



Россельхознадзор

**Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Федеральный центр охраны здоровья животных»  
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)**

600901, Россия, Владимирская область, город Владимир, микрорайон Юрьевец,  
т.: (4922) 26-06-14, т./ф.: (4922) 26-38-77, e-mail: mail@arriah.ru, сайт: www.arriah.ru  
ОКПО: 00495527, ОГРН: 1023301283720, ИНН/КПП: 3327100048/332701001

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГБУ «Федеральный центр  
охраны здоровья животных»  
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)



Косырев Пётр Иванович

*П.И. Косырев*

\_\_\_\_\_ 2021 г.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный центр  
охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

Диссертация «Заразный узелковый дерматит КРС: генодиагностика и изучение потенциальных переносчиков на территории Российской Федерации» выполнена в референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота.

В период подготовки диссертации соискатель Спрыгин Александр Владимирович работал в федеральном государственном бюджетном учреждении «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ») в референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота в должности старшего научного сотрудника.

В 2006 г. Спрыгин А.В. окончил государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Владимирский государственный педагогический университет» по специальности «Биология» с

дополнительной специальностью «Химия». В период с 2006 г. по 2009 г. Спрыгин А.В. обучался в аспирантуре ФГБУ «ВНИИЗЖ» по специальности «Вирусология».

Диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук на тему «Разработка методов диагностики микоплазмозов кур и изучение изолятов *Mycoplasma gallisepticum*, выявленных на территории Российской Федерации» защитил в диссертационном совете при ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» в 2009 году (диплом серия ДКН №106989 от 02.04.2010 г.).

По итогам обсуждения, в соответствии с п.16 Положения о присуждении ученых степеней, принято следующее заключение:

Диссертация Спрыгина А.В. является логически завершенной научно-квалификационной работой, выполненной на современном научно-методическом уровне. Автором решены задачи по разработке и внедрению комплекса тест-систем для диагностики ЗУД КРС, включающего: разработку скрининговой тест-системы ПЦР-РВ для выявления генома каприпоксвирусов; разработку тест-системы ПЦР-РВ для выявления генома вируса ЗУД КРС; разработку тест-системы ПЦР-РВ для выявления генома полевых изолятов вируса ЗУД КРС; разработку тест-системы ПЦР-РВ для выявления генома вакцинных штаммов типа вируса ЗУД КРС типа Neethling. Соискатель провел филогенетический анализ геномов выявленных изолятов вируса ЗУД КРС, циркулирующего в РФ в период с 2015 по 2018 гг; провел энтомологические исследования и апробацию разработанных тест-систем для выяснения возможной роли местных кровососущих насекомых в трансмиссии вируса ЗУД КРС в климатических условиях Российской Федерации.

Поставленные перед соискателем цель и задачи реализованы в полной мере и имеют практическую значимость. Автореферат отражает содержание работы.

**Личное участие соискателя в получении результатов.** Анализ генетических баз данных, дизайн праймеров, валидация тест-систем, генетическое секвенирование и энтомологические исследования выполнены соискателем лично. Соискателем самостоятельно проведен анализ полученных результатов, сделан ряд важных открытий и сформулированы научно-обоснованные выводы,

подготовлены методические рекомендации, технические регламенты на производство тест-систем и получены четыре патента РФ на изобретения.

**Степень достоверности результатов проведенных исследований.** Работа выполнена с использованием современных подходов молекулярной биологии, генетики и биоинформатики, результаты которой опубликованы в ведущих международных рецензируемых журналах. Результаты доложены на профильных международных совещаниях по проблеме ЗУД КРС. Разработанные тест-системы ПЦР-РВ прошли все этапы валидации, включая апробацию на образцах со вспышек, и международные сличительные испытания. Полученные экспериментальные данные статистически обработаны и не вызывают сомнений в их достоверности. Выводы и практические предложения научно обоснованы и вытекают из результатов исследований, изложенных в диссертации.

**Новизна, практическая значимость и ценность полученных результатов.** В результате проведенных исследований впервые в России разработан и внедрен в лабораторную практику диагностический комплекс тест-систем на основе ПЦР-РВ для выявления генома каприпоксвирусов и вируса ЗУД КРС с последующей дифференциацией полевых изолятов и вакцинных штаммов, включая идентификацию рекомбинантных изолятов. Показана высокая аналитическая и диагностическая чувствительность и специфичность, а также воспроизводимость разработанных тест-систем на основе ПЦР-РВ. Разработанный комплекс методов прошел все этапы апробации и валидации, как на референтных штаммах и полевых образцах, так и в международных сличительных испытаниях по дифференциации каприпоксвирусов, организованных референтной лабораторией Sciensano (Бельгия). На основе разработанных методов предложена схема проведения диагностических исследований на ЗУД КРС с возможностью дифференциации вакциноподобных и полевых изолятов вируса ЗУД КРС, успешно реализуемая в рамках национального противоэпизоотического мониторинга ЗУД КРС в РФ.

Изучены молекулярно-биологические свойства изолятов вируса ЗУД КРС, выявленных на территории РФ в 2015-2018 гг. на основе локусов RPO30 и GPCR. Показано, что в 2015 - 2016 гг. на территории РФ все вспышки были вызваны

полевыми изолятами вируса ЗУД КРС, тогда как с 2017 г. начали регистрироваться вакциноподобные изоляты вируса ЗУД КРС, а в 2018 г. во всех исследованных вспышках регистрировали только рекомбинантные вакциноподобные изоляты. Полученные данные свидетельствуют о заносе извне вакциноподобных изолятов вируса ЗУД КРС на территорию РФ.

Впервые в РФ определена полная геномная последовательность полевого штамма Dagestan/2015 ЗУД КРС (депонирована в базу данных GenBank под номером MN893760), выделенного во время первой вспышки в Республике Дагестан в 2015 г. Показана максимальная степень его родства с изолятами ЗУД КРС, выявленными в Сербии и Греции в 2015-2016 гг. Данный факт указывает на то, что вспышки ЗУД КРС в России, Сербии и Греции в тот период были вызваны одним и тем же генотипом вируса.

Впервые выявлен изолят, который является результатом рекомбинации в естественных условиях между вакцинным и полевым вирусом ЗУД КРС. Его полная геномная последовательность определена и депонирована в базу данных GenBank под номером MN646674. Установлено, что в качестве доминантного родительского штамма выступает вакцинный штамм типа Neehtling, в геноме которого мозаично разбросаны участки генома KSGP-подобного полевого изолята вируса ЗУД КРС.

С помощью метода ПЦР-РВ с анализом пиков плавления предложена схема диагностических исследований для идентификации рекомбинантных вакциноподобных изолятов вируса ЗУД КРС, циркулирующего в РФ.

В рамках разработки энтомологического подхода для изучения вопросов трансмиссии вируса ЗУД КРС, установлен период лёта и активность потенциальных векторов-переносчиков ЗУД КРС – мокрецов р. *Culicoides* в РФ как наиболее многочисленной группы кровососущих двукрылых. Установлено, что доминантными видами являются мокрецы комплекса *Obsoletus*, однако при энтомологических исследованиях ДНК вируса в мокрецах р. *Culicoides* не выявлена.

Впервые установлена роль некровососущих мух *Musca domestica* как механических переносчиков ДНК вируса ЗУД КРС. Вирусная ДНК присутствует

как внутри насекомого, так и на поверхности его экзоскелета. Также показано, что в трансмиссии вируса ЗУД КРС потенциально могут участвовать слепни.

Научная новизна полученных результатов подтверждена 4 патентами РФ на изобретения (№2668398, №2658493, №2699195, №2714045).

Все полученные в рамках данной работы последовательности участков генома полевых и вакциноподобных изолятов вируса ЗУД КРС депонированы в международную базу данных GenBank.

Разработаны, одобрены Ученым советом и утверждены директором ФГБУ «ВНИИЗЖ» следующие методические рекомендации:

Методические рекомендации по выявлению генома каприпоксвирусов с помощью ПЦР в режиме реального времени;

Методические рекомендации по выявлению генома каприпоксвирусов методом ПЦР-РВ в молоке;

Методические рекомендации по выявлению генома вируса заразного узелкового дерматита КРС с помощью ПЦР в режиме реального времени;

Методические рекомендации по выявлению генома полевых изолятов вируса ЗУД КРС с помощью ПЦР в режиме реального времени;

**Научная специальность, которой соответствует диссертация.** Результаты исследований, полученные соискателем, соответствуют следующим пунктам паспорта специальности 03.02.02 «Вирусология»: п.1. Изучение природы и происхождения вирусов как автономных генетических структур, способных функционировать и репродуцироваться в восприимчивых к ним клетках животных, растений, простейших, грибов, бактерий; п.2. Изучение химического состава, структуры и строения вирусов, антигенных и биофизических свойств вирусов и их устойчивости в окружающей среде; п.4. Проблемы генетики вирусов, структурной организации генома вирусов, картирования вирусного генома, разработка способов увеличения информационной емкости вирусного генома, исследование процессов, контролирующих наследственность и изменчивость вирусов, изучение генетических и негенетических взаимодействий между вирусами; п.8. Проблемы экологии вирусов, их географического распространения, эпидемиологии и путей распространения вирусных инфекций, изучение путей

передачи вирусов, их носительства, выявление естественных хозяев; п.10. Разработка мер предупреждения, диагностики и лечения вирусных заболеваний, совершенствование лабораторных диагностических систем, терапии, химиотерапии и иммунопрофилактики вирусных инфекций, проблемы санитарной вирусологии.

**Полнота изложения материалов диссертации в публикациях соискателя.** По основным материалам диссертационной работы Спрыгина А.В. опубликовано 16 научных статей в изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных журналов и международные базы Web of Science и Scopus и четыре патента РФ на изобретения, где достаточно полно отражены полученные автором научные результаты и положения выполненной работы. Общий объем статей составляет 96 журнальных страниц, личный вклад составляет более 70%.

1. Тест-системы ПЦР для выявления генома каприпоксвирусов и вируса заразного узелкового / А.В. Спрыгин, Я.Е. Пестова, Е.С. Кострова, Е.Е. Артюхова, С.В. Кононова, О.П. Бьядовская, А.В. Кононов// Сельскохозяйственная биология. – 2019. – Т. 54, № 2. – С. 347-458. doi: 10.15389/agrobiology.2019.2.347rus

2. Analysis and insights into recombination signals in lumpy skin disease virus recovered in the field // A. Sprygin, Y. Babin, Y. Pestova, S. Kononova, D.B. Wallace, A. Van Schalkwyk, O. Byadovskaya, V. Diev, D. Lozovoy, A. Kononov // PLoS One. – 2018. – Vol. 13, N 12: e0207480 doi: 10.1371/journal.pone.0207480. eCollection 2018.

3. A real time high-resolution melting PCR assay for detection and differentiation among sheep pox virus, goat pox virus, field and vaccine strains of lumpy skin disease virus // Y. Pestova, O. Byadovskaya, A. Kononov, A. Sprygin // Molecular and Cellular Probes. – 2018. – Vol. 41. – P. 57-60. doi: 10.1016/j.mcp.2018.08.003.

4. Complete genome sequence of the lumpy skin disease virus recovered from the first outbreak in the Northern Caucasus of Russia in 2015 / A. Sprygin, Yu. Babin, A. Pestova, S. Kononova, O. Byadovskaya, A. Kononov // Genome Announcements. – 2019. – Vol. 8: e01733-18. doi.org/10.1128/MRA.01733-18.

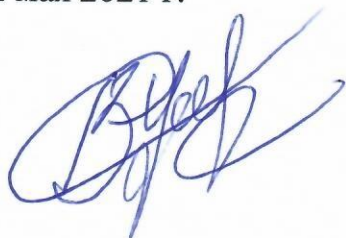
5. Culicoides biting midges (Diptera, Ceratopogonidae) in various climatic zones of Russia and adjacent lands / A.V. Sprygin, O.A. Fiodorova, Y.Y. Babin, N.P.

Elatkin, B. Mathieu, M.E. England, A.V. Kononov // J. Vector Ecology. – 2014. – Vol. 39, N 2. – P. 306-315. doi: 10.1111/jvec.12105

В диссертации соискатель ссылается на автора и источник заимствования материалов или отдельных результатов.

Диссертация Спрыгина Александра Владимировича на тему «Заразный узелковый дерматит КРС: генодиагностика и изучение потенциальных переносчиков на территории Российской Федерации» рекомендуется к официальной защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.02 «Вирусология».

Заключение принято на расширенном заседании референтной лаборатории болезней КРС ФГБУ «ВНИИЗЖ». Присутствовало на заседании 33 человека. Результаты голосования: «за» - 26 чел., «против» - 0, «воздержалось» - 0, протокол №2 от 12 мая 2021 г.



Русалеев Владимир Сергеевич –  
доктор ветеринарных наук,  
профессор, ученый секретарь ФГБУ  
«ВНИИЗЖ»