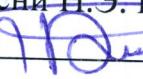


**УТВЕРЖДАЮ:**

Ректор федерального государственного  
бюджетного образовательного учреждения  
высшего образования «Казанская  
государственная академия ветеринарной  
медицины имени Н.Э. Баумана»  
профессор  Р.Х. Равилов

«21» 12 2021 г.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

федерального государственного бюджетного образовательного  
учреждения высшего образования «Казанская государственная академия  
ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана»

Диссертационная работа Асхатовой Натальи Анатольевны на тему  
«Аллергенные свойства полипептидов возбудителя и разработка  
аллергической диагностики листериоза животных» выполнена на кафедре  
биологической химии, физики и математики федерального государственного  
бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанская  
государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана»  
(ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ).

В период подготовки диссертационной работы соискатель Асхатова  
Наталья Анатольевна обучалась в аспирантуре с 01.10.2015 года по  
30.09.2019 года (Приказ № 195 от 15.09.2015 года). В настоящее время  
работает лаборантом кафедры биохимии, физики и математики.

В 2015 году окончила ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ по специальности «Ветеринарный врач» (диплом № 0279982 от 02.07.2015).

Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2020 году ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ.

Научный руководитель – Алимов Азат Миргасимович, доктор ветеринарных наук, профессор, профессор кафедры биологической химии, физики и математики федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана».

По итогам обсуждения, принято следующее заключение:

**Актуальность темы.** Листериоз - это широко распространенная инфекционная болезнь, которая наносит большой ущерб животноводству и представляет серьёзную угрозу здоровью людей. В Российской Федерации ежегодно регистрируются от 40 до 100 случаев листериоза у людей при отсутствии эпидемических случаев и эндемические вспышки среди сельскохозяйственных животных. Проблема борьбы с данной инфекционной болезнью обусловлена особенностями биологии ее возбудителя, наличием большого числа как патогенных, так и непатогенных штаммов, листерионосительством, недостаточной изученностью генома и антигенной структуры микробных клеток, а так же не разработанностью аллергической диагностики листерионосительства и ретроспективной диагностики листериоза.

Большой спектр восприимчивых животных, а также людей, способность листерий относительно длительное время сохраняться во внешней среде, продуктах питания и кормах говорят о необходимости дальнейшего более подробного изучения природы возбудителя с целью

разработки новых более чувствительных и специфичных средств и методов идентификации патогенных бактерий рода листерий.

В настоящее время для выявления и идентификации *Listeria monocytogenes* используют микробиологические, серологические и биохимические методы, определение чувствительности к бактериофагам, а также постановку биологической пробы на лабораторных животных. Комплексный и продолжительный по времени подход к диагностике листериоза, оправдывается стремлением к исключению возможных диагностических ошибок, которые могут возникнуть из-за таксономической схожести представителей бактерий рода листерий. В этом аспекте значительную роль играют изучение антигенной структуры и генома возбудителя различных сероваров, а также изыскание эффективного аллергена и разработка аллергической диагностики листериоза и листерионосительства. Следует отметить, что аллергическая диагностика листериоза практически не разработана, хотя и известно формирование гиперчувствительности замедленного типа при разных инфекциях, в том числе при листериозе.

**Личное участие автора в получении научных результатов, изложенных в диссертации.** Во время учебы в аспирантуре Асхатова Н.А. освоила методы бактериологических исследований, выделения культур микроорганизмов, фракционирования полипептидов и нуклеиновых кислот, полимеразной цепной реакции, а также разработала способ получения специфического листерионого аллергена для внутрикожной аллергической пробы. Провела большой объем исследований с использованием большого количества лабораторных и сельскохозяйственных животных, современных методов и оборудования.

Диссидентом самостоятельно проведены аналитический обзор по поставленной проблеме, экспериментальные исследования, анализ и обобщение результатов и оформление диссертации. Полученные цифровые данные статистически обработаны.

**Степень достоверности результатов проведенных исследований.**

Работа выполнена методически правильно. Научные положения, выводы и рекомендации работы сформулированы автором на основании экспериментальных исследований, обоснованность которых подтверждена использованием большого объема исследований и воспроизводимостью результатов. Комплексные исследования на большом поголовье лабораторных и сельскохозяйственных животных и статистическая обработка подтверждают достоверность полученных автором результатов и объективность выдвинутых научных положений и выводов, вытекающих из сути исследований.

**Научная новизна работы.** Впервые проведены исследования по фракционированию антигенов и полипептидов, оценке аллергенной активности разных фракций штаммов возбудителя, а также разработка метода получения специфического аллергена и аллергической диагностики листериоза.

Установлено, что основные свойства возбудителя листериоза сохраняются при длительном хранении их путем пересева и лиофилизированном состоянии. Листерии проявляют высокую устойчивость к действию ультразвука.

Впервые методом электрофореза в ПААГе в составе клеток листерий выявлено более 50 фракций с молекулярной массой от 10 до 70 кДа. Доказано, что иммунный ответ на вакцинацию и заражение морских свинок и кроликов сопровождаются развитием гиперчувствительности замедленного

типа (ГЧЗТ), который выявляется внутрикожной аллергической пробой с листериозным аллергеном.

Наиболее эффективным и специфичным для аллергической ретроспективной диагностики листериоза оказался препарат, полученный экстрагированием додецил-сульфатом натрия. При постановки внутрикожной пробы с этим аллергеном положительная аллергическая реакция наблюдалась у всех сенсибилизованных животных и она коррелировала с листерионосительством.

**Теоретическая и практическая значимость.** Результаты исследований расширяют знания по биологии и антигенной структуре возбудителя листериоза. Наиболее эффективным способом фракционирования полипептидов листерий является электрофорез в ПААГе лизатов, полученных обработкой детергентной смесью. В их составе выявляли более 50 фракций с молекулярной массой от 10 до 70 кДа.

Различные фракции антигенов листерий, полученные действием кислот и детергентов, проявляли специфическую аллергенную активность. Установлено, что вакцинация и заражение морских свинок и кроликов способствует формированию гиперчувствительности замедленного типа, которая выявляется постановкой внутрикожной пробы соответствующим аллергенам. Наличие определенной корреляции положительной аллергической реакции с листерионосительством свидетельствует об эффективности аллергической реакции для ретроспективной диагностики листериоза.

Наиболее эффективным аллергеном, имеющим ретроспективное диагностическое значение, является препарат, полученный экстракцией клеток листерий с додецилсульфатом натрия с молекулярной массой 10 кДа.

Для ретроспективной диагностики листериоза с листерионосительства рекомендуется внутрикожная аллергическая проба с разработанным аллергеном.

**Ценность научных работ соискателя.** Впервые проведены исследования по фракционированию антигенов и полипептидов, оценке их аллергенной активности у разных штаммов возбудителя листериоза. Впервые разработаны метод получения специфического аллергена и способ аллергической диагностики листериоза.

**Специальность, которой соответствует диссертация.** Диссертация Асхатовой Натальи Анатольевны соответствует научной специальности 06.02.02. – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология:

- п.1. Природа и происхождение, структура, химический состав, морфологические, биологические, физико-химические свойства патогенных бактерий, вирусов и токсигенных грибов. Классификация возбудителей и вызываемых ими инфекционных болезней.
- п.4. Инфекционный процесс. Природа патогенности, явление, процессы и механизмы взаимодействия микро- и макроорганизмов на всех уровнях (молекулярно-генетическом, клеточном, тканевом, организменном, популяционном) в условиях воздействия экзогенных и эндогенных факторов.
- п.14. Иммунология животных, противоинфекционный иммунитет, иммунопатология и иммунодефициты.

**Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем.** Основные результаты исследований доложены, обсуждены и одобрены на итоговых научных отчетах, заседаний сотрудников кафедры и представлены в материалах Международных научно-практических конференций: «Инновационные решения в

ветеринарной медицине, зоотехнии и биотехнологии в интересах развития АПК» (Казань, 2017), «Современные научные исследования, актуальные вопросы, достижения и инновации в АПК» посвященная 145-летию академии (Казань, 2018), «Молодежные разработки и инновации в решении приоритетных задач АПК» (Казань, 2019), «Физико-химическая биология как основа современной медицины» посвященная 110-летию со дня рождения В.А. Бондаренко (Беларусь, Минск, 2019).

По теме диссертации опубликовано 6 научных статей, в том числе 2 - в ведущих рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшем образовании РФ. Наиболее значимые работы:

1. Балясова, Н.А. Стабильность штаммов листерий / Н.А. Балясова, А.М. Алимов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2017. - Т. 230. - С. 24-26.
2. Асхатова, Н.А. Фракционирование антигенов листерий и определение их аллергенных свойств / Н.А. Асхатова, А. М. Алимов, Н.Р. Касanova, Ч.А. Харисова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2020. - Т. 243(3). - С. 9-11.
3. Askhatova, N.A. Retrospective allergy diagnosis of lysteriosis and lysteria carrying in animals / N.A. Askhatova, A.M. Alimov, N.R. Kasanova, E.Y. Mikryukova // BIO Web of ConferencesInternational Scientific-Practical Conference: “Agriculture and Food Security: Technology, Innovation, Markets, Human Resources” (FIES 2020). Vol. 27 (2020) 00054.

Опубликованные работы отражают основное содержание всех разделов диссертационной работы.

Диссертационная работа «Аллергенные свойства полипептидов возбудителя и разработка аллергической диагностики листериоза животных» Асхатовой Натальи Анатольевны соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям п.9 Постановления Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г. и предъявляемым требованиям к кандидатским диссертациям и рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02. – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Заключение принято на расширенном заседании сотрудников кафедры биологической химии, физики и математики с участием специалистов других кафедр ФГБОУ ВО «Казанская ГАВМ».

Присутствовало на заседании 17 человек.

Результаты голосования: «за» - 17 чел, «против» - нет, «воздержались» - нет, протокол заседания №7 от 20 декабря 2021 года.

Проректор по научной работе и цифровизации

ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ,

доктор биологических наук, профессор



Асия Мазетдиновна Ежкова