

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 35.2.034.01, созданного
на базе федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный
университет ветеринарной медицины»

Министерства сельского хозяйства Российской Федерации
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 23 апреля 2026 г., № 32

О присуждении Ахуновой Алсу Рузалевне, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата ветеринарных наук.

Диссертация «Разработка DIVA-совместимых тест-систем для серологической диагностики классической чумы свиней», по специальности: 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных, принята к защите 19 февраля 2026 г. (протокол заседания № 30) диссертационным советом 35.2.034.01, созданном на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» Министерства сельского хозяйства Российской Федерации, 196084, Санкт-Петербург, Черниговская ул., 5, приказом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 28/нк от 26.01.2023 г.

Соискатель Ахунова Алсу Рузалевна, 26 февраля 2000 года рождения, в 2023 году окончила федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» Министерства сельского хозяйства Российской Федерации по специальности 36.05.01 Ветеринария, получив квалификацию «Ветеринарный врач», выдавшей диплом специалиста № 101605 0026422, регистрационный номер

30801, дата выдачи 30 июня 2023 года.

В том же году была принята на работу в федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»), где в настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника в лаборатории вирусных антропозоонозов. Параллельно с трудовой деятельностью Ахунова Алсу Рузалева вела активную научную работу, успешно совмещая подготовку диссертации с выполнением служебных обязанностей.

Научный руководитель – доктор биологических наук Ефимова Марина Анатольевна, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», заместитель директора по научной работе и инновационному развитию.

Официальные оппоненты:

Капустина Ольга Владимировна, доктор ветеринарных наук, доцент, ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук», лаборатория иммунологии, ведущий научный сотрудник;

Алексеев Константин Петрович, кандидат биологических наук, ООО «Ветбиохим», отдел НИР, главный специалист по новым технологиям, дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), (г. Владимир), в своем положительном отзыве, подписанном Константином Николаевичем Груздевым, доктором биологических наук, профессором, главным научным сотрудником Информационно-аналитического центра Управления ветнадзором, Александром

Владимировичем Спрыгином, доктором биологических наук, заведующим лабораторией молекулярных и генетических исследований, Алексеем Сергеевичем Иголкиным, кандидатом ветеринарных наук, заместителем руководителя центра- заведующим референтной лабораторией по АЧС ЛДЦ и Романом Сергеевичем Чернышевым, кандидатом биологических наук, младшим научным сотрудником референтной лаборатории по АЧС указали, что «...диссертация Ахуновой Алсу Рузалевны ... является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований предложены решения актуальной научной проблемы по повышению качества серологической диагностики классической чумы свиней. Считаем, что диссертационная работа выполнена на актуальную тему, на современном методологическом уровне, содержит значительный объем исследований, обладает новизной и научно-практической значимостью. Работа полностью соответствуют требованиям пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (с изм. от 16 октября 2024 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор Ахунова Алсу Рузалевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных». Отзыв заслушан, рассмотрен и одобрен на расширенном заседании лаборатории молекулярных и генетических исследований, а также референтной лаборатории по АЧС ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», протокол № 1 от 03.04.2026 г.

По материалам диссертации опубликовано 8 научных работ в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, 4 статьи, опубликованные в сборниках материалов конференций. Диссертационная работа выполнена автором самостоятельно. Часть научно-исследовательских испытаний проведена и опубликована совместно с

другими авторами. Личный вклад составляет - 75 %.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах. Основные работы посвящены получению рекомбинантных антигенов вируса классической чумы свиней и разработке на их основе диагностических тест-систем.

Наиболее значительные работы по теме диссертации:

1. Экспрессия в *E. coli* маркированного рекомбинантного гликопротеина E2 вируса классической чумы свиней / А. Г. Галеева, М. А. Ефимова, К. В. Усольцев, Ш. М. Насыров, Н. И. Хаммадов, **А. Р. Ахунова** [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 2. – С. 49-57. – DOI 10.52419/issn2072-2419.2024.2.49.

2. Иммуноферментная тест-система для оценки напряженности поствакцинального иммунитета к вирусу классической чумы свиней / Ш. М. Насыров, **А. Р. Ахунова**, И. И. Самарханов [и др.] // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. – 2024. – № 3(71). – С. 66-70. – DOI 10.31563/1684-7628-2024-71-3-66-71.

3. Твердофазная иммуноферментная тест-система для производственного контроля специфичности рекомбинантного антигена вируса КЧС / Ш. М. Насыров, **А. Р. Ахунова**, А. Г. Галеева [и др.] // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2024. – № 3(107). – С. 228-235. – DOI 10.37670/2073-0853-2024-107-3-228-235.

4. **Ахунова А. Р.** Применение рекомбинантных антигенов вируса классической чумы свиней в дискриминирующих серологических тестах // Ветеринарный врач. – 2025. – № 5. – С. 58-64. DOI: 10.33632/1998-698X_2025_5_58.

На диссертацию и автореферат поступило 8 отзывов от: д-ра ветеринар. наук, профессора Валентины Ивановны Плешаковой и канд. ветеринар. наук, доцента Татьяны Иосифовны Лоренгель из ФГБОУ ВО «Омский ГАУ»; д-ра биол. наук, доцента Муаеда Фрундзевича Карашаева из ФГБОУ ВО

«Кабардино-Балкарского государственного аграрного университета им. В.М. Кокова»; д-ра ветеринар. наук, профессора Петра Ивановича Барышникова из ФГБОУ ВО «Алтайский Государственный аграрный университет»; д-ра ветеринар. наук Евгения Олеговича Крупина из Татарского научно-исследовательского института сельского хозяйства – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»; д-ра биол. наук, профессора Альфии Васильевны Андреевой из ФГБОУ ВО «Башкирский ГАУ»; д-ра ветеринар. наук, доцента Виктории Владимировны Чекрышевой из Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского ветеринарного института – филиал ФГБНУ «Федеральный Ростовский аграрный научный центр»; д-ра ветеринар. наук, профессора Алексея Владимировича Савинкова из ФГБОУ ВО «Самарский государственный аграрный университет»; д-ра ветеринар. наук, профессора Рустама Хаметовича Раилова из Института «Казанская академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана» ФГБОУ ВО Казанский ГАУ.

Все отзывы положительные, без замечаний.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обоснован их компетентностью в соответствующей отрасли науки, наличием публикаций в соответствующей сфере исследования и способностью определить научную и практическую ценность диссертационной работы (сведения размещены на официальном сайте ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», www.spbguvvm.ru).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

депонированы в Государственной коллекции микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» рекомбинантные штаммы *E. coli* BL21(DE3)pLysS/pET28a/E2 (регистрационный номер № 154) и

BL21(DE3)pLysS/pET28a/Erns (регистрационный номер № 156); справка о депонировании штамма по форме «Хранение» №154/133 10.06.2025; справка о депонировании штамма по форме «Хранение» №156/135 10.06.2025;

разработан набор для определения антител к вирусу классической чумы свиней иммуноферментным методом «КЧС-ИФА»; технические условия «Набор для определения антител к вирусу классической чумы свиней иммуноферментным методом «КЧС-ИФА» по ТУ 21.10.60-009-00492374-2025, утвержденная директором ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» 15 июля 2025 г.; инструкция по использованию «Набора для определения антител к вирусу классической чумы свиней иммуноферментным методом «КЧС-ИФА» ветеринарного назначения, утвержденная директором ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» 15 июля 2025 г.; тест-система «КЧС ИХА»; технические условия «Тест-система «КЧС ИХА»» по ТУ 21.10.60-009-00492374-2024; инструкция по использованию диагностического средства ветеринарного назначения тест-системы «КЧС-ИХА»; дискриминирующий ИФА-тест на основе гликопротеина Erns, подтверждающий принципиальную возможность дифференцирования переболевших и традиционно иммунизированных (цельновирсионными вакцинами) животных от животных, иммунизированных только гликопротеином E2 в монорежиме (маркированными вакцинами); ИФА-тест-система для технологического контроля специфичности рекомбинантного антигена E2;

предложены участки с высокой плотностью расположения В-клеточных эпитопов в протеоме вируса КЧС (для гликопротеина E2 – 8-13, 141-170, 254-259, 818-828, 844-865, 869-878, 985-999 а.о.; для гликопротеина Erns – 31-39, 64-72, 101-130 а.о.); дизайн усеченных пептидов E2 и Erns, позволяющий осуществить дифференциальную диагностику КЧС, что соответствует стратегии DIVA;

доказана высокая чувствительность (98,27 %) и специфичность (98,68 %) антительного ИФА-тест-системы на основе гликопротеина E2

вируса КЧС; диагностическая эффективность дискриминирующего ИФА-теста на основе гликопротеина Erns; принципиальная возможность применения рекомбинантных антигенов в двойном дифференцирующем ИХА-тесте; установлено, что разработанная антигенная ИФА-тест-система позволяет выявлять целевой антиген в концентрациях, составляющих 0,17 % от предполагаемого содержания антигена в сенсibiliзирующем растворе и 0,085 % – от предполагаемого содержания антигена в рекомбинантной субъединичной вакцине, что подтверждает ее высокую пригодность для производственного контроля качества; вирус ВД КРС – контаминант перевиваемых клеточных линий свиного происхождения – относится к субгенотипу 1a и демонстрирует высокую степень аминокислотной идентичности (от 89,9 до 92,8 %) с вакцинными штаммами и эпизоотическими изолятами вируса КЧС, что обосновывает необходимость строгого контроля клеточных линий при производстве диагностикумов и вакцин;

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны и научно обоснованы положения о возможности использования модифицированных антигенов вируса классической чумы свиней (КЧС) прокариотического происхождения для создания высокоспецифичных диагностических тест-систем, совместимых со стратегией DIVA;

применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов)

использован комплекс методов, включающий биоинформационных (анализ геномов и протеомов эпизоотических штаммов и изолятов, поиск иммуногенных эпитопов, *in silico* оценка антигенности кандидатных пептидов и др.), молекулярно-генетических и генно-инженерных (клонирование генов, секвенирование ДНК, получение и трансформация компетентных клеток, оптимизация условий индукции экспрессии и др.),

вирусологических (культивирование вируса *in vivo*, титрование вируса, инфицирование культур клеток и др.), протеомных (белковый электрофорез, масс-спектрометрический анализ, ионообменная и металл-хелатная хроматография), серологических (иммуноферментный и иммунохроматографический анализы), биохимических (получение специфических антисывороток, пероксидазных и нанозолотых конъюгатов и др.) методов исследования, а также статистического анализа;

изложены принципы получения рекомбинантных аналогов антигенов вируса КЧС в прокариотической (*E. coli*) системе экспрессии, методики их выделения и очистки; последовательность создания полуколичественной ИФА-тест-системы для контроля качества рекомбинантного вакцинного сырья, включающие определение порога чувствительности (85 нг/мл) и специфичности (99,54 % с 95 % ДИ: 97,4-100 %); последовательность создания антительной ИФА-тест-системы на основе гликопротеина E2 вируса КЧС, позволяющая достоверно выявлять антитела к вирусу КЧС, в сыворотках крови свиней, и прототип дифференцирующего теста на основе белка Erns, соответствующей стратегии DIVA;

раскрыты особенности использования прототипа двойного ИХА-теста для серологической диагностики КЧС в соответствии со стратегией DIVA; показано, что применение рекомбинантных антигенов E2 и Erns в формате иммунохроматографии позволяет также дифференцировать поствакцинальные антитела от антител, индуцированных полевыми штаммами, что обосновано отсутствием кросс-реактивности к антителам к вирусу ВД КРС;

проведена модернизация подходов к дифференциальной серодиагностике КЧС; впервые сконструированы и депонированы в Государственную коллекцию микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» штаммы *E. coli* – продуценты рекомбинантных антигенов E2 и Erns, которые могут служить основой для перехода на рекомбинантные либо живые

маркированные вакцины в рамках программы эрадикации КЧС; теоретически обоснована возможность применения разработанного ИХА-теста для экспресс-оценки безопасности вакцин на основе живых делеционных мутантов (контроль реверсии к патогенному типу).

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны диагностические наборы: «Набор для определения антител к вирусу классической чумы свиней иммуноферментным методом «КЧС-ИФА» (ТУ 21.10.60-009-00492374-2025) и «Тест-система «КЧС ИХА»» (ТУ 21.10.60-009-00492374-2024) на основе рекомбинантных антигенов прокариотического происхождения;

созданы и депонированы в Государственной коллекции микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» штаммы *E. coli* – продуценты рекомбинантных антигенов E2 и Erns вируса КЧС, которые могут быть использованы в промышленном производстве диагностических тест-систем без использования вирусосодержащего материала;

внедрена в лабораторную практику ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (в качестве внутреннего стандарта организации) полуколичественная ИФА-тест-система для контроля качества рекомбинантного антигена E2, входящего в состав субъединичной вакцины против КЧС, что позволяет осуществлять производственный контроль специфичности антигенного сырья с пределом чувствительности 85 нг/мл;

представлен отечественный вариант двойного ИХА-теста для экспресс-серодиагностики КЧС, который позволяет оценивать напряженность поствакцинального иммунитета в кратчайшие сроки (3-5 мин) непосредственно в условиях свиноферм, а также дифференцировать поствакцинальные антитела от антител, индуцированных полевыми штаммами, что совместимо с переходом на рекомбинантные либо живые маркированные вакцины в рамках программы эрадикации КЧС;

определены перспективы использования разработанного ИХА-теста для экспресс-оценки безопасности вакцин на основе живых делеционных мутантов (возможность реверсии к патогенному типу), что подтверждено отсутствием кросс-реактивности к антителам к вирусу ВД КРС и другими представителями рода *Pestivirus*;

созданы инструкции по применению разработанных тест-систем «КЧС-ИФА» и «КЧС ИХА».

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ: подтверждается использованием репрезентативной выборки объектов исследования, которая соответствует целям и задачам данной научно-квалификационной работы, применением современных методов исследования (анализ геномов и протеомов с использованием баз NCBI, IEDB, Vaxign 2.0, TMHMM 2.0, SignalP 5.0, NetNGlyc 1.0, DictyOGlyc 1.1, ProtParam, Swiss-Model, ВЭЖХ-МС/МС), а также статистического анализа с использованием программ «GraphPad Prism 7.0» («GraphPad Software Inc.», США) и «MedCalc» («MedCalc Software Ltd», Бельгия); достаточным объемом фактического материала, обработанного с помощью методов статистики, применяемых в биологических исследованиях (ROC-анализ), публикацией результатов работы в рецензируемых журналах и их апробацией на международных и всероссийских конференциях;

теория построена на объективных законах и принципах молекулярной биологии, геномной инженерии, иммунологии, вирусологии и биоинформатики, известных и проверенных фактах, которые согласуются с опубликованными ранее экспериментальными данными по теме диссертации, подтверждена анализом источников информации и собственных результатов, полученных автором;

идея базируется на анализе проведенных автором биоинформационных и иммунобиологических исследований, а также на обобщении передового опыта российских и зарубежных исследователей, касающихся тематики

исследования;

использованы сравнения авторских данных и данных патентной и научно-технической документации из открытых источников в отечественных и зарубежных изданиях, полученных ранее другими исследователями;

установлено некоторое совпадение результатов, полученных автором, с результатами, имеющимися в научной литературе, которые касаются принципиальной возможности использования усеченных пептидов E2 и Erns вируса КЧС для серологической дискриминации, но представленные в диссертационной работе данные являются оригинальными;

использованы современные методики сбора, анализа и обработки исходной информации, которые адекватны задачам исследования и в целом обеспечили получение новых данных.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии соискателя на всех этапах планирования и выполнения диссертационного исследования. Диссертация является результатом исследования автора в период с 2023 по 2025 гг.

Автором диссертации совместно с научным руководителем определены цель и задачи исследования, сформулированы выводы. Личный вклад диссертанта заключался в анализе и обработке литературных данных, выполнении лабораторных исследований, получении и обработке статистических данных, подготовке публикаций. Основные научные результаты диссертации опубликованы в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России. Полученные результаты были оформлены автором в виде диссертационной работы.

В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было. Соискатель Ахунова Алсу Рузалевна ответила на задаваемые ей вопросы, согласилась с ними и привела собственную аргументацию, касающуюся: актуальности исследования, конструировании

усечённых пептидов, оптимизации кодонов и GC-состава, перекрёстной реактивности антител вируса КЧС с антителами к вирусу диареи КРС и пограничной болезни овец, протокола постановки двух видов ИФА, стабильности рекомбинантных белков, сравнительной оценки диагностических тест-систем и практического внедрения тест-систем.

На заседании 23 апреля 2026 г., протокол № 32 диссертационный совет принял решение: за разработанные DIVA-совместимые тест-системы для серологической диагностики классической чумы свиней присудить Ахуновой Алсу Рузалевне ученую степень кандидата ветеринарных наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве - 13 человек, из них - 7 докторов наук по специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных, участвовавших в заседании, из 15 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 13, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель
диссертационного совета



Сухинин Александр Александрович

Учёный секретарь
диссертационного совета

Кузнецова Надежда Викторовна

23 апреля 2026 г.