

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации **Гулюкина Алексея Михайловича** тему «Бешенство. Современная система анализа и контроля эпизоотического процесса на территории Российской Федерации» на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук по специальности 06.02.02 - ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

Бешенство – одно из наиболее опасных вирусных болезней, регистрируется на всех континентах мира, кроме Австралии и Антарктиды и входит в пятерку инфекций, общих для человека и животных, наносящих наибольший социальный и экономический ущерб. Эта инфекция включена в список особо опасных инфекционных болезней МЭБ (World Organization for Animal Health, 2015), а в России - в Перечень заразных, в том числе особо опасных, болезней животных, по которым могут устанавливаться ограничительные мероприятия (карантин) (приказ МСХ РФ от 19.12.2011 г., № 476).

По классификации Международного Комитета по таксономии вирусов, вирус бешенства относится к отряду Mononegavirales, семейству Rhabdoviridae, роду *Lyssavirus*. На сегодняшний день род *Lyssavirus* насчитывает 14 видов.

Во многих странах Западной Европы бешенство в последние годы не регистрируется (Rabies Bulletin Europe). Россия среди стран, где регистрируется бешенство, занимает доминирующее положение, как по числу неблагополучных пунктов (очагов), так и по заболеваемости животных. За последние 20 лет в России регистрируется самая высокая смертность населения от заболевания бешенством среди развитых стран (Грибенча С.В., Львов Д.К., 2008).

Учитывая вышеуказанное, бешенство требует постоянного широкомасштабного мониторинга - неотъемлемой части системы противоэпизоотических и противоэпидемиологических мероприятий.

Эпизоотологический мониторинг бешенства во взаимосвязи с эпидемиологическими показателями регулярно проводится по территории России, а результаты публикуются в информационно-аналитических бюллетенях и размещаются на сайтах различных организаций Российской Федерации.

Для полноценной оценки распространения бешенства, в современных условиях мощным инструментом в эпизоотологическом мониторинге является использование географических информационных систем (ГИС), позволяющих автоматизировать обработку и анализ данных, ее визуализацию на электронных картах, выявить причинноследственные связи развития динамики распространения инфекций и провести прогнозирование.

Ранее разработанные методы лабораторной диагностики бешенства, основанные на обнаружении цитоплазматических включений (телец Негри) или специфического антигена (световая и люминесцентная микроскопия, реакция диффузионной преципитации, иммуноферментный анализ), выделении вируса в биопробе на лабораторных животных или в культуре клеток, а также обнаружении генома возбудителя с помощью ПЦР недостаточно

чувствительны, трудоемки, нетехнологичны и требуют дополнительных дифференциальных исследований, в связи с чем необходимо совершенствование существующих и разработка новых диагностических экспресс-тестов, в том числе для контроля уровня поствакцинальных антирабических антител.

Для оральной иммунизации диких плотоядных разработаны отечественные вакцины из штаммов РВ-97(Синраб, Оралбивак), ТС-80 и генномодифицированного ERA G333 (Рабивак), но они обладают остаточной вирулентностью и экологически небезопасны, а сами приманки недостаточно специфичны, стабильны и привлекательны, поэтому необходима разработка новых вакцин, отвечающих выдвигаемым требованиям.

В связи с вышеизложенным, целью исследований диссертационной работы **Гулюкина Алексея Михайловича** явилось совершенствование диагностики, специфической профилактики и, в целом, системы эпизоотологического мониторинга и надзора бешенства в Российской Федерации.

Диссертационная работа Гулюкина А.М. обладает существенной научной новизной. Так, им впервые на территории России Гулюкиным А.М. на основе программного обеспечения ArcGIS разработана геоинформационная система (ГИС) эпизоотологического мониторинга бешенства животных, состоящая из пространственной модели исследуемой территории в виде набора цифровых административногеографических карт, банка данных первичных эпизоотологических и эпидемиологических показателей и программного приложения для хранения, обработки и визуализации данных. На основании проведенных исследований создан электронный кадастр случаев заболевания животных бешенством, построенный на платформе реляционной базы данных Microsoft Office Access®. С использованием разработанной системы осуществлен эпизоотологический мониторинг современного состояния бешенства животных на территории России установлены особенности эпизоотического процесса в пространственно-временном диапазоне. Гулюкиным А.М. разработана методика нормирования расхода вакцин на иммунизацию против бешенства животных разных видов, которая основана на нормативах профилактических и вынужденных обработок, зоотехнической структуры стада и потерь биопрепаратов при транспортировке и в процессе обработок.

Для контроля эффективности вакцинации животных против бешенства разработаны 4 тест-системы.

Кроме того, автором определены оригинальные нуклеотидные последовательности олигонуклеотидных наружных и внутренних праймеров для детекции РНК вируса бешенства методом гнездовой ОТ-ПЦР, изучен иммунный статус организма плотоядных животных, вакцинированных против бешенства различными вакцинами, в том числе с иммуномодуляторами.

Преимуществом работы является оценка нуклеотидной последовательности фрагментов генов G и N полевых изолятов вируса бешенства и их филогенетический анализ, на основе чего построены филогенетические дендрограммы, раскрывающие геномные территориальные особенности лиссавирусов. Новосеквенированные последовательности геномов

изолятов вируса бешенства [Rabies virus isolate VIEV_RV_W-1/16 nucleoprotein (G) gene, partial cds и Rabies virus isolate VIEV_RV_W-1/16 nucleoprotein (N) gene, partial cds] включены в Международную базу данных (*GenBank*) Национального центра биотехнологической информации (*NCBI*).

Для местной обработки ран при укусах человека плотоядными животными впервые сконструирован препарат против бешенства на основе эндонуклеазы бактерий *Serratia marcescens* и Гемодеза-Н, обладающий выраженным антирабическим действием. Автором также проведена работа по конструированию вакцины для оральной иммунизации диких плотоядных животных против бешенства на основе авирулентного штамма вируса РВ-97.

Научная новизна исследований подтверждена 3 патентами Российской Федерации на изобретения.

Кроме научной новизны, работа имеет высокую теоретическую и практическую ценность. Гулюкиным А.М. выявлены особенности современного эпизоотического состояния по бешенству, которые дополняют и расширяют имеющиеся теоретические данные эпизоотического процесса особо опасных и карантинных инфекций на территории Российской Федерации.

Кроме того, имвтором разработаны «Методические рекомендации по расчету годовой потребности в биопрепаратах для проведения профилактических и противоэпизоотических мероприятий в хозяйствах всех форм собственности», позволяющие научно обоснованно планировать потребность вакцин на иммунизацию разных видов животных против бешенства, а разработанные тест-системы для определения уровня антирабических антител в сыворотках крови животных, вакцинированных против бешенства, методом непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) и методом блок иммуноферментного анализа (блок-ИФА) по чувствительности и экспрессности значительно превосходят традиционную реакцию нейтрализации, что определяет их практическую значимость в лабораторной диагностике. Также Гулюкиным А.М. предложен метод и разработаны методические рекомендации по индикации возбудителя бешенства из патологического материала в культуре клеток невриномы Гассерова узла крысы (НГУК-1), позволяющие, при полном совпадении с результатами биопробы на белых мышцах, выявить уличный вирус в биоматериале животных через 1-3 суток.

Достоверность результатов обусловлена большим объемом статистического и экспериментального материала, использованием современных методов и методик исследований, производственным испытанием и статистической обработкой данных.

Материалы диссертации доложены и обсуждены на международных, региональных и отраслевых научно-практических конференциях в: Покрове, 1998; Москве, 2010, 2014, 2015; Казани, 2010, 2014, Новосибирске, 2015.

По теме диссертации опубликовано опубликовано 40 научных работ, в том числе 21 - в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, изданы монография и учебно-методическое пособие.

Работа выполнена на высоком методическом уровне с использованием современных тестов и современного научного оборудования.

По моему мнению диссертационная работа **Гулюкина Алексея Михайловича** на тему «Бешенство. Современная система анализа и контроля эпизоотического процесса на территории Российской Федерации» соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Минобрнауки РФ, предъявляемым к докторским диссертациям, а автор заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора ветеринарных наук по специальности 06.02.02 - ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

Главный научный сотрудник отдела вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», доктор ветеринарных наук, профессор, академик НАН Беларуси (220003, г. Минск, ул. Брикета, 28)
Тел. сл. +375-017- 5088-139.
Тел моб. 8-10-375-29-354-65-09
E-mail: bievmtut.by

Ковалев Николай
Андреевич

Подпись Н.А.Ковалева удостоверяю:
Ученый секретарь РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», доктор ветеринарных наук, профессор (220003, г. Минск, ул. Брикета, 28)
Тел. сл. +375-017- 5088-352.
Тел моб. 8-10-375-44-78-77-059
E-mail: bievmtut.by



Красочко Ирина
Александровна