

ОТЗЫВ

Официального оппонента на диссертационную работу
Метлина Артема Евгеньевича на тему
«Комплекс средств и методов диагностики и борьбы с бешенством»
представленную на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук
по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология,
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Актуальность темы исследований. Бешенство – один из важнейших зоонозов, болезнь известная человечеству не менее 4,5 тысяч лет. В конце 20 – начале 21 веков появились перспективы избавления человечества от этой болезни. Удалось оздоровить не только отдельные страны, но некоторые континенты. Международными ветеринарными и медицинскими организациями ставится вопрос о тотальной ликвидации болезни на земном шаре примерно к 2030 году. К сожалению, на сегодняшний день Россия одна из наиболее неблагополучных по бешенству стран. Для ликвидации его необходимы огромные усилия. Поэтому актуальность тематики, а именно цель - совершенствование средств и методов диагностики и борьбы с бешенством животных для применения их в ветеринарной практике, поставленной в диссертации Метлина А.Е. несомненна, решение ее позволит приблизить время, когда с бешенством будет покончено.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций.

Для объективного и обоснованного решения указанной цели диссертант поставил перед собой достаточно широкий круг задач. Проведенный предварительно анализ состояния изучения проблемы позволил автору сформулировать и обосновать их конкретику. Этот анализ, глубоко изложенный в литературном (наиболее полный из тех что оппоненту приходилось видеть) обзоре охватывает изучение около 500 источников, $\frac{3}{4}$ которых зарубежные, причем отечественные источники почти все не старше 2000-х годов, что говорит о современном представлении диссертанта о проблеме.

В процессе глубоко проведенных исследований эти задачи были успешно решены.

Для проведения исследований использовался широкий круг современных вирусологических, морфологических, серологических, биологических, молекулярно-биологических методов, включающих: работу с фиксированными штаммами вируса бешенства и перевиваемыми культурами клеток, выделение вируса в культуре клеток, различные способы культивирования культур клеток и вирусов, биопробу на мышцах и определение уровня вируснейтрализующих антител, выявление антигена вируса бешенства в ткани головного мозга животных методом ИГХ, стандартные иммуноглобулины и моноклональные антитела; прямую и непрямую РИФ, реакцию латекс агглютинации, ИФА, обратнo-транскриптазную ПЦР и нуклеотидное секвенирование фрагментов генома изолятов вируса бешенства, филогенетический и эволюционный анализ. Проводилось клиническое исследование иммуногенности разработанной вакцины вакцины на собаках. На всех этапах работы использовалось качественной современное оборудование. Работа выполнена на большом объеме экспериментальных данных и большом количестве объектов исследований.

Оригинальные методики использованные автором при проведении исследований и полученных результатах свидетельствует о достоверности научных положений, выводов и рекомендаций приведенных автором в диссертации.

Степень обоснованности и достоверности полученных результатов подтверждается широкой публикацией в 65 научных работах в ведущих российских и международных изданиях, в том числе в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки и изданиях, включенных в базы Scopus, PubMed, а также докладами на 15 крупных российских, зарубежных и международных научно-практических конференциях.

Таким образом, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации четко опираются на результаты собственных исследований и обоснованы ими. Основные положения выносимые на защиту основаны на результатах проделанной работы и вытекают из полученных выводов.

Обоснованность и достоверность полученных результатов подтверждается также обширными приложениями, содержащими документы утвержденные на региональном, федеральном и международном уровне.

Научная новизна выполненной работы.

Научная новизна работы очевидна. В результате исследований предложен комплекс методов лабораторной диагностики бешенства и научно обоснованная схема их применения, для различного рода биологического материала. Впервые в России применена национальная система межлабораторных сличительных испытаний по диагностике бешенства для контроля качества работы диагностических лабораторий. Разработана и внедрена программа активного мониторинга бешенства в РФ на основе оценки эффективности проводимой антирабической вакцинации. Изучена молекулярная эпизоотология бешенства на территории РФ, и ряда других стран, молекулярно-биологические и антигенные характеристики большого количества полевых изолятов вируса бешенства, вакцинных штаммов установлены их филогенетические связи. Новизна указанных разработок подтверждается получением двух патентов РФ.

Теоретическая и практическая значимость

Разработана схема диагностики бешенства на основе 10 лабораторных методов, позволяющих проводить выявление антигена, генома, а также выделение живого вируса. Методы разделены на 3 уровня в зависимости от показаний по их применению, а также условий, которые должны быть соблюдены при принятии решения о постановке диагноза. Предложенная схема и методы лабораторной диагностики позволяют поставить окончательный диагноз на бешенство вне зависимости от качества поступившего патологического материала и способа его консервирования.

Впервые в России разработаны методические подходы и внедрены в ветеринарную практику РФ межлабораторные сличительные испытания по диагностике бешенства, позволяющие подтверждать компетентность лабораторий и выявлять недостатки, использующие опыт мировой практики для контроля качества лабораторной диагностической деятельности по бешенству.

Разработана и внедрена в РФ система эпизоотологического мониторинга бешенства. Это позволило уточнить эпизоотологическую ситуацию по бешенству в РФ, выявив большее количество случаев заболевания, а также своевременно провести антирабические ветеринарные мероприятия.

Проведен мониторинг парентеральной антирабической иммунизации домашних, сельскохозяйственных и диких животных на основе определения антирабических антител в ряде городов России и установлен уровень ее эффективности.

Разработаны методы дифференциации полевых изолятов и вакцинных штаммов вируса бешенства с применением ферментов рестрикции и нуклеотидного секвенирования.

Изучены антигенные характеристики 233 полевых изолятов вируса бешенства, выделенных в России, Финляндии и Эстонии, установлено существование пяти антигенных вариантов что дополняет сведения по антигенной variability вируса бешенства. Изучены их молекулярно-биологические характеристики, установлены филогенетические и эволюционные связи. Выявлено существование двух филогенетических групп - Пан-Евразийской и Кавказской, а также ряда подгрупп, имеющих географическую приуроченность.

Разработаны и успешно реализованы ряд международных программ по профилактике и борьбе с бешенством. В частности для стран членов СНГ принят и выполняется «Комплекс совместных действий государств - участников СНГ на период до 2025 г.». по данной тематике.

Наибольшую ценность и интерес по нашему мнению имеют исследования по разделу диссертации «диагностика», в частности разработка ПЦР – РВ для дифференцировки полевых и вакцинных изолятов, что актуально при мониторинге применения оральных вакцин как замена метода оценки наличия тетрациклина в костной ткани. Раздел 3.2.1.5. -эпизоотологический мониторинг бешенства в РФ, который используется в настоящее время. Как эпизоотологу хотелось бы только отметить, что если отрицательные результаты мониторинга

не совпадают с реальным неблагополучием территории то, скорее всего, имела место недостаточная выборка. Весьма привлекательным выглядит раздел молекулярная эпизоотология бешенства на территории России (стр. 184-190) с оценкой филогенетических групп полевых вирусов бешенства и раздел 3.2.2.4. - Сравнительные характеристики вакцинных штаммов. Вызывают большой интерес также разделы 3.2.1.6- 3.2.1.7. - Оценка эффективности антирабической вакцинации по уровню антирабических антител, в том числе с использованием 9 различных вакцин.

Работа имеет весомый практический результат. По материалам диссертации подготовлены и утверждены 13 методических рекомендаций и указаний, комплекс мер по профилактике бешенства в России и государствах-участниках СНГ. Практическая реализация материалов диссертации подтверждается обширными приложениями (всего их 25 на 74 стр. текста).

Диссертация написана на 445 страницах в традиционном плане и охватывает все традиционные разделы: введение, литературный обзор, материалы и методы, результаты исследований, обсуждение, заключение приложения. Список литературы, включающий 481 источник, из них 134 отечественных и 347 зарубежных. Диссертация добротна иллюстрирована 59 таблицами и 77 рисунками. Материалы диссертации полностью соответствуют данным изложенным в автореферате.

Вместе с тем в процессе ознакомления с материалами диссертации у оппонента возникло ряд несущественных вопросов и замечаний, на которые желательно получить ответы и разъяснения.

В основном они относятся к разделам 3.2.1.1-3.2.1.4. по диагностическим исследованиям.

Так в разделе 3.2.1.1. предлагается 3-х уровневая схема лабораторной диагностики бешенства. Не совсем ясно когда и что применять при массовой рутинной диагностике. В частности: в каких случаях предполагается

невозможность использования этих уровней (только ли при автолизе материала или других) ?. На втором уровне много методов исследований. Одинакова ли их необходимость ? Учитываются ли в данной схеме рекомендации Руководства МЭБ ? Правильно ли понимать, что применения методов 3-го уровня скорее имеют научно-прикладное значение, тем более что ГЭ-КРС на территории нашей страны не регистрировалась. Каковы контрольные сроки проведения исследований до времени выдачи окончательного диагноза по каждой из предлагаемой схем ?

В частности чем обосновано применение РА с латексом, если она уступала по чувствительности РИФ и ИФА (табл. 19, стр 129)? По ИГХМ не совсем его место в составе общей схемы лабораторной диагностики в качестве метода 3-го уровня ?

В целом, в большинстве своем методы 3-го уровня разрабатывались для случаев исследования консервированного формалином материала. Но ведь материал для исследования на бешенство не должен поступать в таком виде?

На стр. 167 в таблице 33 представлены сравнительные результаты в применения вакцин Нобивак и Рабикан на собаках. Однако говорить о сравнительной эффективности их в данном случае сложно, т.к. неизвестны (или не указаны) истории вакцинаций этих животных против бешенства.

Заключение о соответствии диссертации критериям положения ВАК.

Диссертационная работа Метлина Артема Евгеньевича на тему «Комплекс средств и методов диагностики и борьбы с бешенством» имеет важное теоретическое и практическое значение, является завершенной научно-исследовательской работой, содержит решение актуальной проблемы ветеринарии, в частности инфекционной патологии животных в виде разработки системы мер и средств диагностики и борьбы с бешенством животных в Российской Федерации. Работа полностью соответствует п. 9. «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК при Министерстве образования и науки

