

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
П.А.СТОЛЫПИНА»
(ФГБОУ ВО Омский ГАУ)**

644008, г. Омск-8, ул. Институтская площадь, 1, тел. (3812) 65-11-46, факс 65-17-35

Утверждаю

Проректор по научной работе

ФГБОУ ВО Омский ГАУ

Новиков Ю.И.

«19» 11 2020 г.



ведущей организации на диссертационную работу Задориной Ивы Ивановны на тему: «Антигенная и молекулярно-генетическая оценка стабильности вакцинного сибирического штамма Ланге после длительного хранения», представленную к защите в диссертационный совет Д 220.034.01 при ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э.Баумана» на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Актуальность темы исследования.

Исторический опыт борьбы с сибирской язвой свидетельствует о том, что ведущую роль в обеспечении благополучия по этой болезни сыграла специфическая профилактика. Произошедшие перемены, связанные с реформированием сельского хозяйства, увеличением поголовья скота в частном секторе, требовали ужесточения профилактических мероприятий в системе мер борьбы с этой инфекционной патологией животных. Появилась

необходимость более глубокого изучения как эпизоотологических особенностей проявления этой болезни в новых условиях, так и самого возбудителя с использованием новых достижений науки в области микробиологии, иммунологии и генетики.

В современных условиях на территории Российской Федерации, иммунизацию восприимчивых животных против сибирской язвы проводят живыми вакцинными штаммами. Известно, что эффективность биологических препаратов особенно живых вакцин во многом зависит от соблюдения режима и правил их хранения. Наиболее жесткие требования предъявляются к условиям хранения эталонных штаммов и их поддержанию в стабильном состоянии. так как от этого зависит безопасность и эффективность применения вакцины.

Принятое в биологической промышленности длительное хранение вакцинных сибиреязвенных штаммов в глицерине чревато изменением основных биологических свойств возбудителя болезни. В связи с этим весьма важно понять процессы и механизмы изменения возбудителя в условиях пребывания во внешней среде. В связи с этим изучение морфофизиологических, в том числе антигенных и молекулярно-генетических свойств живых эталонных вакцинных штаммов при длительном хранении является весьма актуальным.

Научная новизна диссертационной работы.

Значительный перечень задач, поставленных на разрешение соискателем, позволил автору впервые изучить с привлечением современных методов исследования не только белковый спектр вакцинного штамма Ланге-2 образца 1900 года, и провести молекулярно-генетическую оценку его стабильности, но и изучить культурально-морфологические и антигенные свойства штамма на искусственных питательных средах и в организме восприимчивых лабораторных животных.

Кроме того, в сравнительном аспекте с аналогичными вакцинными штаммами соискатель определила антигенный профиль исследуемого штамма Ланге-2 методом электрофореза в полиакриламидном геле. Основными белковыми фракциями штамма являются ММ: от 18 до 90 кДа, а у штамма 55 (ВНИИВВиМ) – от 13 до 90 кДа. Также выявлено, что коммерческая гипериммунная сибириеязвенная сыворотка выявляет в иммуноблоте большой спектр антигенных структур штамма Ланге-2 в диапазоне Мм от 90 до 78 кДа, это свидетельствует о том, что данная фракция является предшественником клеточных белков, которые присутствуют на фазах вегетативного роста.

Методом ПЦР в «реальном времени» установлена принадлежность вакцинного штамма Ланге-2 после длительного хранения к роду *Bacillus* и виду *B. anthracis*.

Значимость для науки и практики, полученных автором результатов.

Выполненная на высоком методическом уровне диссертационная работа позволила автору изучить биологические особенности вакцинного штамма Ланге после длительного хранения, что позволило понять механизм сохранности иммуногенных, антигенных и молекулярно-генетических свойств. Определен характер иммунного ответа на введение данного штамма в организм лабораторным животным, характеризуемый накоплением противосибириеязвенных антител.

Результаты экспериментальных исследований вошли во временные ветеринарные правила по профилактике и мерам борьбы с сибирской язвой.

Материалы диссертационной работы используются в учебном процессе при чтении лекций, для практических занятий студентов, работы аспирантов на кафедре инфекционных болезней, зоогигиены и ветсанэкспертизы ФГБОУ ВО Башкирского государственного аграрного университета.

Степень обоснованности научных положений, выводов и практических предложений, их достоверность.

Большой объем работы с использованием значительного количества лабораторных животных, современных методов исследования при изучении биологических свойств вакцинного штамма Ланге-2 позволили докторанту создать достаточно убедительную доказательную базу теоретической и практической значимости выполненной работы.

По содержанию и изложению кандидатская диссертация Задориной И.И. соответствует избранному направлению. Обоснованность направления исследований соискателя связана, прежде всего, с выяснением изменений антигенных и молекулярно-генетических свойств вакцинного сибиреязвенного штамма Ланге-2 после его длительного хранения в 30% растворе глицерина.

Основные положения диссертационной работы доложены, обсуждены и получили одобрение на международных научно-практических конференциях (Казань, 2018, 2019, 2020), Молодежной научно-практической конференции (Казань, 2019).

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, состоящих из объектов и методов исследований, результатов обсуждения; а также заключения, выводов, практических предложений, списка использованных литературных источников, приложений. Диссертация изложена на 110 страницах компьютерного текста и содержит 13 таблицы, 8 рисунков, список литературы включает 190 источников литературы, в том числе 61 – зарубежных авторов.

В главе «Введение» обоснованы актуальность и степень разработанности темы; определены цель и задачи исследований; отмечены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы; объект и предмет исследования; методология и методы исследований; отражена степень достоверности и апробация результатов исследований; приведены

основные положения, выносимые на защиту.

В главе «Обзор литературы» представлен подробный анализ отечественной и зарубежной литературы по вопросу современного состояния профилактики сибирской язвы. Обзорная глава написана на основании большого числа отечественных и зарубежных авторов.

В главе «Материалы и методы исследований» представлено подробное изложение использованных в работе методов исследования (микробиологические, серологические и молекулярно-генетические) и общая схема научных исследований по теме работы.

В главе «Результаты собственных исследований» автор подробно описывает методы и результаты проведенных экспериментов, которые логически выстроены в соответствии с целью и задачами диссертационной работы. Методологической основой исследований явилось изучение в сравнительном аспекте с аналогичными вакциными, определен антигенный профиль вакцинного штамма Ланге-2 методом электрофореза в полиакриламидном геле и установлена мажорная фракция, являющееся предшественником клеточных белков, которые присутствуют на фазах роста клеток возбудителя сибирской язвы. Обоснование методологических подходов проведено с учетом актуальности цели и задач исследований, анализа данных литературы по теме и полученных данных. Полученный цифровой материал подвергнут статистической обработке с выведением критерия достоверности.

В «Заключении» подведены итоги исследований, а именно, изучен белковый спектр и проведена молекулярно-генетическая оценка стабильности вакцинного штамма Ланге-2 образца 1900 и 1905 годов. Соискателем изучена сохранность штамма Ланге-2 на искусственных питательных средах и в организме восприимчивых животных, его культурально-морфологических и антигенных свойств. По полученным результатам ПЦР в «реальном времени» установлена принадлежность вакцинного штамма Ланге-2 к роду *Bacillus* и виду *Bacillus anthracis*, что

указывает на сохранность морфофизиологических и молекулярно-генетических свойств.

Выводы соответствуют основным положениям, выносимым автором работы на защиту и подтверждены результатами исследований.

В «Практических предложениях» отражены рекомендации по применению результатов исследования.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации.

Содержание автореферата соответствует диссертации и в достаточной степени отражает ее структуру, содержит ее основные положения.

Подтверждение опубликованных научных результатов.

По материалам работы опубликовано 8 научных статей, в том числе 2 – в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации, 3 статьи – в изданиях, включённых в базы Scopus и Web of Science.

Оценивая в целом положительно данную работу, хотелось бы высказать некоторые пожелания и получить ответы на ряд вопросов.

1. С чем связана более выраженная иммунологическая активность протективного антигена по сравнению с капсульным?
2. Можно ли судить об иммуногенности противосибиреязвенного вакцинного штамма по уровню постvakцинальных антител?
3. Результаты тестирования по плазмиде pХО1 и pХО2 методом ПЦР в «реальном времени», какой из трех каналов будет специфическим, т.е. соответствовать возбудителю сибирской язвы?
4. Хотелось бы, чтобы автор более развернуто описала практическую значимость восстановления и детекции вакцинных штаммов против сибирской язвы, имеющих 100-летнюю давность.

Однако перечисленные вопросы в целом не умаляют достоинство и достоверность результатов диссертационной работы.

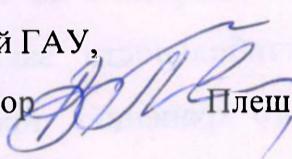
Заключение.

Диссертация И.И. Задориной на тему: «Антигенная и молекулярно-генетическая оценка стабильности вакцинного сибириязвенного штамма Ланге после длительного хранения», представленная на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук, является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на актуальную тему, достоверность результатов которой не вызывает сомнений. Собственные материалы исследований дали возможность автору сделать обоснованные выводы и практические предложения.

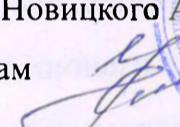
Работа диссертанта является значительным вкладом в решении вопросов, связанных с изучением биологических свойств эталонных штаммов возбудителя сибирской язвы, имеющих давние сроки хранения. Результаты исследований в данном направлении могут помочь специалистам лучше понять процессы и механизмы изменения возбудителя в условиях пребывания во внешней среде, и оптимизировать систему мероприятий по защите животных от этой опасной болезни.

Считаем, что диссертационная работа соответствует п.9 Положения ВАК РФ «О порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Ива Ивановна Задорина заслуживает присуждения ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Диссертационная работа и отзыв на нее рассмотрены и одобрены на расширенном заседании сотрудников кафедры ветеринарной микробиологии инфекционных и инвазионных болезней ФГБОУ ВО Омский ГАУ (протокол № 4 от 02 ноября 2020 года).

Заведующая кафедрой ветеринарной
микробиологии, инфекционных и инвазионных
болезней ФГБОУ ВО Омский ГАУ,
д-р ветеринар. наук, профессор  Плешакова Валентина Ивановна

Профессор кафедры ветеринарной микробиологии,
инфекционных и инвазионных болезней
ФГБОУ ВО Омский ГАУ, 
д-р ветеринар. наук, профессор  Новицкий Алексей Алексеевич

Подпись профессоров
Плешаковой В.И. и Новицкого А.А. заверяю
специалист по кадрам  Казакова Л.В.

644008, г. Омск-8, Институтская площадь, 1
ФГБОУ ВО Омский ГАУ
Тел. 8 (3812) 25-05-19, E-mail: vi.pleshakova@omgau.org

19. 11. 2020