежных стран (Финляндия, ЕС, Эфиопия). В результате проделанной работы сохранено благополучие по бешенству Финляндии и Республики Карелия, полностью искоренено бешенство на территории Калининградской области, на основе роллерного культивирования внедрена технология производства инактивированной антирабической вакцины в Эфиопии,

проведены ее предварительные испытания.

Соответствие диссертационной работы и автореферата критериям
«Положения о порядке присуждения ученых степеней»

Работа написана автором самостоятельно, обладает внутренним единством и логикой, содержит новые научные и практические данные, имеющие важное значение для ветеринарной медицины. При выполнении экспериментов использованы современные методы (вирусологический, серологический, молекулярно-биологический, гистологический, иммуногистохимический, а также филогенетический и эволюционный анализы, различные способы культивирования культур клеток и вирусов). Выравнивание и обработку нуклеотидных последовательностей проводили с использованием онлайн сервиса ClustalOmega и пакетов программ Jalview 2.8., BioEdit 7.0.5.3 и GeneDoc 2.6.002. Филогенетический и эволюционный анализы проводили с использованием пакетов программ MEGA 6.0. Диссертационное исследование имеет теоретический и практический характер. Автореферат написан по традиционной схеме, и в достаточном объеме отражает основное содержание диссертационной работы.

Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы

В ходе выполнения научно-исследовательских работ по теме диссертации автором самостоятельно проведен комплекс вирусологических, серологических, гистологических, молекулярно-биологических и филогенетических исследований, полевые исследования по применению антирабических биопрепаратов, анализ российской и зарубежной научной литературы и нормативной документации. Автор лично принимал участие в работе международных программ по сотрудничеству в области профилактики бешенства, начиная с этапов их планирования и заканчивая подведением итогов. Опубликованные работы свидетельствуют о существенном личном вкладе диссертанта в решение поставленных задач. Объем полученных исследований свидетельствует о трудоспособности и профессиональной подготовленности соискателя.

Оценка содержания диссертационной работы, её завершенности

Диссертационное исследование изложено на 445 страницах и содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение, заключение. Список литературы включает 481 источник, в том числе 134 опубликованных в отечественных и 347 – в зарубежных научных изданиях. Диссертационная работа иллюстрирована 59 таблицами, 77 рисунками и дополнена 25 приложениями.

Материалы работы опубликованы в 65 научных статьях, в том числе 16 – в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, и в 9 изданиях, включенных в международные базы данных научного цитирования (Scopus, PubMed). По материалам диссертационной работы подготовлены и утверждены 13 методических рекомендаций и указаний;

комплекс мер по профилактике бешенства в России и государствах - участниках СНГ; получено 2 патента РФ.

Диссертационная работа написана по традиционной схеме. Раздел «Введение» отражает общую направленность работы, определяя объём, структуру и её значимость. В этом разделе автор на основе анализа литературы убедительно обосновывают актуальность темы, формулирует цель и задачи исследования, подчеркивает научную новизну, практическую и теоретическую значимость работы, отражает методологию и методы исследования, степень достоверности, указывает элементы апробации работы, количество и значимость публикаций, формулирует основные научные положения диссертационного исследования, выносимые на защиту.

Глава «Обзор литературы» написана интересно и доступно, правильным литературным языком, содержит все элементы, необходимые для обоснования основных аспектов исследовательской работы. Диссертант анализирует отечественные и зарубежные работы, касающиеся следующих вопросов: общая характеристика заболевания; экономический ущерб от бешенства; ситуация по бешенству в различных регионах мира; характеристика вируса бешенства; патогенез при бешенстве; клинические признаки; патологоанатомические изменения; методы лабораторной диагностики бешенства; антигенная и молекулярно-биологическая характеристика вируса бешенства; методы борьбы с бешенством. В целом, обзор литературных источников свидетельствует об эрудиции автора, о всесторонних знаниях по анализируемой проблеме, умении систематизировать информацию и излагать ее в логической последовательности.

В главе «Результаты собственных исследований» изложены основные аспекты методологического подхода к работе. Результаты собственных исследований структурированы в двух главах. В содержательных главах диссертационной работы соискатель описывает используемые материалы и методы. Первоначальным этапом работы явилась разработка схемы лабораторной диагностики бешенства, состоящей из трех уровней. Первый уровень включает методы лабораторной диагностики, которые позволяют поставить окончательный диагноз на бешенство: РИФ и выделение вируса в одной из биологических систем (лабораторные животные, культура клеток). Второй уровень включает методы, позволяющие исследовать большое количество проб при проведении мониторинга бешенства (ИФА, РАЛ), а также проводить подтверждение диагноза на бешенство в случаях, когда применение методов первого уровня не представляется возможным (ИФА, ПЦР, ПЦР-РВ). Методы лабораторной диагностики третьего уровня рассчитаны на исследование проб головного мозга, консервированных формалином. Применение таких методов в практике региональных диагностических лабораторий не предполагалось, но сами методы разрабатывались в целях дифференциации бешенства и губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота.

В целях совершенствования средств диагностики и борьбы с бешенством, для применения их в ветеринарной практике, диссертантом обоснованы новые идеи и методические подходы к комплексному решению проблем диагностики, а именно: активного эпизоотологического мониторинга и мониторинга эффективности специфической профилактики бешенства различных видов животных с применением инактивированных антирабических вакцин в России; разработки и внедрения на территории России системы межлабораторных сличительных испытаний по диагностике бешенства, которые позволяют глубже оценить ситуацию с бешенством в России и других регионах мира с позиций молекулярной эпизоотологии. Молекулярно-генетические характеристики изученных изолятов и штаммов вируса бешенства дополняют научные знания об их биологических свойствах.

Логичным завершением работы является заключение, которое представляет собой анализ полученных результатов, на основе сопоставления их с результатами других исследователей, что позволяет подтвердить обоснованность научных положений и выводов. По результатам диссертационной работы Метлина Артема Евгеньевича сделано 14 выводов. Выводы вытекают из результатов проведенных исследований, характеризуются убедительностью.

Практические предложения логично вытекают из сути работы, представляются ценнейшими для теоретического и практического применения в ветеринарной медицине.

Используя результаты анализа законодательных баз ряда стран, требований международного законодательства по бешенству, результаты исследований по иммуногенности антирабических вакцин и эффективности антирабических мероприятий, диссертантом был разработан ряд документов рекомендательного характера, касающихся мероприятий по борьбе и профилактике бешенства: 1) в интересах Министерства сельского хозяйства Российской Федерации подготовлен проект «Методических рекомендаций по борьбе с бешенством»; 2) подготовлен и утвержден главами правительств государств – участников СНГ «Комплекс совместных действий государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с бешенством на период до 2025 г.», являющийся программой согласованных действий государств – участников СНГ по борьбе с этим заболеванием.

Оценивая содержание диссертационного исследования Метлина А.Е., следует особо отметить высочайший уровень его оформления (текст, таблицы, рисунки) и прекрасный, лаконичный литературный научный язык, отсутствие грамматических ошибок. По диссертационной работе А.Е.Метлина принципиальных возражений не возникло, хотелось бы высказать некоторые пожелания диссертанту в его дальнейшей научной работе:

1. Установить распространенность и уровень заболеваемости среди сельскохозяйственных, домашних и диких животных, сезонность и периодичность проявления рабической инфекции и составить карты

эпизоотической ситуации по бешенству в регионах Сибири и Дальнего Востока в сравнительном аспекте с европейской частью РФ.

2. Провести картографирование неблагополучных районов, позволяющее выявить потенциальных переносчиков возбудителя рабической инфекции по численности и плотности их расселения в природных очагах Сибири и Дальнего Востока в сравнительном аспекте с европейской частью РФ.

Высказанные пожелания носят рекомендательный характер и не снижают общей высокой оценки рецензируемой диссертационной работы.

Заключение

Диссертационное исследование Артема Евгеньевича Метлина на тему «Комплекс средств и методов диагностики и борьбы с бешенством» является научно-квалификационной работой, в которой содержится актуальное решение поставленных задач. По актуальности избранной темы, научной новизне, теоретической и практической ценности выводов и практических предложений, диссертационная работа соответствует требованиям пп.9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Минобрнауки России, предъявляемым к кандидатским и докторским диссертациям (в редакции от 21.04.2016), предъявляемым ВАК Российской Федерации к диссертациям на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук, а ее автор Метлин Артем Евгеньевич, проявивший себя как специалист высокой квалификации, заслуживает присуждения искомой степени доктора ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

14 января 2019г.

Официальный оппонент:

профессор, доктор ветеринарных наук (16.00.03),
профессор кафедры эпизоотологии имени В.П.Урбана
ФГБОУ ВО СПбГАВМ

Кузьмин Владимир Александрович

Федеральное государственное бюджетное общеобразовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»
196084, г.Санкт-Петербург, ул.Черниговская, дом 5;
8 (812)-388-36-31- приемная, E-mail: kuzmin@epizoo.ru моб. тел. 8-901-315-72-21

ПОДПИСЬ Р.
Кузьмина В.А.