

Отзыв

официального оппонента доктора ветеринарных наук, профессора Татарниковой Натальи Александровны на диссертационную работу Яковлева Сергея Игоревича «Усовершенствование средств специфической профилактики хламидиоза животных», представленную на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук в диссертационный совет 24.1.249.01 при ФГБНУ «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» по специальности 4.2.3 – Инфекционные болезни и иммунология животных

Актуальность диссертационного исследования.

Вопросы, связанные с усовершенствованием специфической профилактики инфекционных болезней животных, а также зооантропонозных инфекций не теряют своей актуальности и по сей день. Одной из таких инфекций является хламидиоз. Возбудитель хламидиоза отличается от других представителей прокариот уникальным циклом развития, который может протекать только в условиях внутриклеточного пространства эукариотических клеток животных, а патологические процессы, связанные с данным видом паразитирования хламидий на различных высших млекопитающих характеризуются абортами, конъюнктивитами, керато-конъюнктивитами, полиартритами, эндометритами, бронхопневмониями и другими клиническими проявлениями.

В промежутке с 70-х годов прошлого столетия по настоящее время учеными из разных стран были выделены и изучены основные производственные штаммы хламидий. На основе этих штаммов разработаны и внедрены в ветеринарную практику различные диагностические наборы для РИФ, РСК и ИФА. Некоторые из них применяются и в настоящее время.

Параллельно с этим велись, и ведутся до сих пор, разработки и усовершенствования уже имеющихся средств специфической профилактики хламидиозов животных. Отечественными учеными были разработаны и внедрены в ветеринарную практику вакцинные препараты против хламидиоза свиней, крупного и мелкого рогатого скота.

Однако, учитывая способность этого вида микроорганизмов к паразитированию на различных биологических моделях в ассоциации с другими штаммами или даже видами хламидий, а также наличие эволюционно обоснованного широкого спектра антигенных модификаций среди представителей данного вида микроорганизмов, обитающих во внешней среде, имеется необходимость изыскания новых зоонозных и высокоиммуногенных штаммов хламидий с целью использования их протективных антигенов для создания эффективных средств профилактики хламидийной инфекции.

В связи с изложенным, исследования Яковлева Сергея Игоревича, выполненные по этому вопросу являются актуальными.

Цель работы была достигнута тем, что в ходе проведения клинико-эпизоотологического обследования в неблагополучном козоводческом хозяйстве

Вх. № 09
Вавилова 2012.

был выделен новый зоонозный изолят хламидий, изучены его иммунобиологические свойства, проведен сравнительный анализ антигенных и иммуногенных свойств этого изолята с имеющимися производственными штаммами хламидий. Был секвенирован и депонирован в базу данных GenBank геном нового изолята и определена его родоспецифичность. На основании результатов исследований, проведенных Сергеем Игоревичем, в коллекцию микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» был депонирован новый штамм хламидий. Помимо этого, диссертантом был проведен комплекс лабораторных исследований с целью оценки антигенной активности и иммуногенности экспериментального вакцинного препарата на основе нового штамма хламидий, результаты которых позволили рекомендовать этот штамм для дальнейшего его использования в разработке и производстве средств специфической профилактики хламидийной инфекции животных.

Новизна исследований и полученных результатов.

Впервые в России выделен, секвенирован и депонирован в базу данных GenBank штамм хламидий выделенный от коз, отнесенный к виду *C.psittaci*. Изучение иммунобиологических свойства нового штамма *C.psittaci* «АМК-16» показало, что он серийно пассируется на развивающихся куриных эмбрионах, обладает уникальным, по сравнению с производственными штаммами, антигенным спектром и более высокой иммуногенностью. Штамм «АМК-16» депонирован в коллекцию микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», паспортизирован и серийно пассируется в лабораторных условиях на развивающихся куриных эмбрионах согласно СТО 00492374-001-2021. Впервые, на основе антигена из нового штамма хламидий «АМК-16», изготовлена экспериментальная серия вакцины, лабораторные испытания которой показали её преимущество над вакцинными препаратами, созданными на основе антигенов производственных штаммов, выделенных от разных видов сельскохозяйственных животных, десятилетиями ранее, и как следствие, доказана целесообразность применения нового штамма хламидий «АМК-16» в разработке и производстве новых ветеринарных препаратов.

Практическая ценность работы.

Практическая значимость результатов проведенных исследований, представленных в диссертационной работе не вызывает сомнений. Выделенный автором штамм хламидий «АМК-16» был депонирован в коллекцию микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», что позволило пополнить её уникальным штаммом *C.psittaci* зоонозного происхождения. Был секвенирован и депонирован в базу данных GenBank геном зоонозного штамма *C. psittaci* «АМК-16» выделенного от коз.

Результаты проведенных исследований позволяют рекомендовать штамм *C. psittaci* «АМК-16» в качестве производственного для создания эффективных средств специфической профилактики хламидиоза животных.

Степень достоверности, апробация и реализация результатов исследований.

Достоверность полученных результатов, выводов и рекомендаций подтверждена статистической обработкой данных, эксперименты проведены на достаточном количестве животных, результаты исследований доказаны несколькими методами и продемонстрировали сопоставимость значений.

Научной базой для исследований, проведенных в период с 2016 по 2020 годы, служила лаборатория вирусных антропозоонозов Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» («ФЦТРБ-ВНИВИ»).

Все исследования проведены на современном сертифицированном оборудовании.

Основные результаты проведенных исследований доложены и обсуждены на:

- научно практической конференции: «Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых «Наука и инновации в АПК XXI века» (Казань, 2018 г.); конгрессе «The 44th FEBScongress» (Краков, 2019г.); международной научно-практической конференции: «Сельское хозяйство и продовольственная безопасность: технологии, инновации, рынки, кадры» посвященной 100-летию аграрной науки, образования и просвещения» (Казань, 2019 г.); международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства» Мосоловские чтения (Йошкар-Ола, 2020 г.); национальной научно-практической конференции «Современные проблемы и перспективы развития естествознания» (Уфа, 2020 г.); международной практической конференции, посвященной 100-летию Армавирской биофабрики: «Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов» (Армавир, 2021 г.); национальной научно-практической конференции молодых ученых и студентов: «Фундаментальные и прикладные исследования: естественные науки» (Уфа, 2021 г.); на международной научно-практической конференции: «Инновационная деятельность в агропромышленном комплексе: теоретические и практические аспекты» (Омск, 2021 г.).

Подтверждение опубликованных основных результатов в научной печати и соответствие автореферата диссертации.

Основные положения диссертационной работы изложены в 18 научных публикациях, в том числе 8 статей – в изданиях рекомендованных ВАК РФ для публикации основных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата наук и 2 статьи - в издании включенном в базы Scopus и Web of Science. Разработан Стандарт организации «Штамм хламидий «АМК-16» – возбудитель аборта коз» (СТО 00492374-001-2021).

Автореферат Яковлева С.И. изложен на 26 страницах печатного текста, представляет собой краткое содержание основных материалов диссертационной работы и оформлен с учетом предъявляемых требований.

Оценка содержания диссертации.

Исследование Яковлева Сергея Игоревича «Усовершенствование средств специфической профилактики хламидиоза животных», является

завершенной научной квалификационной работой. Диссертация написана в научном стиле, изложена на 138 страницах печатного текста и построена по классическому образцу, включает содержание введение, обзор литературы, собственные исследования, которые содержат материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение результатов исследования, выводы, предложения и список использованной литературы, в котором 177 источников, в том числе 102 зарубежных. В тексте диссертации 15 таблиц и 15 рисунков.

Во введении диссертации (страницы с 4 по 12) автор описывает актуальность выбранной темы исследования, определяет цель работы, для реализации которой выдвигает 6 задач. Так же во введении описаны степень разработанности проблемы, научная новизна, методология и методы исследования, практическая значимость, степень достоверности работы и её апробация и определены 4 положения выдвигаемые на защиту.

Обзор литературы изложен на страницах с 13 по 53 и состоит из 3 разделов. В подразделе 2.1.1 изложена краткая история открытия хламидийной инфекции. В подразделе 2.1.2 описана классификация хламидий. Подраздел 2.1.3 содержит описания биологических свойств хламидий, таких как резистентность к факторам внешней среды, жизненный цикл хламидий, тикториальные, антигенные и молекулярно-генетические свойства. Подраздел 2.1.4 освещает этиологию хламидийной инфекции. Достаточно подробно изложены клинические признаки течения хламидиоза у различных видов сельскохозяйственных животных различных половозрастных групп. Раздел 2.2 посвящен вопросу диагностики хламидиоза животных. В этом разделе описаны методики позволяющие проводить эпизоотологические, микроскопические, серологические (РСК, ИФА, РИФ) и молекулярно-генетические (ПЦР) исследования, на основании которых имеется возможность поставить предварительный и окончательный диагноз инфицированным хламидиозом животным. В подразделе 2.3.1 сделан акцент на основные меры борьбы с хламидиозом сельскохозяйственных животных в различных животноводческих комплексах. В данном разделе освещены различные виды химиотерапевтических препаратов применяемых для лечения инфицированных хламидиями животных. В подразделе 2.3.2 отражены результаты разработок и исследований различных биопрепаратов направленных на создание специфического противохламидийного иммунитета у производственных животных.

Обзор литературы описан хорошим литературным языком и читается легко. Приведенные в обзоре литературы сведения свидетельствуют о достаточной проработке автором изучаемых вопросов. Анализируя обзор литературы, можно заключить, что он в полной мере отражает имеющиеся сведения в научной литературе по поставленной проблеме и предполагает дальнейшие перспективы по изучению рассматриваемой тематики. В этом разделе **Яковлев Сергей Игоревич** провел подробный анализ отечественных и зарубежных литературных источников по теме диссертации.

Раздел «Собственные исследования» содержит подробное описание исследований, проведенных автором, и включает несколько подразделов. В них

представлены в развернутом виде результаты исследований. В подразделах 3.1 и 3.2 подробно описываются применяемые диссертантом материалы и методы исследований. Все описанные методы были использованы в строгом соответствии с поставленной целью исследования и задачами, стоящими перед соискателем.

В последующих подразделах автор поэтапно решает поставленные задачи диссертационного исследования.

В разделе 4.1 (Клинические особенности течения хламидийной инфекции в козоводческом хозяйстве и выделение нового изолята хламидий) представлены результаты эпизоотологического обследования в неблагополучном по хламидиозу козоводческом хозяйстве. Описаны клинические признаки течения хламидиоза у коз, представлены результаты серологических исследований и результаты выделения изолята хламидий из патологического материала абортировавшей козы на развивающихся куриных эмбрионах.

В следующем разделе работы 4.2 (4.2. Определение инфекционного титра изолята хламидий "АМК-16" на куриных эмбрионах) отражены результаты определения инфекционного титра выделенного изолята на развивающихся куриных эмбрионах по методу Рида и Менча. На основании результатов полученных в ходе проведенного исследования и произведенных расчетов, диссертантом была определена концентрация изолята хламидий «АМК-16» способная вызывать гибель 50 % куриных эмбрионов, равная разведению инфекционного материала $10^{-5,4}$.

Раздел 4.3 (Оценка патогенности и антигенной активности изолята хламидий «АМК-16» на лабораторных животных) включающий три подраздела, содержит результаты исследований по определению патогенности изолята «АМК-16» для лабораторных животных и результаты серологических исследований. В первом и втором подразделах отражены результаты постановки биопробы на белых мышах и морских свинках, которых инфицировали разными методами (интраназально, внутрибрюшинно и подкожно). Автором было установлено, что исследуемый изолят является патогенным для лабораторных животных. В завершении двух вышеописанных подразделов для сравнения приведены результаты аналогичных исследований патогенных свойств производственных штаммов депонированных в коллекцию микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» и штамма «АМК-16», которые позволяют считать представленный штамм уникальным. Третий подраздел содержит результаты серологических исследований сывороток крови морских свинок которым были введены живая и инактивированная культура штамма «АМК-16». Результаты серологических исследований показали, что изолят хламидий «АМК-16» вызывает выработку специфических хламидийных антител у морских свинок.

Раздел 4.4 освещает результаты оценки иммуногенности штамма «АМК-16» на лабораторных животных. Полученные Сергеем Игоревичем данные свидетельствуют о высокой иммуногенности данного штамма.

В разделе 4.5 (Депонирование штамма «АМК-16» в коллекцию микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ») представлены результаты исследований штамма «АМК-16» на стерильность, безвредность, описаны

результаты молекулярно-генетических исследований на основании которых была определена родоспецифичность исследуемого штамма, что позволило соискателю депонировать его в коллекцию микроорганизмов.

Раздел 4.6 (Оценка антигенной и иммуногенной активности вакцины на основе антигена штамма «АМК-16») включает три подраздела. В подразделе 4.6.1 описаны результаты серологических исследований сывороток крови лабораторных животных иммунизированных экспериментальным вакцинным препаратом из штамма «АМК-16». Полученные результаты свидетельствуют о том, что экспериментальный биопрепарат обладает ярко выраженными антигенными свойствами. Следующий подраздел рассматривает результаты оценки иммуногенности экспериментальной вакцины на белых мышах. В подразделе 4.6.3 описаны результаты оценки эффективности вакцины из штамма «АМК-16 в остром опыте на кроликах, в ходе которых было установлено, что экспериментальный биопрепарат способен вызывать выработку противохламидийного иммунитета у кроликов на уровне достаточном для того, чтобы защитить иммунизированных животных от абортос хламидийной этиологии.

Выводы и практические рекомендации логично завершают научное исследование, соответствуют цели и поставленным задачам работы и являются вполне обоснованными.

Рекомендации по использованию результатов научных исследований.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что штамм хламидий «АМК-16» является уникальным, обладает выраженными антигенными свойствами и высокой иммуногенностью. Исходя из этого, штамм хламидий «АМК-16» рекомендован для дальнейшего использования в производстве иммунобиологических препаратов.

Оценивая диссертационную работу Яковлева Сергея Игоревича «Усовершенствование средств специфической профилактики хламидиоза животных», в целом положительно, хотелось бы указать ряд замечаний и получить разъяснения автора по следующим вопросам:

1. В работе имеются не удачные предложения, выражения и опечатки.
2. Чем Вы объясните более высокую антигенную активность штамма «АМК-16»?
3. С какими факторами Вы связываете более высокую патогенность изолята «АМК-16» при интраназальном заражении, по сравнению с подкожным и внутрибрюшинном введении?
4. Вы применили окрашивание по модифицированному методу Стемпа в чем заключается его отличие от общепринятого?

Представленные вопросы являются уточняющими, они не затрагивают основной сути проделанной работы и не снижают ее научную и практическую значимость. Диссертационное исследование носит законченный характер и предполагает перспективы дальнейшей разработки решения данной проблемы. Опубликованные статьи отражают и конкретизируют основное содержание диссертации.

Заключение. По актуальности, научной новизне, объему проведенного исследования, глубине анализа полученных данных и их доказательности, совокупности использованных методов, научной и практической значимости полученных результатов диссертация на тему «**Усовершенствование средств специфической профилактики хламидиоза животных**», является **завершенной** научно-квалификационной работой, соответствует требованиям п. №9 «Положения о присуждении научных степеней» утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, а ее автор Яковлев Сергей Игоревич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 4.2.3 – инфекционные болезни и иммунология животных.

29 августа 2022г.

Официальный оппонент:

Доктор ветеринарных наук, (специальность
06.02.01 - диагностика болезней и терапия
животных, патология, онкология и
морфология животных), профессор по
кафедре инфекционных болезней,
заведующая кафедрой инфекционных
болезней, ФВМиЗ ФГБОУ ВО Пермский
ГАТУ

Наталья Александровна Татарникова

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования «Пермский государственный
аграрно-технологический университет
имени академика Д.Н. Прянишникова»

(ФГБОУ ВО Пермский ГАТУ)

ул. Петропавловская, 23

г. Пермь, ГСП-165, 614990

Тел./факс (342) 217-99-74

E-mail: fvmz@pgsha.ru

Подпись Татарниковой Натальи Александровны заверяю:

И.о. проректора по кадрам
ФГБОУ ВО Пермский



Э.Д. Алманов