

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Мясоедова Юрия Михайловича на тему: «Микобактериальные аллергены -совершенствование методов контроля качества и способов применения при аллергической диагностике туберкулёза и паратуберкулеза крупного рогатого скота», представленную в диссертационный совет 24.1.249.01, созданного на базе ФГБНУ «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности: 4.2.3 – инфекционные болезни и иммунология животных.

**Актуальность темы исследования.** Среди инфекций крупного рогатого скота, туберкулёз и паратуберкулёз являются наиболее распространёнными заболеваниями. Скрининговым методом диагностики указанных заболеваний, является туберкулиновая проба. В свою очередь, использование туберкулиновой пробы, в зависимости от эпизоотического статуса животноводческого хозяйства, сопровождается неравнозначной диагностической ценностью. Повысить эффективность аллергической диагностики можно при помощи аллергенов, изготовленных с использованием современных технологических подходов. При этом многие вопросы, связанные с конструированием новых и усовершенствованием существующих аллергенов, методик их контроля, не решены или не отработаны. В свете вышеизложенного, диссертационная работа Мясоедова Юрия Михайловича является актуальной как для ветеринарной науки, так и для ветеринарной практики. Для достижения поставленной цели диссертантом были поставлены и решены адекватные задачи:

1. Определить оптимальные варианты сенсibilизации морских свинок *M. bovis*, *M. avium* и атипичными микобактериями, для оценки иммунобиологических критериев туберкулинов.

2. Определить эквивалентные оптимальные дозировки ППД для млекопитающих, ППД для птиц и КАМ и временные интервалы развития реакции ГЗТ, для оценки иммунобиологических параметров.

3. Провести сравнительную оценку биологической активности ППД для млекопитающих на сенсibilизированных *M. bovis* морских свинках и на инфицированном *M. bovis* крупном рогатом скоте.

4. Определить оптимальную диагностическую дозу ППД туберкулина для млекопитающих при постановке биопробы на морских свинках.

5. Изучить иммунные механизмы формирования состояния ГЗТ и развития туберкулиновой реакции у морских свинок.

6. Разработать техническое устройство оценки аллергических реакций у сенсibilизированных морских свинок на микобактериальные аллергены и программное обеспечение статистического расчета величины иммунобиологических параметров.

7. Определить оптимальные параметры оценки иммунобиологических характеристик активности и специфичности комплексного аллергена из атипичных микобактерий.

8. Изучить стабильность иммунобиологических параметров микобактериальных аллергенов после длительного периода хранения.

9. Разработать комплексный аллерген из атипичных микобактерий для осуществления дифференциально–диагностических исследований.

10. Разработать комплексный аллерген для аллергической диагностики паратуберкулёза крупного рогатого скота и методик оценки его активности и специфичности.

11. Разработать биологическую модель воспроизведения ГЗТ на морских свинках усилением сенсibilизирующих свойств микобактерий для дифференциации *M. avium subsp. paratuberculosis* от других микобактерий.

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

Степень обоснованности диссертационных исследований следует из результатов анализа литературных и экспериментальных данных, полученных в процессе исследований. Автором изучены и проанализированы публикации и теоретические положения отечественных и иностранных публикаций, касающихся вопросов изготовления туберкулинов, методик их контроля, вопросов аллергической диагностики микобактериальных инфекций животных. Основные научные положения, выводы и рекомендации по использованию научных выводов сформулированы, исходя из результатов исследований, проведенных на 1347 морских свинок и более 100 коров, инфицированных микобактериями туберкулёза бычьего вида.

Для достижения поставленной цели Юрий Михайлович Мясоедов провел большую, многоплановую работу. Объем материалов и методов исследований достаточен для получения объективных и обоснованных данных. Репрезентативный экспериментальный материал обработан адекватными статистическими методами и подходами.

Полученные результаты исследований не вызывают сомнения как по достоверности полученных данных, так и по выводам, полученным на их основе.

Представленные в работе научные положения обоснованы и подтверждены экспериментальными данными.

Таким образом, анализ полученных результатов позволил автору высказать ряд положений, которые четко обоснованы и подтверждены данными собственных исследований, а сформулированные на их основе выводы и рекомендации полностью соответствуют представленным материалам.

### **Достоверность результатов и новизна исследований и полученных результатов.**

Достоверность диссертационного исследования Мясоедова Юрия Михайловича гарантирована достаточностью материала, в том числе экспериментального, его адекватностью поставленным задачам. Научные положения и выводы, изложенные в диссертации, обоснованы и подтверждены фактическим материалом, что позволяет полученные результаты считать достоверными, сделанные выводы обоснованными и вытекающими из результатов проведенных исследований.

Автором исследований определены оптимальные варианты сенсibilизации морских свинок микобактериями различных видов. Изучены оптимальные дозировки микобактериальных аллергенов, использование которых позволяет получать достоверные результаты оценки иммунобиологических параметров. Установлено, что точность оценки иммунобиологических параметров микобактериальных аллергенов на сенсibilизированных микобактериями морских свинок, в сравнении с инфицированным *M. bovis* крупным рогатым скотом, выше. Определена оптимальная диагностическая доза ППД туберкулина для млекопитающих в международных единицах *PPD-bovine* при постановке биологической пробы на лабораторных животных. Разработана биологическая модель воспроизведения ГЗТ на различные микобактерии на сенсibilизированных морских свинок, путем усиления сенсibilизирующих свойств.

Впервые разработаны инструментальный способ оценки иммунобиологических параметров микобактериальных аллергенов и программное обеспечение статистического расчета этих параметров.

Впервые изучена стабильность иммунобиологических параметров альт-туберкулина Коха, туберкулина, свободного от альбумоз, туберкулина на синтетической питательной среде, концентрированного нагреванием после периода длительного хранения, ранее используемых при диагностике туберкулёза животных.

Разработаны комплексные аллергены КАМ-2 и КАМ-3, применяемые при диагностике туберкулеза крупного рогатого скота для дифференциации неспецифических реакций.

Разработан комплексный аллерген «Параавиум» для аллергической диагностики паратуберкулёзной инфекции крупного рогатого скота.

Новизна исследований, представленная Мясоедовым Ю.М. в диссертационной работе, очевидна и подтверждена 11 патентами на изобретение. Два патента отмечены золотыми медалями Российской агропромышленной выставки «Золотая осень».

**Значимость для науки и практики полученных соискателем результатов.**

Проведённая Юрием Михайловичем Мясоедовым работа - серьёзный труд, обогащающий знания о диагностических формах алерго-диагностикумов и совершенствовании методик их контроля.

Практическая ценность работы состоит в том, что автором в соавторстве разработаны комплексные аллергены КАМ-2 и КАМ-3, применяемые при диагностике туберкулеза крупного рогатого скота с целью дифференциации неспецифических реакций. Разработан комплексный аллерген «Параавиум» для аллергической диагностики паратуберкулёзной инфекции крупного рогатого скота.

Разработана и утверждена нормативная документация:

- Профилактические, диагностические, ограничительные и иные мероприятия, установление и отмена карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов туберкулёза животных. - ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, Москва.-2019.-29с.

- Профилактические, диагностические, лечебные, ограничительные и иные мероприятия, установление и отмена карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию паратуберкулёза животных.- ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, Москва.-2019.-26с.

- Применение симультанной пробы с ППД-туберкулином для млекопитающих и КАМ для индивидуального учета аллергических реакций, отбора реагирующих животных для диагностического убоя. - ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, Москва.-2020.-29с.

-Туберкулины очищенные (ППД) для животных. Межгосударственный стандарт. ГОСТ 32306-2013. Москва, Стандартинформ, 2013. 32с.

Результаты исследований отражены в трёх монографиях:

«Аллергены и аллергическая диагностика микобактериальных инфекций животных»; «Хронические инфекции животных Туберкулёз»; «Хронические инфекции животных. Паратуберкулёз».

Материалы, представленные в диссертационной работе, могут быть использованы в научно-исследовательской и практической работе ветеринарных специалистов, при разработке нормативной документации, справочных пособий, а также в учебном процессе.

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

Автореферат оформлен методически верно, содержит основные разделы диссертации и раскрывает её научные положения. Выводы и практические предложения в автореферате и диссертации идентичны. Диссертация и автореферат соответствуют критериям «Положения о присуждении ученых степеней».

**Личный вклад соискателя в разработку научной программы.**

Научное исследование соискателем ученой степени выполнено самостоятельно, в ходе которого представлен анализ научной литературы по теме диссертации, представлена цель и определены задачи, освоены современные и классические методики исследований с последующей статистической обработкой полученных результатов, сформулированы основные положения и выводы диссертации. Опубликованные результаты исследований подтверждают значительный вклад диссертанта в решение поставленных задач.

**Оценка содержания диссертации, её завершенность и замечания по оформлению.**

Диссертационная работа Мясоедова Юрия Михайловича построена по традиционному плану и состоит из разделов: оглавление, введение, обзор литературы, собственные исследования, результаты исследований, обсуждение полученных результатов исследований, заключение, выводы, практическое использование результатов исследований, рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений, список использованной литературы, приложения.

Диссертация изложена на 277 страницах машинописного текста, содержит 45 таблиц, 10 иллюстраций. Библиографический указатель включает 411 источников до 2022 года включительно, из них 239 отечественных и 172-зарубежных авторов.

Во введении автором изложена методология диссертационного исследования с обоснованием выбора темы и краткой информацией о её современном состоянии. На основе сформулированной проблемы отражены цель и задачи исследований; научная новизна; теоретическая и практическая значимость работы; основные положения, выносимые на защиту; методология

и методы исследований; степень достоверности и апробация результатов работы; публикации; личный вклад автора в проведённые исследования; объём и структура диссертации.

В обзоре литературы, состоящем из шести глав, Мясоедовым Ю.М. анализируются значимые отечественные и зарубежные литературные источники. Рассмотрены исторические аспекты открытия и совершенствования технологических этапов изготовления микобактериальных аллергенов, а также развития методик контроля. Рассмотрены иммунные механизмы, на которых основана аллергическая диагностика. Представлены литературные данные по проблемам аллергической диагностики туберкулёза и паратуберкулёза крупного рогатого скота и её совершенствования.

В подразделе «Материалы и методы» автор приводит объём и схему комплексных поэтапных исследований. Методы и методология исследований адекватны поставленным целям и задачам, они соответствуют современному уровню. В работе применялись клинические, бактериологические, биотехнологические, иммунологические и математические методы исследований, которые обеспечили получение научно-обоснованных и достоверных данных по изучаемым вопросам. Приводятся описания основных методических приёмов, использованных автором в ходе выполнения работы, включая методы статистической обработки данных.

Результаты исследований описаны в четвертой главе, которая представлена 20 подглавами.

На начальном этапе автором исследованы оптимальные варианты сенсibilизации морских свинок различными видами микобактерий. В результате было показано, что использование живых микобактерий предпочтительно по сравнению с инактивированными, были определены оптимальные сенсibilизирующие дозы микобактерий. Кроме того, определены оптимальные эквивалентные дозировки микобактериальных аллергенов. Данные исследования продемонстрировали, что как сенсibilизирующие агенты, так и дозировки микобактериальных аллергенов должны быть подобраны в эквивалентных соотношениях, что позволяет получать воспроизводимые и сходимые результаты исследований.

Учитывая возможность использования различных моделей оценки иммунобиологических параметров микобактериальных аллергенов, Мясоедовым Юрием Михайловичем показана предпочтительность лабораторной модели - сенсibilизированных морских свинок. Далее соискателем разработан подход формирования групп морских свинок для оценки параметров туберкулинов, определены оптимальные параметры учета

туберкулиновой реакции и кратности использования сенсibilизированных морских свинок.

Общепринятой биологической моделью при воспроизведении микобактериальных инфекций являются морские свинки. Автором диссертационного исследования определены в современных Международных единицах диагностическая дозировка для оценки развития состояния гиперчувствительности замедленного типа.

Учитывая направленность диссертационного исследования, Мясоедовым Юрием Михайловичем проведены исследования иммунных механизмов при развитии туберкулиновой аллергии.

Диссертантом, для снижения различных видов погрешностей, возникающих при оценке иммунобиологических параметров туберкулинов, разработан инструмент оценки интенсивности туберкулиновой реакции, а также предложено программное обеспечение.

Проведены исследования по разработке новых комплексных аллергенов для дифференциальной диагностики туберкулёза и паратуберкулёза. Проведена оценка стабильности новых аллергенов, а также аллергенов, хранившихся в течение длительного времени.

Ориентируясь на совершенствование аллергической диагностики микобактериальных инфекций крупного рогатого скота, автором, в соответствии Международных практик, усовершенствованы методики оценки активности и специфичности бивалентного варианта КАМа. При этом разработанные подходы послужили основанием для разработки аналогичных методов контроля для поливалентных вариантов КАМа и Комплексного аллергена «Параавиум».

В Заключение представлены 16 выводов, которые резюмируют выполненную Мясоедовым Юрием Михайловичем работу и вытекают из результатов собственных исследований.

Работа хорошо апробирована. Её результаты представлены на 9 научно-практических конференциях различного уровня, опубликованы в более 30 научных рецензируемых изданиях, рекомендуемых ВАК МОН РФ, защищены 11 патентами на изобретение, в том числе имеются 2 свидетельства о государственной регистрации программы для ЭВМ, изданы 3 методические рекомендации, 3 монографии.

В целом работа представляет завершённый, хорошо оформленный и убедительно иллюстрированный научный труд.

## **Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации.**

Отмечая в целом актуальность, новизну и научно-практическую значимость проведенных исследований, оценивая положительно диссертационную работу Мясоедова Юрия Михайловича, хотелось бы получить разъяснения по поводу ряда вопросов, возникших при ознакомлении с работой:

1. Как может быть определена Международная туберкулиновая единица активности в отношении КАМ и «Параавиум»?

2. Вы на странице 94 приводите результаты сравнения биологических моделей: инфицированного крупного рогатого скота и сенсibilизированных морских свинок, при этом используете две серии туберкулина с содержанием белка 0,6 мг/мл и 0,9 мг/мл. Почему использованы именно данные концентрации?

3. Какие, по Вашему мнению, могут быть ограничения при расширении антигенного спектра комплексных туберкулинов?

4. При моделировании паратуберкулёзной инфекции у морских свинок Вы используете адьювант Фрейнда. По Вашему мнению, возможно ли использование другого адьюванта?

Выше представленные вопросы не снижают положительной оценки оппонируемой диссертационной работы, поскольку они отчасти носят дискуссионный характер и вызваны интересом к данной работе.

**Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней.**

Диссертационная работа Мясоедова Юрия Михайловича на тему: «Микобактериальные аллергены - совершенствование методов контроля качества и способов применения при аллергической диагностике туберкулёза и паратуберкулеза крупного рогатого скота», представленная в совет Д 24.1.249.01, созданного на базе ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» (ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН) на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 4.2.3 – инфекционные болезни и иммунология животных, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важных теоретических и прикладных задач, связанных с усовершенствованием аллергической диагностики туберкулёза и паратуберкулёза крупного рогатого скота, имеющих существенное значение для ветеринарной науки и практики. Актуальность



темы, новизна, научно-практическая значимость результатов, научных положений и практических предложений позволяют констатировать, что диссертация Мясоедова Юрия Михайловича соответствует критериям, предъявляемым к работам на соискание ученой степени доктора биологических наук п 9. «Положения о порядке присуждения ученых степеней...», утвержденного постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013г., а её автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности: 4.2.3 –инфекционные болезни и иммунология животных.

**Официальный оппонент:**

Главный научный сотрудник  
отдела микробиологии  
ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский  
институт туберкулёза»  
доктор биологических наук, профессор

Лариса Николаевна  
Черноусова

Подпись Ларисы Николаевны Черноусовой заверяю:  
ученый секретарь ФГБНУ «ЦНИИТ»  
кандидат психологических наук

Наталья Владимировна  
Золотова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза» (ФГБНУ  
«ЦНИИТ»). Адрес:107564, город Москва, улица Яузская аллея, дом 2.  
Телефон: +7(499)785-90-19.Электронная почта: [cniit@ctri.ru](mailto:cniit@ctri.ru)

7 февраля 2024 г.