


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 листериозного аллергена для внутрикожной аллергической пробы. Провела большой объем исследований с использованием большого количества лабораторных и сельскохозяйственных животных, современных методов и оборудования.

Диссертантом 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 сенсibilизированных 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, противoinфекционный иммунитет, иммунопатология и иммунодефициты.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем. Основные результаты исследований доложены, обсуждены и одобрены на итоговых научных отчетах, заседаниях 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. Касанова, 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 Conferences International 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