



**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК
ГНУ Самарская научно – исследовательская ветеринарная станция**

443013 г. Самара, ул. Магнитогорская, 8

Телефакс: (846) 336-03-58, Телефон: (846) 336-03-41, samnivs@mail.ru

№ 157 от 17 сентября 2014 г.

**В Диссертационный Совет Д 220.061.04 при
ФГБОУ ВПО "Саратовский государственный
аграрный университет имени Н.И. Вавилова"**

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

Богоутдинова Наиля Шамильевича

на тему: «Биотехнологические аспекты разработки экспериментальной терапевтической вакцины против актиномикоза крупного рогатого скота» по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), 03.02.03 – микробиология на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертационная работа Богоутдинова Наиля Шамильевича посвящена разработке терапевтической вакцины для лечения и профилактики актиномикоза крупного рогатого скота, ее апробации на лабораторных и сельскохозяйственных животных и оценке ее экономической эффективности.

Актуальность избранной темы.

Актиномикоз крупного рогатого скота относится к хроническим инфекционным болезням, причиняющим значительный ущерб животноводству.

Широта распространения актиномикоза в различных странах мира, в том числе, в России, Казахстане и Украине, а также отсутствие специфических средств его профилактики и низкая эффективность существующих средств и способов лечения обуславливают необходимость разработки новых, эффективных подходов и методов лечения и профилактики этого заболевания. Как указано в диссертации соискателя, одним из перспективных направлений в решении этих задач является создание нового, более доступного, экономически выгодного и высокоэффективного препарата, который может быть использован, как для лечения, так и для профилактики актиномикоза КРС. Наличие такого препарата у ветеринарных врачей, несомненно, позволило бы значительно снизить экономический ущерб в хозяйствах, складывающийся из снижения прироста и ухудшения качества получаемой продукции, а также высоких затрат на лечение больных актиномикозом животных.

Разработка профилактических и терапевтических вакцинных препаратов является перспективным направлением на стыке фармакологии и биотехнологии и относится к приоритетным направлениям развития науки в РФ. Вместе с тем, изученность влияния данных препаратов на биохимические и физиологические параметры макроорганизмов далека от полноты; в частности, отмечается недостаток знаний о влиянии таких вакцин на основные показатели гомеостаза макроорганизма. Данная работа, по замыслу соискателя, должна привести к появлению нового вакцинного препарата для лечения и профилактики актиномикоза крупного рогатого скота, а также знаний о действии этого препарата на биохимические показатели организма КРС.

Степень обоснованности, достоверность и новизна исследования, научных положений, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Соискатель выносит на защиту следующие положения:

1. Впервые разработаны и оптимизированы основные этапы биотехнологии приготовления экспериментальной терапевтической вакцины против актиномикоза КРС.

2. Штамм-продуцент из клинических изолятов культур *A. bovis* NV-01, выделенный из патологического материала КРС, больных актиномикозом, является пригодным для приготовления экспериментальной серии терапевтической вакцины.

3. Разработка оптимальных способов получения протективных компонентов из штамма-продуцента *A. bovis* NV-01 методом замораживания-оттаивания и ультразвуковой дезинтеграции.

4. Биохимический состав экспериментальной серии терапевтической актиномикозной вакцины представлен белками (1,1-1,3 мг/мл) и липидами (холестерин и триглицериды, 0,25-0,3 мМ/л и 0,9-1,0 мМ/л, соответственно).

5. Введение экспериментальной серии актиномикозной терапевтической вакцины с лечебной и профилактической целью приводит к гармонизации биохимических и иммунологических показателей в организме лабораторных и сельскохозяйственных животных.

6. Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий после введения экспериментальной серии актиномикозной терапевтической вакцины (ЭС-42) КРС в производственных условиях позволяет сохранить денежные средства на каждый рубль ветеринарных затрат в размере 5,7 рубля.

По полученным результатам соискателем сделаны выводы:

1. Разработаны оптимальные способы приготовления экспериментальной серии актиномикозной терапевтической вакцины из штамма-продуцента *A. bovis* NV-01 с применением метода замораживания-оттаивания и ультразвуковой обработки биомассы. Установлено, что 20-кратное размораживание-оттаивание или ультразвуко-

вая дезинтеграция обеспечивают выход цитоплазматической фракции бактерии, необходимой для приготовления препарата.

2. Установлено, что клинический изолят *A. bovis* NV-01, выделенный из патологического материала больных актиномикозом коров, является пригодным для приготовления экспериментальной серии актиномикозной терапевтической вакцины.

3. Все три штамма, выделенные из двух разных хозяйств Саратовской области за период 2007-2008 г., по всем морфологическим, тинкториальным, биохимическим признакам соответствуют типичным представителям вида *A. bovis*. Они образуют грамположительные нити различной длины в виде сегментированных цепочек, длинные или короткие, тонкие слегка изогнутые палочки дифтероидного типа, располагающиеся одиночно, парами или встречаются V-, Y-образные формы. Бактерии *A. bovis* ферментируют с образованием кислоты глюкозу, сахарозу, мальтозу, лактозу, растворимый крахмал, не образуют кислоты из маннита, арабинозы, рибозы, ксилозы, целлобиозы, раффинозы, рамнозы, трегалозы; не образуют каталазу; гидролизуют крахмал и не гидролизуют желатин; не восстанавливают нитраты до нитритов; не образуют индола.

4. В результате исследования препарата с помощью электрофореза в 20% полиакриламидном геле выявлена цитоплазматическая фракция бактерии с молекулярной массой белка (20-90 кДа) и содержанием 0,25-0,3 мМ/л холестерина и 0,9-1,0 мМ/л триглицеридов.

5. Исследованием биохимических и иммунологических показателей крови у лабораторных и сельскохозяйственных животных после введения экспериментальной серии терапевтической вакцины с лечебной и профилактической целью удалось показать гармонизацию биохимических и иммунологических показателей у крупного рогатого скота.

6. Разработанный экспериментальный препарат обладал выраженным терапевтическим эффектом в отношении животных с актиномикомой, не превышающей в диаметре 12 см (т.е. на начальной стадии болезни) и был менее эффективным при лечении КРС с актиномикомой большего диаметра (более 25 см).

7. Проведенные профилактические мероприятия против актиномикоза крупного рогатого скота, основанные на двукратном введении животным препарата из выделенного нами штамма *A. bovis* NV-01, обеспечивают 100% эффективность.

8. ЭС терапевтической вакцины против актиномикоза КРС удобна в применении, не требует длительных сроков лечения, не вызывает нежелательных побочных эффектов и повышает резистентность животных к возбудителю *A. bovis* NV-01 путем нормализации обменных процессов и иммунного статуса животных.

9. Установлена высокая экономическая эффективность ветеринарных мероприятий после введения экспериментальной серии терапевтической вакцины крупному рогатому скоту в условиях СПК колхоз «Красавский» Лысогорского района

Саратовской области. Денежные средства, сохраненные на каждый рубль ветеринарных затрат, составили 5,7 рубля.

По материалам диссертационной работы опубликованы «Методические рекомендации по применению лечебно-профилактического препарата из культуры *Actinomyces bovis* против актиномикоза крупного рогатого скота» (в соавторстве с Ласкавым В.Н., Панферовым В.И., 2012), утвержденные Российской академией сельскохозяйственных наук. Получен патент на изобретение №2378001 («Средство для лечения актиномикоза крупного рогатого скота»).

Проведенное исследование является новым; в мировой литературе практически отсутствуют сведения об успешной разработке или применении вакцин против актиномикоза КРС. Автором впервые получена вакцина для лечения и профилактики актиномикоза КРС на основе клеточных лизатов *A. bovis*, исследованы ее состав, влияние на биохимические и иммунологические показатели животных и продемонстрирована высокая эффективность как при профилактическом применении, так и при лечении ранних стадий актиномикоза КРС. Приведенные в диссертации положения, а также полученные результаты и выводы являются вполне обоснованными с точки зрения существующего положения дел в данной области, подтверждаются приведенными в тексте диссертации фактическими данными и являются статистически достоверными.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов.

Полученные результаты имеют высокую научно-практическую значимость. Хотя разработанный препарат и является малоэффективным при хронических формах актиномикоза с развитыми патологическими изменениями, его эффективность при применении на ранних стадиях заболевания и в профилактических целях продемонстрирована с достаточной степенью обоснованности. Учитывая легкость получения вакцинного препарата, удобство его применения, отсутствие побочных эффектов, а также высокую экономическую эффективность ветеринарных мероприятий после введения разработанной вакцины, практическая реализация данной работы может привести к значительному снижению заболеваемости КРС актиномикозом, снизить затраты на лечение больных животных, сократить сроки заболевания и выбытие животных, находящихся на ранних стадиях заболевания и, в целом, повысить продуктивность крупного рогатого скота.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации.

Полученные в ходе данной работы результаты могут быть использованы для создания коммерческой вакцины для профилактики и лечения актиномикоза крупного рогатого скота, а также в качестве задела для дальнейших исследований в области биохимии, физиологии и иммунологии сельскохозяйственных животных и биотех-

нологии. В частности, на основе полученных результатов возможно проведение работ, направленных на дальнейшее совершенствование данной вакцины, на получение комбинированных препаратов на ее основе, на более подробное изучение ее состава с целью его возможной оптимизации, на расширенное исследование ее влияния на биохимический, физиологический и иммунологический статус КРС, а также на разработку аналогичных препаратов от актиномикозов других животных либо других заболеваний животных.

Содержание диссертации, ее завершенность. Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации.

Диссертация написана доступным, грамотным научным языком и оформлена в соответствии с требованиями, предъявляемыми к диссертациям на соискание степени кандидата наук. Текст диссертации изложен на 152 страницах, содержит 17 таблиц и 16 рисунков. В состав диссертации входит достаточно подробный литературный обзор, который включает 296 работ, в том числе 236 отечественных и 60 иностранных авторов. В диссертации присутствует развернутая экспериментальная часть, в которой приведены подробные результаты:

- microbiological investigation, directed at isolation and description of characteristics of strains of *Actinomyces bovis*, used for further work,
- development of cultivation regimes of isolated strains and obtaining on their basis antigenic composition, used as experimental vaccine,
- study of therapeutic and prophylactic effect of obtained vaccine on large ruminants,
- study of effect of experimental vaccine on biochemical and immunological indicators of animals,
- substantiation of economic effectiveness of application of experimental vaccine.

Таким образом, диссертация содержит описание завершенного исследования, приведшего к получению результатов, имеющих несомненную научно-практическую значимость. К некоторым недостаткам работы можно отнести недостаточную изученность состава полученной экспериментальной вакцины (в частности, не идентифицированы белки, входящие в ее состав); отсутствие экспериментального сравнения терапевтического действия разработанной вакцины с действием других препаратов для лечения актиномикоза КРС и с действием 0,4% раствора формальдегида, присутствующего в составе вакцины. Вместе с тем, указанные недостатки не носят принципиального характера и не снижают практической значимости проделанной работы.

В ходе изучения диссертации возникли следующие вопросы:

1. Как Вы считаете, можно ли повысить эффективность разработанного препарата при хронических формах актиномикоза и какие меры могли бы этому способствовать?

2. Чем, с Вашей точки зрения, объясняется значительное отклонение ряда биохимических показателей сыворотки крови в экспериментальной группе нетелей при оценке профилактических свойств экспериментальной вакцины до введения ЭС-42 от аналогичных показателей в контрольной группе (Таблица 11)?

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней.

Таким образом, диссертация Богоутдинова Наиля Шамильевича на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи создания вакцины для лечения и профилактики актиномикоза крупного рогатого скота, имеющей существенное значение для соответствующей отрасли знаний, а именно ветеринарии и животноводства, что соответствует требованиям пп. 9 и 10 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени.

Официальный оппонент:

заместитель директора по науке ГНУ Самарская НИВС Россельхозакадемии,

к.б.н.



Ильясов П.В.

ГНУ Самарская научно – исследовательская ветеринарная станция

443013 г. Самара, ул. Магнитогорская, 8

Телефон: (846) 336-03-41, E-mail: samnivs@mail.ru

Подпись Ильясова П.В. заверяю.

Директор ГНУ Самарская НИВС Россельхозакадемии

д.в.н.

17.09.2014



Садов К.М.