

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе  
и международной деятельности  
федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования

## «Донской государственный

технический университет»,

Бескапыльный А.Н.

2025 г.

## ОТЗЫВ

ведущей организации федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Донской государственный технический университет» на диссертационную работу Тычинина Николая Дмитриевича на тему: «Экспериментальное обоснование использования антимикробных пептидов, выделенных новым методом, для лечения и профилактики сальмонеллеза цыплят», представленную к публичной защите на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 4.2.1 «Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология» в диссертационный совет 35.2.035.02 на базе ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии им. Н.И. Вавилова».

## Актуальность темы

Сальмонеллы представляют собой опасную группу патогенов, способную вызывать заболевания человека и сельскохозяйственных животных. Это приводит к падежу, потере продукции, болезням людей и летальным исходам. Особенно опасны антибиотикорезистентные штаммы, так

как заболевания, вызываемые ими, хуже всего поддаются лечению, осложняя проведение оздоровительных мероприятий и ставя под угрозу жизни людей.

Антимикробные пептиды (АМП), представляют собой одно из перспективных решений данной проблемы. В этом контексте важно расширить спектр исследований АМП, выделяемых из различных биологических объектов, что будет способствовать разработке прототипов препаратов на их основе с целью создания альтернативы антибиотикам, которую можно будет использовать в животноводстве.

АМП имеют несколько механизмов воздействия на микробную клетку, что затрудняет развитие устойчивости к действию АМП и позволяет говорить о перспективности исследования этой темы. Таким образом, диссертационное исследование Тычинина Н.Д. посвященное изучению эффективности антимикробной композиции, выделенной новым способом, при экспериментальном заражении цыплят сальмонеллезом является актуальным и востребованным.

### **Научная новизна**

Исследован профилактический и терапевтический эффект выделенной композиции антимикробных пептидов. Показана высокая эффективность перорального применения раствора пептидов для профилактики сальмонеллёза цыплят. Отмечено, что максимальный терапевтический эффект достигается совместным применением антибиотика энрофлоксацина и АМП перорально. Для выделения композиции антимикробных пептидов был разработан новый метод получения пептидов из личинок чёрной львинки *H. illucens*. Для анализа выделенных АМП автором было предложено использовать метод динамического рассеяния света (ДРС). Разработанный диссертантом способ получения пептидов из биомассы личинок представляет собой алгоритм последовательных действий, описанных в работе, а благодаря методу ДРС возможно достоверно идентифицировать полученные антимикробные пептиды.

## **Практическая значимость работы**

Доказано, что выделенные композиции АМП относятся к 5 классу опасности, что позволяет их отнести к веществам практически не опасным. Приведены данные по профилактической и лечебной эффективности антимикробной композиции пептидов. Установлено, что с целью профилактики эффективность применения АМП составила 93,3%. Сочетанная терапия энрофлоксацином и АМП была на этом же уровне (93,3%).

Проведено исследование антибиотикочувствительности штаммов сальмонелл. Выявлено, что штаммы *S. Abony*, *S. Infantis*, *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, обладают множественной резистентностью, т.е. устойчивы к действию более чем трёх фармакологических групп антибиотиков, что подтверждает необходимость разработки новых лекарственных средств.

## **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность результатов, полученных автором в ходе диссертационного исследования, подтверждается значительным объемом экспериментальных данных, подтвержденных методами математической статистики.

Диссертационная работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-26-00167 «Антимикробные пептиды насекомых: выделение, идентификация, доклинические и клинические испытания» (2022-2023 г.г.).

Материалы диссертации представлены на четырёх научно-практических конференциях: Национальной научно-практической конференции «Зыкинские чтения 2023», г. Саратов; V Международная научно-практическая конференция «Биотехнологии – драйвер развития территорий» (Вологда, 20-21 апреля 2023); Международная научно-практическая конференция «Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов для АПК» (Московская обл., п. Биокомбинат, 29-30 ноября 2023); Национальной научно-практической конференции «Зыкинские чтения 2024», г. Саратов.

## **Оценка содержания диссертации, её завершенность**

Материалы диссертационной работы изложены на 135 страницах компьютерного текста, включая введение, обзор литературы, собственные исследования (материалы и методы, результаты собственных исследований и их обсуждение), обсуждение полученных результатов, заключение, список сокращений, список литературы, приложения. Диссертация иллюстрирована 11 рисунками и 21 таблицей. Библиографический перечень содержит 217 источников, 30 – отечественных, 187 - иностранных. В приложении представлены таблицы с гематологическими и температурными показателями, подтверждающие достоверность результатов работы, её научную новизну и практическую значимость.

Основные результаты отражены в 4 публикациях, из них 2 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 1 статья, индексируемая в международной базе данных Scopus, 1 статья в других изданиях.

В «Обзоре литературы» диссертант проанализировал данные литературы, характеризующие современное состояние исследуемой проблемы. Даны общая характеристика сальмонеллёза, изучаемого биологического объекта *Hermetia illucens*, антимикробных пептидов (их физико-химических и антибактериальных свойств, способов получения). Проанализирована проблема антибиотикорезистентности.

В главе «Собственные исследования» автор описывает объекты исследования, методику инактивации микроорганизмов, методику иммунизации личинок взвесью инактивированных микроорганизмов, методы выделения и анализа водорастворимых пептидов. Описано определение чувствительности штаммов сальмонелл к антимикробным агентам, определение острой токсичности композиции антимикробных пептидов, изучена профилактическая и терапевтическая эффективность композиции пептидов.

В разделе «Результаты исследования и их обсуждение» приведены результаты по изучению антибиотикочувствительности штаммов сальмонелл,

используемых для иммунизации личинок *Hermetia illucens*. В ходе исследования была обнаружена множественная устойчивость к антибактериальным препаратам. Результаты изучения антибиотикочувствительности штаммов сальмонелл к действию различных антибактериальных препаратов показали, что все изученные штаммы являлись мультирезистентными к действию антибиотиков. Для исследования был отобран штамм *S. Enteritidis*, в качестве опытного, вследствие широкой распространенности инфекции, вызванной данным штаммом. В результате проведённых исследований был разработан новый способ выделения и анализа водорастворимых пептидов. Разработанный Тычининым Н.Д. метод позволяет получать пептиды одинакового размера, достоверность исследований подтверждается анализом их размера методом динамического рассеяния света. Приведённые данные позволяют сделать вывод о воспроизводимости предложенного автором способа выделения АМП из личинок черной львинки.

Для определения безопасности использования полученных АМП было проведено исследование на острую токсичность, и выявлено, что анализируемые АМП относятся к 5 классу (неопасные вещества).

Согласно результатам исследований, эффективность профилактики при оральном применении 20% раствора АМП в течении 7 дней, предшествующих заражению, составила 93,3%. При лечении пероральном применении АМП, зарегистрировали эффективность на уровне 53,3%. При парентеральном введении эффективность составила 66,7%. Самая высокая терапевтическая эффективность (93,3%) отмечалась при одновременном использовании АМП и энрофлоксацина.

Автором доказано, что 20% растворы АМП обладают противомикробной активностью к *S. Enteritidis*, обладающему множественной антимикробной устойчивостью ко многим классическим антимикробным препаратам.

В заключении резюмированы основные результаты диссертационного исследования, проведен анализ значимости полученных результатов для ветеринарной науки и практики. Сформулированные выводы по диссертационной работе, практические предложения логично вытекают из полученных данных. Автореферат составлен по стандартной форме, соответствует требованиям и полностью отражают материалы, полученные в диссертационной работе.

Оценивая положительно диссертационную работу Тычинина Н.Д. в целом, хотелось бы уточнить мнение автора по следующим вопросам:

1. Изучали ли вы, насколько эффективнее применять АМП, разделенные методом ВЭЖХ относительно смеси пептидов без проведения этого этапа?
2. Почему для получения антимикробных пептидов был выбран именно этот биологический объект?
3. На ваш взгляд, чем обусловлена устойчивость к заражению сальмонеллезом первой группы цыплят, которой в качестве профилактики перорально применяли АМП?

### **Заключение**

Диссертационная работа Тычинина Николая Дмитриевича является законченным научно-исследовательским трудом, по своей актуальности, методическому решению поставленных задач, объему экспериментальных исследований, научной новизне и практической значимости рассматриваемая диссертационная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней ВАК РФ», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Тычинин Николай Дмитриевич, заслуживает присвоения ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 4.2.1 «Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология».

Отзыв рассмотрен и одобрен на расширенном заседании сотрудников кафедр «Биоинженерия» и «Биология и общая патология» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Донской государственный технический университет», протокол № 12 от 24 ноября 2025 г.

Доктор биологических наук,  
(4.2.1 — Патология животных, морфология физиология, фармакология и токсикология)  
Профессор кафедры «Биоинженерия»  
ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет»

Кириченко  
Евгения Юрьевна

Кандидат биологических наук  
(03.00.07 – Микробиология)  
Доцент кафедры «Биоинженерия»  
ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет»

Чемисова Ольга  
Сергеевна

Доктор биологических наук  
(16.00.02 — Патология, онкология и морфология животных, 16.00.01 — «Диагностика болезней и терапия животных), профессор, профессор РАО  
Директор Института живых систем ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет»

Ермаков  
Алексей Михайлович

«5» декабря 2025 г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Донской государственный технический университет. Адрес: 344003, ЮФО, Ростовская область, г. Ростов-на-Дону, пл. Гагарина, 1. Телефон: 8 863 273 85 25. e-mail: [reception@donstu.ru](mailto:reception@donstu.ru)

Подписи доктора биологических наук Кириченко Евгении Юрьевны, кандидата биологических наук Чемисовой Ольги Сергеевны, и доктора биологических наук профессора Ермакова Алексея Михайловича заверяю

Ученый секретарь  
ученого совета  
ФГБОУ ВО ДГТУ



Анисимов Владимир Николаевич