


## О Т З Ы В

официального оппонента доктора биологических наук, профессора Васильева Дмитрия Аркадьевича на диссертацию **Сизоненко Марины Николаевны «Эффективность использования новых стимуляторов роста листерий при изготовлении вакцины против листериоза сельскохозяйственных животных»**, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 06.02.02 – Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология и 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) в диссертационный совет Д 006.033.02 на базе ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук»

### **Актуальность избранной темы**

Листериоз – представляет собой широко распространенное инфекционное заболевание человека и животных, вызываемое бактериями рода *Listeria*. Проблема листериоза актуальна для многих стран, включая Российскую Федерацию. Заболевание наносит значительный урон животноводству, приводит к большой летальности, вызывает аборт, снижает продуктивность животных, тем самым нанося большой экономический ущерб. От инфицированных животных заболевание может передаваться человеку. Культуры *Listeria monocytogenes* являются причиной пищевого листериоза, представляя серьезную угрозу здоровью людей, их выделяют из мясных, рыбных и молочных продуктов.

На сегодняшний день в основе борьбы с листериозом лежит специфическая профилактика, которую осуществляют с применением инактивированных и живых вакцин. На территории Российской Федерации используют сухую живую вакцину против листериоза сельскохозяйственных животных из слабовирулентного штамма «АУФ», потребность, в которой на протяжении ряда последних лет не снижается. В то же время есть сообщения о нестабильности выхода биомассы листерий в производственном цикле приготовления вакцины, связанные в том числе, со снижением или нестабильностью качества питательных сред, что требует совершенствования процесса производственного культивирования, направленного на повышение объемов биомассы

Вход. № 33  
«14» мая 2018 г.  
подпись 



микроорганизмов без изменения их биологических свойств.

По мнению ряда специалистов, решение данной проблемы заключается в использовании эффективных стимуляторов роста микроорганизмов.

Учитывая масштабы производственного культивирования, следует отметить, что изготовление стимулятора роста адекватного по отношению к потребностям листерий и эффективного на всех этапах производственного цикла, достаточно сложный процесс, требующий творческого подхода, начиная от подбора сырья, выбора, отработки наиболее рациональных методов его переработки до подтверждения его эффективности.

Вышеизложенные материалы обуславливают актуальность и своевременность темы диссертационного исследования.

***Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.***

Автором раскрыта актуальность темы, определены цель и задачи работы. Микробиологические задачи направлены на решение проблемы наращивания бактериальной массы листерий в процессе культивирования и повышение их жизнеспособности при лиофилизации в процессе изготовления вакцины против листериоза сельскохозяйственных животных. Решение этих задач потребовало биотехнологического подхода, направленного на изыскание рациональных путей получения эффективного стимулятора роста листерий из эмбрионально-яичной массы перепелов.

Сформулированные и представленные в диссертационной работе М.Н. Сизоненко научные положения, выводы, практические предложения обоснованы и подтверждены большим объемом проведенных исследований в лабораторных и производственных условиях и полностью соответствуют поставленной цели и вытекающим из нее задачам.

***Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций.***

Исследования выполнены в лабораторных условиях на откалиброванном сертифицированном оборудовании с использованием стандартизированных реактивов и общепринятых методик. Полученные результаты обработаны с



помощью программы Primer of Biostatistics (Version 4.03).

Впервые автором подтверждено, что изготовленные гидролизаты из яблок, зебрины повислой и эмбрионально-яичной массы, обладают в разной степени выраженным стимулирующим эффектом по отношению к *Listeria monocytogenes*, при этом наибольший стимулирующий эффект отмечен при использовании препарата «СРМП». Впервые обоснованно использование озона в биотехнологическом цикле получения стимулятора роста листерий «СРМП» с целью дезинфекции сырьевого объекта, а также повышения в нем количества белка, как предшественника многих биологически активных веществ, и нуклеиновых кислот, обуславливающих качество итогового препарата. Предложен комплекс биотехнологических манипуляций, позволивший получить биологически активный препарат «СРМП», содержащий в своем составе пептиды, фрагменты нуклеиновых кислот, аминокислоты, а также микро-, макроэлементы, витамин В<sub>1</sub>, биогенные стимуляторы, обеспечивающие его стимулирующие свойства в дозе 1% на всех этапах культивирования листерий при изготовлении вакцины против листериоза сельскохозяйственных животных, при сохранении основных биологических свойств микроорганизма. Доказано положительное действие «СРМП» в составе среды высушивания вакцины на жизнеспособность *Listeria monocytogenes* как во время сублимационного высушивания, так и в процессе хранения вакцины.

Достоверность результатов обусловлена количеством и повторностью проведенных экспериментов.

Научная новизна проведенных исследований подтверждена двумя патентами РФ на изобретение.

### ***Практическая и теоретическая значимость работы.***

Результаты работы, проведенной автором, безусловно, представляют значительный практический и теоретический интерес, вносят определенный вклад в микробиологическую науку, в частности в разделы о культивировании микроорганизмов, питательных средах и источниках сырья для них. Несомненен вклад и в биотехнологию в сфере управления свойствами биообъекта,



используемого в качестве биотехнологического сырья. Изготовленные автором стимуляторы роста могут быть использованы для получения биомассы микроорганизмов, в частности листерий, на предприятиях микробиологической промышленности и в лабораторной работе микробиологов. Стимулятор роста листерий «СРМП» может быть использован для повышения жизнеспособности бактерий в процессе лиофильной сушки вакцины против листериоза сельскохозяйственных животных. Данные о влиянии озонирования на перепелиный эмбрион в процессе инкубации могут быть использованы в биотехнологических целях.

Материалы диссертационной работы могут использоваться в процессе научной и производственной деятельности различных профильных предприятий, а также в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий, что подкреплено актами о внедрении.

***Соответствие диссертации и автореферата критериям «Положения о присуждении ученых степеней».***

Диссертация и автореферат изложены доступным языком, хорошо иллюстрированы таблицами и рисунками. Автореферат объемом один условный печатный лист содержит основные разделы диссертации и раскрывает ее научные положения. Диссертация и автореферат полностью соответствуют критериям «Положения о порядке присуждения ученых степеней».

По материалам диссертации опубликованы 25 печатных работ, в том числе 5 – в периодических изданиях из перечня ведущих рецензируемых научных журналов, утвержденных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации и рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени, 2 патента на изобретение РФ и монография.

***Общая характеристика и оценка содержания диссертации.***

Диссертация изложена на 158 страницах машинописного текста, иллюстрирована 22 рисунками, в том числе 7 микрофотографиями, 18 таблицами. Работа состоит из введения, глав обзора литературы, собственных исследований,



а также заключения, выводов, практических предложений, списка сокращений и условных обозначений, приложений. Список использованной литературы содержит 288 источников, в том числе 66 – зарубежных авторов.

Во введении кратко изложена актуальность, степень разработанности выбранной темы диссертации, определена цель, задачи исследования, показана научная новизна, практическая и теоретическая значимость работы, апробация результатов, положения выносимые на защиту.

Раздел «Обзор литературы» содержит информацию о современных проблемах производства вакцин и путях их решения, питательных потребностях и особенностях культивирования листерий, стимуляторах роста микроорганизмов и технологических подходах к их получению. Обзор литературы свидетельствует о широкой эрудиции автора, глубоких и всесторонних знаниях по анализируемой проблеме, умении систематизировать информацию и излагать ее в логической последовательности.

В разделе «Материалы и методы» указаны методики, оборудование и этапы проведения исследований.

В разделе «Результаты исследований» приводятся материалы лабораторных опытов по изготовлению стимуляторов роста листерий, отработки технологий их приготовления, приведены их физические и химические свойства. Также раздел содержит производственные эксперименты по апробации изготовленных субстанций в качестве стимуляторов роста листерий, изучение биологических свойств микроорганизмов под их влиянием, оценку наиболее эффективного стимулятора роста при изготовлении вакцины против листериоза сельскохозяйственных животных, его апробацию в качестве составной части защитной среды высушивания, оценку качества изготовленных опытных и контрольных серий вакцин.

Все проведенные эксперименты выполнены диссертантом на высоком методическом уровне с использованием современных методов исследования.

Завершается диссертационная работа заключением, которое содержит достаточно подробный и глубокий анализ полученных результатов исследований,

выводами и практическими предложениями, которые полностью соответствуют поставленной цели и задачам.

Текст диссертации изложен грамотно, логично, последовательно, стилистически выдержан. Диссертация прошла достаточно широкую апробацию, и ее материалы известны научной общественности.

Вместе с общей положительной оценкой выполненной работы возникли некоторые вопросы и замечания:

1. В обзоре литературы Вами обозначены качественные превосходства ферментативных гидролизатов, используемых в микробиологических целях. Почему же на начальном этапе работы по изготовлению стимуляторов роста Вы используете этот вид гидролиза, а на завершающем этапе отдаете предпочтение кислотному гидролизу?

2. Может ли, по Вашему мнению, разработанный стимулятор роста быть универсальным по отношению к другим микроорганизмам?

3. При описании технологии приготовления нового стимулятора роста хотелось бы увидеть в конце краткую блок-схему изготовления: так легче сравнивать аналоги и выявить техническую новизну решения и его практическую значимость.

4. Во введении диссертации указано наличие в работе 6 микрофотографий, по факту их 7.

5. Во введении диссертации указано наличие в списке литературы 67 зарубежных авторов, при этом в списке приведены 66.

6. По тексту работы встречаются отдельные пунктуационные ошибки и неудачные громоздкие предложения.

Изложенные замечания не являются принципиальными по своей сути и не снижают высокую научную и практическую значимость работы.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В целом, диссертационная работа Сизоненко Марины Николаевны на тему: «Эффективность использования новых стимуляторов роста листерий при изготовлении вакцины против листериоза сельскохозяйственных животных»



выполнена на высоком научном уровне, имеет новизну, практическую значимость и является завершенной научно-квалификационной работой. Диссертация в полной мере отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 06.02.02 – Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология и 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

26.04.2018

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, профессор,  
заведующий кафедрой микробиологии,  
вирусологии, эпизоотологии и  
ветеринарно-санитарной экспертизы  
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ



Васильев Дмитрий Аркадьевич

Контактные данные: 432017 г. Ульяновск, ул. К. Маркса , дом 28, кв 18  
тел. +79084795563, e-mail: [dav\\_ul@mail.ru](mailto:dav_ul@mail.ru)

Подпись д.б.н., профессора Васильева Д.А. заверяю

