

УТВЕРЖДАЮ

Ректор ФГБОУ ВО «Казанская  
государственная академия ветеринарной  
медицины имени Н.Э. Баумана»,  
доктор ветеринарных наук,  
профессор Р.Х. Равилов  
«23» 04. 2024 г.

## ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу Кузнецовой Веры Сергеевны на тему "Создание экспериментальной иммуноферментной тест-системы и её 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.** Широкое распространение и трудоёмкость в постановке диагноза на энтеропатогенные иерсинии (*Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*) в виду сходства возбудителей и главным образом при исследовании патологического материала бактериологическими методами лабораторная диагностика при этих болезнях остается довольно сложной. До сих пор не разработана система мероприятий по диагностике, профилактике и лечению животных, больных энтеропатогенными иерсиниями. В тоже время наиболее ценными для диагностики этих возбудителей являются биохимические тесты, характеризующие их отношение к мочеvine, наличию фибринолизина и плазмокоагулазы, а также неприхотливость к питательным средам и отсутствие полиморфизма у колоний *Y. enterocolitica*, которые обычно растут на специальных средах при температуре 28° С. Способность иерсиний расти при низких температурах обуславливается особой биохимической адаптацией - психрофильностью, в основе неё лежит ферментативный механизм. Психрофильность микроба определяет его устойчивость во внешней среде. Микроб способен размножаться при температуре 4-10 °С и накапливаться в продуктах питания и кормах.

Однако используемые вышеуказанные бактериологические методы лабораторной диагностики возбудителей энтеропатогенных иерсиний трудоёмки, продолжительны по времени и не отвечают требованиям ранней

диагностики. Поэтому остаются вопросы оптимизации схемы лабораторной диагностики на энтеропатогенные иерсинии с применением современных иммунохимических методов.

Поскольку цель работы направлена на решение этих задач и посвящена созданию экспериментальной иммуноферментной и ее дот-варианта для индикации возбудителя *Y. pseudotuberculosis* у сельскохозяйственных животных остается актуальной и представляет научно-практическую значимость.

**Значимость полученных автором диссертационной работы результатов для развития соответствующей отрасли науки.** Представленные в работе данные вносят весомый вклад в диагностику псевдотуберкулёза. Иммуноферментная тест-система, созданная с использованием 1%-го раствора полиаэзолидинаммония, модифицированного гидрат-ионами йода, в сочетании с дезинтегрированными мембранами *Y. pseudotuberculosis* позволяет получать гипериммунные сыворотки крови кроликов и морских свинок с высоким содержанием антител видовой специфичности. Результаты экспериментальных исследований рекомендуется использовать при проведении индикации возбудителя псевдотуберкулёза в выделениях сельскохозяйственных животных.

**Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе.** В результате проведенных комплексных исследований получен дот-вариант экспериментальной иммуноферментной тест-системы на основе кроличьей гипериммунной сыворотки, полученной к дезинтегрированными мембранами (ДМ) *Y. pseudotuberculosis*, и золотыми наночастицами (ЗНЧ). Титр антител гипериммунной сыворотки кроликов в ИФА с клетками псевдотуберкулёзного микроба составил 1:25600-1:51200, а с дезинтегрированными мембранами – 1:409600. Разработанная ИФА тест-система, обладает высокой чувствительностью и выявляет возбудителя *Y. pseudotuberculosis* в концентрации  $10^6$ - $10^7$  м.к./мл. Экспериментально доказано, что при индикации *Y. pseudotuberculosis* в патологическом материале от больных животных эффективность созданной иммуноферментной тест-системы и её дот-варианта с ЗНЧ превысил эффективность бактериологического метода диагностики на 40%.

**Обоснованность научных положений, выводов и заключений** не вызывает сомнений, поскольку обеспечена значительным объемом экспериментального материала; применением современных методов бактериологических, иммунологических, биохимических и иммунохимических исследований, их соответствия поставленным целям и

задачам. Цифровой материал подвергнут статистической обработке. Результаты диссертационного исследования полностью отражены в 18 таблицах и 6 рисунках, позволяющих ориентироваться в представленных статистически обработанных экспериментальных данных. Выводы и научные положения логично вытекают из результатов собственных исследований, которые отвечают на поставленные задачи диссертационной работы.

**Достоверность научных положений, результатов, выводов и рекомендаций** в диссертационной работе базируется на логическом раскрытии проблемы, углубленном изучении мирового опыта, на тщательно подобранном научном, а также фактическом материале, корректной статистической обработке полученных результатов, а также подтверждается апробацией работы на научных конференциях различного ранга, в том числе международных, и печатными работами автора. В разделе "Обзор литературы" представлен анализ литературы о распространённости энтеропатогенных иерсиний у животных и людей в мире и на территории РФ; о существующих методах диагностики кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулёза; а также об изученности антигенной структуры возбудителей кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулёза и роли различных адъювантов при получении гипериммунных сывороток крови животных. В разделе "Материалы и методы исследований" подробно описывается все использованные методы исследований, включая материалы. В разделе "Результаты исследований и их обсуждение" приведены результаты экспериментальных исследований по изучению белкового спектра дезинтегрированного возбудителя *Y pseudotuberculosis* методами электрофореза и иммуноблоттинга. Отработана схема и доза антигена для гипериммунизации животных и испытаны "золотые наночастицы" в качестве адъюванта для иммунизации животных в комплексе с ДМ *Y. pseudotuberculosis*. По полученным результатам исследования создана иммуноферментная тест система и ее дот-вариант для индикации возбудителя *Y pseudotuberculosis* у сельскохозяйственных животных.

**Соответствие автореферата основным положениям диссертационного исследования.** Содержание автореферата диссертационной работы автора в полной мере отражает сущность диссертационной работы. Цель, задачи, положения, выносимые на защиту, заключение и выводы, приведенные в автореферате, соответствуют таковым в диссертационной работе.

**Подтверждение опубликованных основных результатов диссертационного исследования в научной печати.** Основное содержание диссертационной работы отражено в 12 научных работ, в том числе 2 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, и 5 статей в изданиях из международной базы

данных (Scopus, Web of Science, Agris). Результаты исследования и основные положения диссертации прошли апробацию на международных научно-практических конференциях. Содержание диссертации полностью отражено в содержании опубликованных работ, а тема диссертационной работы полностью соответствует научной специальности.

**Оценка содержания диссертационного исследования, его завершенность в целом, замечания по оформлению.** Диссертационная работа представляет собой самостоятельное завершенное научное исследование, которое соответствует современным требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Работа построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований и обсуждения, заключения, и списка цитируемой литературы из 225 источников, из которых 114 иностранных. На основании всестороннего анализа данных литературы автор четко определил цель диссертационного исследования. Для реализации поставленной цели было определено 5 задач, на которые даны ответы в 5 выводах. Экспериментальные данные, полученные автором, представлены в главе "Результаты собственных исследований". Данный раздел занимает 74 страницы, полученные результаты отражены в таблицах и рисунках, что значительно облегчает восприятие материала. В заключение диссертации обобщены результаты проведенных исследований, представлены выводы и практические рекомендации. Все они основаны на достоверном фактическом материале, подвергнутом адекватной статистической обработке, и вытекают из представленных в работе данных. Выводы соответствуют поставленным задачам и положениям, выносимым на защиту, отражают суть проведенных исследований и являются логическим завершением работы. Оценивая положительно представленную к защите диссертационную Кузнецовой Веры Сергеевны, отмечая ее завершенность и практический вклад, к автору имеются следующие вопросы:

1. В работе вы указываете, что в составе ДМ *Y. pseudotuberculosis* преобладают белки с молекулярными массами от 23 до 45 кДа. Вопрос: Какой белок по молекулярной массе в электрофорезе считался «мажорным».
2. Коррелирует ли результаты дот-варианта ИФА тест-системы с бактериологическими методами при индикации энтеропатогенных иерсиний. Если существует, то какой процент корреляции?
3. Эффективность бактериологического метода составила 60%, а серологического – 100%. Достоверность иммунохимических методов было ли установлено другими серологическими методами?

4. Какова эпизоотическая обстановка в хозяйствах, где были выявлены вирулентные изоляты энтеропатогенных иерсиний?

### Заключение

По актуальности избранной темы, степени обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверности и новизне диссертационное исследование Кузнецовой Веры Сергеевны на тему "Создание экспериментальной иммуоферментной тест-системы и её дот-варианта для индикации *Yersinia pseudotuberculosis* у сельскохозяйственных животных", соответствует критериям п. 9 "Положение о порядке присуждения ученых степеней", постановления правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, 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.

Материалы диссертационного исследования Кузнецовой Веры Сергеевны, автореферат и опубликованные работы рассмотрены, обсуждены и одобрены на расширенном заседании кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» 23 апреля 2024 года, протокол № 15.

Галиуллин Альберт Камилевич

доктор ветеринарных наук (06.02.02 Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология, 1997 г.), профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО "Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана",  
420029, РТ, г. Казань, ул. Сибирский тракт, 35; Тел.: 8 917 929 75 87;  
E-mail: [albert-954@mail.ru](mailto:albert-954@mail.ru)

Подпись Галиуллина А.К. заверяю :

Кагамлыкка отделе кадров А.К. Галиуллин  
23.04.2024

