

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Маниесона Виктора Эммануэля Нии Одотеи Ньюмода на тему "Создание иммуноферментной тест-системы на основе антител к диметилсульфоксид-антигену *Yersinia pseudotuberculosis* для индикации энтеропатогенных иерсиний 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

Лабораторная диагностика инфекционных болезней, вызываемых энтеропатогенными иерсиниями, весьма сложна в виду сходства множества возбудителей, таких как *Y. pseudotuberculosis* и *Y. pestis*, и главным образом, при исследовании патологического материала бактериологическими методами. Это связано с тем, что энтеропатогенные иерсинии по основным биологическим свойствам сходны, с другими кишечными микроорганизмами. Наиболее ценными для дифференциации этих возбудителей являются биохимические тесты, характеризующие их отношение к мочеvine, наличию фибринолизина и плазмокоагулазы. Кроме того, следует учитывать неприхотливость к питательным средам *Y. pseudotuberculosis* и отсутствие полиморфизма у колоний *Y. pestis*, которые обычно растут на специальных средах при 28° С. Однако используемые классические методы лабораторной диагностики (бактериологический, серологический) для идентификации возбудителей трудоёмки, продолжительны по времени и не отвечают требованиям ранней диагностики. Поэтому важными остаются вопросы оптимизации схемы лабораторной диагностики на энтеропатогенных иерсиний с применением современных иммунохимических методов.

Поскольку цель работы направлена на решение этих задач и посвящена созданию иммуноферментной тест-системы на основе антител к диметилсульфоксид-антигену *Y. pseudotuberculosis*, предназначенной для индикации энтеропатогенных иерсиний у сельскохозяйственных животных и является 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 кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулёза животных. Иммуноферментная тест-система, созданная на основе гипериммунных сывороток, полученных к диметилсульфоксид-антигену *Y. pseudotuberculosis*, несомненно повышает эффективность диагностики кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулёза. Результаты экспериментальных исследований рекомендуется использовать при проведении индикации возбудителей кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулёза в выделениях сельскохозяйственных животных.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе

В результате проведенных комплексных исследований получен диметилсульфоксид-антиген *Y. pseudotuberculosis*, который обладает большей антигенной активностью, чем диметилсульфоксид-антиген *Y. enterocolitica*. Экспериментально доказано, что гипериммунная сыворотка к диметилсульфоксид-антигену *Y. pseudotuberculosis*, имеет родовую специфичность и проявляет высокую специфическую активность, чем аналогичная сыворотка, полученная к диметилсульфоксид-антигену *Y. enterocolitica*. Титры антител в ИФА с антигеном для сыворотки к диметилсульфоксид-антигену *Y. pseudotuberculosis* составляют 1:6400-1:51200, а сыворотки к диметилсульфоксид-антигену *Y. enterocolitica* – 1:6400-1:25600. Разработанная ИФА тест-система, обладает высокой чувствительностью и выявляет возбудителей энтропатогенных иерсиний в концентрации 10^7 - 10^8 клеток/мл, а при холодовом обогащении – 50 клеток/мл среды на 3-ие сутки, а на 6 сутки – 5 клеток/мл.

Обоснованность научных положений, выводов и заключений

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 21 таблицах и 2-х 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

Достоверность представленного в диссертационной работе материала 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 диметилсульфоксид-антигена *Y. pseudotuberculosis* методом электрофореза и иммуноблоттинга. Для выявления наиболее активного антигена была проведена сравнительная оценка активности диметилсульфоксид-антигена *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* с помощью коммерческих диагностических сывороток в ИФА. Отработана схема и доза антигена для гипериммунизации животных и испытаны "золотые наночастицы" в качестве адъюванта для иммунизации животных в комплексе с диметилсульфоксид-антигеном *Y. pseudotuberculosis*. По полученным результатам исследования создана иммуноферментная тест-система для индикации возбудителей энтеропатогенных иерсиний 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 публикациях, из которых 3 статьи из международной базы данных Scopus. 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 251 источников литературы, в том числе 179 – зарубежных.

На основании всестороннего анализа данных литературы автор четко определил цель диссертационного исследования. Для реализации поставленной цели было определено 6 задач, на которые даны ответы в 6 выводах.

Экспериментальные данные, полученные автором, представлены в главе "Результаты собственных исследований". Данный раздел занимает 33 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 работу Маниесона Виктора Эммануэля Нии Одотеи Ньюмода, отмечая ее завершенность и практический вклад, к автору имеются следующие вопросы:

1. В антигенном спектре диметилсульфоксид-антигена *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* выявляются в одинаковой степени белки с молекулярными массами: 45, 38 и 17 кДа. В тоже время

специфическая активность гипериммунной сыворотки на антиген *Y. enterocolitica* ниже. Чем это связано и почему так происходит?

2. Поясните механизм действия адъюванта "золотые наночастицы" при гипериммунизации животных.

3. Коррелирует ли результаты ИФА тест-системы с бактериологическими методами при индикации энтеропатогенных иерсиний. Если существует, то какой процент корреляции?

4. Какова эпизоотическая обстановка в 3-х хозяйствах, где были выявлены вирулентные изоляты *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*?

Заключение

По актуальности избранной темы, степени обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверности и новизне диссертационное исследование Маниесона Виктора Эммануэля Нии Одотеи Ньюмода на тему "Создание иммуноферментной тест-системы на основе антител к диметилсульфоксид-антигену *Yersinia pseudotuberculosis* для индикации энтеропатогенных иерсиний 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, Маниесон Виктор Эммануэль Нии Одотеи Ньюмода, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических по специальности 4.2.3 Инфекционные болезни и иммунология животных.

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 Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана", 420029, РТ, г. Казань, ул. Сибирский тракт, 35;
Тел.: 8(843)2739714; E-mail: albert-954@mail.ru

Подпись Галиуллина А.К. заверяю:

« 09 » 01 2023 г.

