

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Кузнецовой Веры Сергеевны на тему «Создание экспериментальной иммуноферментной тест-системы и ее дот-варианта для индикации *Yersinia pseudotuberculosis* у сельскохозяйственных животных», представленный в диссертационный совет 35.2.035.01 при ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И.Вавилова», на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.2.3 Инфекционные болезни и иммунология животных

### **Актуальность темы диссертационного исследования.**

Псевдотуберкулёз является широко распространённой инфекцией. Особенно велико его значение для северных и восточных регионов РФ. Однако если роль псевдотуберкулёза в патологии людей ясна, то у животных данная инфекция является недостаточно изученной. Хотя по многочисленным исследованиям зарубежных авторов высеваемость *Yersinia pseudotuberculosis* в Европе от сельскохозяйственных животных составляет 18%. Данная ситуация во многом связана с высокой трудоёмкостью, длительностью, низкой эффективностью бактериологического метода диагностики, а также незначительного ассортимента антительных диагностических препаратов. Существующие на сегодняшний день немногочисленные диагностические тест-системы не адаптированы для ветеринарных целей. Поэтому создание новых антительных псевдотуберкулёзных диагностических тест-систем ветеринарного назначения является актуальной задачей.

Также важным условием при создании диагностических препаратов является иммунизация животных-продуцентов правильно подобранным сочетанием антигена и адьюванта. В этой связи проведённое в работе Кузнецовой В.С. изучение нового полиэлектролитного адьюванта повышает актуальность выполненной работы.

**Новизна исследований, полученных результатов, выводов и рекомендаций в диссертационной работе.** В диссертационной работе Кузнецовой В.С. впервые детально изучен белковый состав дезинтегрированных мембран *Y. pseudotuberculosis*. Определена антигенная активность отдельных белков. Установлены клеточной и гуморальной иммунные ответы у белых мышей на введение дезинтегрированных мембран *Y. pseudotuberculosis*. Впервые определена возможность комплексного использования дезинтегрированных мембран и полиазилидинаммония, модифицированного гидрат-ионами йода, при гипериммунизации кроликов и морских свинок. Автором впервые в Саратовской области проведено массовое бактериологическое исследование сельскохозяйственных животных в левобережной зоне Саратовской области. На основе полученных экспериментальных гипериммунных сывороток Кузнецовой В.С. созданы две новые диагностические псевдотуберкулёзные тест-системы: иммуноферментная и её дот-вариант с золотыми наночастицами. Данные тест-системы доказали свою эффективность при исследовании телят в СПХ «Заря»,

с.Большая Сакма, Краснопартизанского района. Таким образом, можно утверждать, что проведённые Кузнецовой В.С. в диссертационной работе многочисленные научные исследования и полученные результаты являются новыми, их достоверность не вызывает сомнений.

**Обоснованность научных положений, выводов, заключений и рекомендаций в диссертационной работе.** Цель и задачи, поставленные в диссертационной работе четко сформированы, выбранные объекты аргументированы. Исследования проводились в рамках плановых НИР ФГБОУ ВО Вавиловский университет.

Применяемые в диссертационной работе современные методы бактериологических, иммунологических, биохимических и иммунохимических исследований, соответствуют поставленным целям и задачам.

Обоснованность научных положений, выводов и заключений в диссертационной работе Кузнецовой В.С. обеспечена значительным объемом экспериментального материала. Результаты проведённых экспериментов полностью отражены в 18 таблицах и шести рисунках.

Выводы и научные положения логично вытекают из результатов собственных исследований. Они в полной мере отвечают на поставленные задачи диссертационной работы.

**Достоверность полученных результатов, выводов и рекомендаций в диссертационной работе и апробация.** Достоверность научного материала, представленного в диссертационной работе, определяется углубленным изучением значительного объёма отечественных и зарубежных научных источников, применением современных методов исследований с использованием сертифицированного лабораторного оборудования, лабораторных и сельскохозяйственных животных, корректной статистической обработкой полученных результатов.

Результаты проделанной работы апробированы на 10 научных конференциях, пять из которых являются международными. Также достоверность полученных в диссертации результатов подтверждается двумя научными публикациями в отечественных изданиях, рекомендованных ВАК РФ, пятью статьями в изданиях из международной базы данных (Scopus, Web of Science, Agris) и пятью статьями в сборниках национальных и региональных конференций.

**Теоретическая и практическая ценность полученных автором результатов.** Теоретическое значение диссертационной работы связано с достаточно глубоким изучением белкового состава дезинтегрированных мембран *Y. pseudotuberculosis*, антигенной активности отдельных белков и их влияния на клеточный и гуморальный иммунные ответы у животных.

Также результаты проведённых исследований дополняют теоретическую базу по изучению взаимодействия белковых и липополисахаридных микробных антигенов с полиэлектролитными адьювантами. Показана возможность получения диагностических псевдотуберкулёзных сывороток крови животных при комплексном использовании дезинтегрированных мембран *Y. pseudotuberculosis* и полиазолидинаммония, модифицированного гидрат-ионами йода.

Практическое значение диссертационной работы связано с созданием иммуноферментной тест-системы и её дот-варианта, которые существенно повышают эффективность диагностики псевдотуберкулёза у сельскохозяйственных животных.

Для применения созданных препаратов разработаны две инструкции: «Инструкция по применению иммуноферментной тест-системы для ускоренного выявления возбудителя псевдотуберкулёза животных в средах накопления (фосфатно-солевом буфере)» (Иващенко С.В., Кузнецова В.С., 2023); «Инструкция по применению дот-иммуноферментной тест-системы для ускоренного выявления возбудителя псевдотуберкулёза животных в средах накопления» (Иващенко С.В., Кузнецова В.С., 2023). Данные инструкции позволяют облегчить использование созданных тест-систем широкому кругу ветеринарных специалистов и осуществлять массовые исследования сельскохозяйственных животных на псевдотуберкулёз.

Результаты диссертационной работы внедрены в СПХ «Заря», с.Большая Сакма, Краснопартизанского района Саратовской области, что отражено в соответствующем акте ветеринарной государственной службы (акт от 22.04.2020 г). По результатам проведённых испытаний экспериментальные тест-системы рекомендуется использовать для индикации *Y.pseudotuberculosis* в фекалиях сельскохозяйственных животных.

Материалы исследований используются при проведении учебных занятий со студентами специальности «Ветеринария» и направления подготовки «Биотехнология» в ФГБОУ ВО Вавиловский университет.

**Оценка содержания диссертационной работы, степени ее завершенности и качества оформления.** Диссертационная работа Кузнецовой В.С., изложенная на 145 страницах машинописного текста и содержащая 18 таблиц и шесть рисунков, построена традиционно, выделены: введение, обзор литературы, собственные исследования, включающие материалы и методы исследований, результаты исследований и их обсуждение, заключение, выводы, практические предложения, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений и условных обозначений, список литературы 225 из источников, в том числе 114 иностранных и приложение.

В разделе «Обзор литературы» представлена литература о распространённости псевдотуберкулёзного микроба у животных и людей на территории РФ и за её рубежами, о современных методах лабораторной диагностики псевдотуберкулёза, об антигенной структуре *Y.pseudotuberculosis* и возможности применения различных адъювантов для получения гипериммунных сывороток крови животных. На основании всестороннего анализа данных литературы автор четко определил цель диссертационного исследования. Для реализации поставленной цели было представлено пять задач.

В разделе «Материалы и методы исследований» описывается все использованные в работе методы исследований и материалы. Использованные методы исследования являются современными и соответствуют поставленным задачам.

В разделе «Результаты исследований и их обсуждение» приведены результаты экспериментальных исследований по изучению белков, входящих в состав дезинтегрированных мембран *Y. pseudotuberculosis*; по использованию полиазолидинаммония, модифицированного гидрат-ионами йода, в качестве адьюванта для получения кроличьих гипериммунных сывороток к дезинтегрированным мембранам и липополисахариду *Y. pseudotuberculosis*; по созданию иммуноферментной тест-системы и её дот-варианта на основе антител, полученных к дезинтегрированным мембранам *Y. pseudotuberculosis*; по индикации *Y. pseudotuberculosis* у сельскохозяйственных животных и при помощи бактериологического метода диагностики и созданных тест-систем.

Материал данного раздела диссертации изложен на 41 странице печатного текста, в полной мере иллюстрирован таблицами и рисунками, что значительно облегчает восприятие полученного материала. Приведённые в таблицах результаты исследований статистически обработаны.

Разделы диссертации «Заключение», «Выводы» и «Практические предложения» содержат материал, подвергнутый объективному анализу и логично вытекающий из представленных в работе результатов исследований. Работа завершается пятью выводами, которые соответствуют поставленным задачам и положениям, выносимым на защиту, отражают суть проведенных исследований.

Исходя из вышеизложенного, очевидно, что научная новизна исследования, достоверность полученных результатов и сделанных на их основе выводов и рекомендаций, не вызывают сомнений. Результаты исследований представляют высокую значимость для науки и практики и могут быть использованы для решения ряда насущных проблем в животноводстве и ветеринарии.

В целом, содержание диссертации соответствует цели работы. Она представлена как завершённое научное исследование, оформленное в соответствии с требованиями ВАК РФ. Её автореферат как по структуре, так и по сути изложения полученных результатов полностью отражает содержание диссертации. Автореферат выдержан по форме и объёму, аккуратно оформлен в соответствии с требованиями ВАК РФ.

Работа заслуживает положительной оценки, принципиальных недостатков, которые могли бы снизить общую положительную оценку работы нет. Несмотря на общую положительную оценку работы, возникли некоторые вопросы:

1. Раскройте пожалуйста, какое влияние на адьювантные свойства полиазолидинаммония, модифицированного гидрат-ионами йода, оказывают атомы йода?

2. Для определения специфичности созданных вами тест-систем были использованы только *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*. Поясните пожалуйста, почему вами не использовались другие виды бактерий из рода иерсиний?

3. Укажите пожалуйста, какой процент сельскохозяйственных животных, давших положительный результат лабораторного исследования на псевдотуберкулёз, проявлял клинические признаки инфекционного заболевания?

Представленные вопросы являются уточняющими, они не затрагивают основной сути проделанной работы и не снижают ее научную и практическую значимость.

### Заключение

Диссертационная работа Кузнецовой Веры Сергеевны на тему «Создание экспериментальной иммуноферментной тест-системы и ее дот-варианта для индикации *Yersinia pseudotuberculosis* у сельскохозяйственных животных» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, выполненную на высоком научно-методическом и профессиональном уровне. По своей актуальности, степени обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверности и новизне, практической значимости, детальности обсуждения и объему полученных результатов диссертационная работа полностью соответствует требованиями п.п. 9-14 «Положение о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г. (в редакции от 20.03.2021 г.) предъявляемых к кандидатским диссертациям, а ее автор, Кузнецова Вера Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических по специальности 4.2.3 Инфекционные болезни и иммунология животных.

« 08 » мая \_\_\_\_\_ 2024 г.

Официальный оппонент:

Профессор кафедры инфекционных болезней, зооигиены и ветсанэкспертизы федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный аграрный университет» (ФГБОУ ВО Башкирский ГАУ), доктор биологических наук (16.00.03 ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология), профессор, Заслуженный работник высшей школы РФ, Заслуженный деятель науки Республики Башкортостан

Андреева Альфия Васильевна

450001, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. 50-летия Октября, 34;  
Тел./факс (347) 228-91-77 e-mail: [bgau@ufanet.ru](mailto:bgau@ufanet.ru)

Подпись Андреевой А.В. заверяю:

Подпись <i>Андреевой А.В.</i>
ЗАВЕРЯЕТ
Заведующий филиалом
<i>Андреевой А.В.</i>
« 08 » мая 2024 г.
ИНН 0278011005

