

В диссертационный совет 24.1.249.01,
созданный на базе Федерального
государственного бюджетного научного
учреждения «Федеральный научный центр –
Всероссийский научно-исследовательский
институт экспериментальной ветеринарии
им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко»

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Мясоедова Юрия Михайловича «Микобактериальные аллергены – совершенствование методов контроля качества и способов применения при аллергической диагностике туберкулеза и паратуберкулеза крупного рогатого скота», представленную в диссертационный совет 24.1.249.01, созданный на базе ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ на соискание ученой степени доктора биологических наук по научной специальности 4.2.3 – инфекционные болезни и иммунология животных.

Актуальность темы исследований. Туберкулез крупного рогатого скота остается эпизоотически, социально и экономически значимой инфекцией во многих странах мира. Хроническое течение, отсутствие методов лечения и специфической профилактики определяют трудности борьбы с этим заболеванием.

На фоне коренного улучшения эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота в Российской Федерации в последние десятилетия весьма острой остается проблема неспецифической реактивности организма животных к туберкулиновым препаратам, применяемым для массовой диагностики болезни, что регламентировано нормативно-технической документацией при туберкулезе животных. Так, только за 2001-2021 годы в хозяйствах всех форм собственности РФ было выявлено свыше 869 тыс. голов крупного рогатого скота, реагирующего на внутрикожное введение ППД туберкулина для млекопитающих.

Указанное обстоятельство вносит неясность в истинную эпизоотическую ситуацию по туберкулезу и приводит к необоснованному убою продуктивных

животных с большим экономическим ущербом. Следует отметить, что неспецифические реакции на туберкулин могут проявляться и на фоне неблагополучия по туберкулезу, где их невозможно дифференцировать от специфических, вызванных патогенными микобактериями бычьего и человеческого видов.

Другой важной проблемой является диагностика паратуберкулеза крупного рогатого скота, возросшей в последнее время в связи с массовым завозом импортного высокопродуктивного поголовья крупного рогатого скота, что предусмотрено реализацией национального проекта России по развитию агропромышленного комплекса. При этом регламентировано обязательное исследование завозимого поголовья на паратуберкулез в условиях содержания на карантине. Существующие методы прижизненной диагностики паратуберкулеза (аллергический, РСК) не в полной мере обладают диагностической эффективностью, а ИФА с импортным набором «*INDEXX Paratuberculosis Verification*» для обнаружения антител *Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis* в индивидуальных образцах молока, сыворотки и плазмы крови крупного и мелкого рогатого скота дорогостоящ и не технологичен.

В связи с изложенным, комплексные исследования Мясоедова Ю.М. по совершенствованию аллергенов для диагностики туберкулеза и паратуберкулеза крупного рогатого скота для использования в системе противозoonотических мероприятий, а также разработке методических подходов и параметров контроля качества и способов применения микобактериальных аллергенов представляются весьма актуальными.

2. Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Обоснованность научных положений доказана диссертантом оценкой современного состояния диагностики туберкулеза и паратуберкулеза крупного рогатого скота. При этом соискателем глубоко проанализирована научная литература и нормативно-техническая документация по диагностике туберкулеза и паратуберкулеза

животных, на основе чего сформулирована концепция по совершенствованию методологии и методов контроля качества и способов применения микобактериальных аллергенов при аллергической диагностике туберкулеза и паратуберкулеза крупного рогатого скота.

Для решения поставленной цели диссертантом обосновано решение широкого круга вопросов, включающих разработку биологической модели воспроизведения гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) на морских свинках путем усилением сенсibiliзирующих свойств микобактерий для дифференциации *M. avium subsp. paratuberculosis* от других микобактерий; определение оптимальных вариантов сенсibiliзации морских свинок культурами *M. bovis*, *M. avium* и атипичными микобактериями, оценку иммунобиологических критериев туберкулинов; определение оптимальных доз ППД туберкулинов для млекопитающих и птиц, комплексного аллергена для млекопитающих и временных интервалов развития гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) на введение аллергенов, оценку иммунобиологических параметров; сравнительную оценку биологической активности ППД для млекопитающих на сенсibiliзированных *M. bovis* морских свинках и на инфицированном *M. bovis* крупном рогатом скоте. Обосновано также экспериментальное определение оптимальной диагностической дозы туберкулина при постановке биопробы на морских свинках и изучение иммунных механизмов формирования и развития туберкулиновых реакций; определение параметров оценки активности и специфичности комплексного аллергена из атипичных микобактерий; изучение стабильности параметров аллергенов после длительного хранения. Важным явилась разработка комплексного аллергена из атипичных микобактерий для дифференциально-диагностических исследований и аллергической диагностики паратуберкулёза крупного рогатого скота («Параавиум»), методик оценки его активности и специфичности.

3. Достоверность и новизна научных положений. Достоверность результатов исследований подтверждается использованием современной

методологии и методик – эпизоотологических, экспериментально-клинических, аллергических, бактериологических, биотехнологических, иммунологических, гематологических и математических. Исследования проведены на большем объеме фактического материала с использованием принципа аналогов экспериментальных и контрольных показателей.

В результате исследований определены оптимальные варианты сенсибилизации морских свинок микобактериями разных видов, изучены оптимальные дозы микобактериальных аллергенов, использование которых позволяет получать достоверные результаты оценки иммунобиологических параметров. Определена оптимальная диагностическая доза ППД туберкулина для млекопитающих при постановке биопробы на лабораторных животных. Разработана биологическая модель воспроизведения ГЗТ на различные микобактерии на сенсибилизированных морских свинках путем усиления сенсибилизирующих свойств.

Впервые разработаны инструментальный способ оценки иммунобиологических параметров микобактериальных аллергенов и программное обеспечение статистического расчета этих параметров, повышающих технологичность этих процессов. Впервые изучена стабильность иммунобиологических параметров альтутуберкулина Коха, туберкулина, свободного от альбумоз, туберкулина на синтетической питательной среде, концентрированного нагреванием, после периода длительного хранения, используемых ранее при диагностике туберкулёза животных.

Разработаны комплексные аллергены КАМ-2 и КАМ-3 для диагностики туберкулеза крупного рогатого скота и дифференциации неспецифических туберкулиновых реакций. Разработан также комплексный аллерген «Параавиум» для аллергической диагностики паратуберкулёза крупного рогатого скота.

Приоритет и научная новизна исследований диссертанта подтверждена девятью патентами РФ на изобретения и двумя свидетельствами о государственной регистрации программ для ЭВМ.

Результаты исследований Ю.М. Мясоедова широко представлены на международных научно-практических конференциях и Российской агропромышленной выставке в номинации «Золотая осень» (получены 4 золотые медали).

4. Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты исследований вносят определенный теоретический вклад в развитие алгоритма методологии разработки диагностических препаратов, в частности аллергенов для диагностики туберкулеза и паратуберкулеза животных и других инфекционных болезней.

Результаты, полученные при выполнении исследований, использованы при разработке следующих нормативно-технических и методических документов Федерального уровня:

- Профилактические, диагностические, ограничительные и иные мероприятия, установление и отмена карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов туберкулёза животных;
- Профилактические, диагностические, лечебные, ограничительные и иные мероприятия, установление и отмена карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию паратуберкулёза животных;
- Применение симультанной пробы с ППД-туберкулином для млекопитающих и КАМ для индивидуального учета аллергических реакций и отбора реагирующих животных для диагностического убоя;
- Туберкулины очищенные (ППД) для животных. Межгосударственный стандарт. ГОСТ 32306-2013.

5. Завершенность диссертации, оценка объёма, структуры и содержания работы. Представленная диссертация носит завершенный характер, так как включает структуру и все разделы, предусмотренные правилами оформления и требованиям ВАК Минобрнауки России. Структура диссертационной работы включает «Введение», «Основную часть» и

«Заключение».

Диссертация изложена на 277 страницах компьютерного текста, её оформление соответствует положениям ГОСТа. Работа содержит 45 таблиц и 10 рисунков. Библиографический указатель включает 411 источников научной литературы, из них 239 отечественных и 172- зарубежных авторов.

Научные положения, изложенные в диссертации, соответствуют паспорту специальности 4.2.3. – «Инфекционные болезни и иммунология животных», а именно: п. 20 – Принципы профилактической и противоэпизоотической работы, разработка общих и специальных мероприятий по профилактике, контролю и ликвидации инфекционных болезней животных, эпизоотологический мониторинг и надзор;

В разделе «Введение» диссертант обосновывает актуальность темы исследований, описывает состояние изучаемой проблемы и круг нерешенных вопросов. Поставленные на разрешение цель и задачи исследований полностью нашли отражение в научных положениях диссертации. Данный раздел содержит все структурные элементы, предусмотренные ГОСТ 7.0.11-2011.

Раздел «Обзор литературы» состоит из шести подразделов, в которых автором освещена история открытия и совершенствования микобактериальных аллергенов, описаны иммунные механизмы при микобактериальных болезнях животных, методы контроля аллергенов, аллергическая диагностика микобактериальных инфекций и ее совершенствование на современном этапе борьбы с туберкулезом животных. Раскрыта проблема неспецифической реактивности крупного рогатого скота к туберкулиновым препаратам и методы дифференциальной диагностики, а также особенности диагностики паратуберкулеза животных.

В разделе «Материалы и методы исследований» соискатель перечисляет штаммы музейных патогенных и атипичных микобактерий, а также специальные питательные среды для их культивирования, использованные в работе. Представлен широкий спектр туберкулинов для аллергической диагностики микобактериальных инфекций, включающих препараты

отечественного и зарубежного производства, что свидетельствует о проведении их сравнительного испытания.

Экспериментальные исследования проведены на большом количестве лабораторных животных (более 1,3 тыс. морских свинок) и крупном рогатом скоте (свыше 100 гол.), что позволило диссертанту доказательно решить важные вопросы активности, специфичности и реактогенности экспериментальных аллергенов. Исследования проведены на высоком научно-методическом уровне с использованием современного оборудования и приборов.

Раздел «Результаты собственных исследований» состоит из нескольких подразделов, содержание которых соответствует поставленным на разрешение многочисленным и всесторонним задачам исследований по совершенствованию методов контроля качества и способов применения туберкулинов в аллергической диагностике туберкулеза и паратуберкулеза крупного рогатого скота.

Результаты исследований, отраженные в разделе «Совершенствование условий оценки иммунобиологических параметров микобактериальных аллергенов» раскрывают полученные данные экспериментов на лабораторных животных сенсibiliзирующих свойств микобактерий бычьего и птичьего видов, а также атипичных микобактерий, как важных параметров аллергической реактивности животных к туберкулиновым препаратам.

Раздел «Изучение факторов оценки иммунологических параметров микобактериальных аллергенов при различных дозировках дал исчерпывающие ответы по определению эквивалентных оптимальных доз применения ППД туберкулина для млекопитающих, ППД туберкулина для птиц и комплексного аллергена из атипичных микобактерий (КАМ), что является основой для практического применения аллергенов в системе прижизненной диагностики туберкулеза животных.

В разделе «Совершенствование биологической модели микобактериальных инфекций животных» дано научное обоснование и оценка биологической активности ППД туберкулина для млекопитающих на

различных биологических объектах, разработаны методические основы для формирования групп морских свинок с целью оценки иммунобиологических параметров микобактериальных аллергенов, определено оптимальное время учета кожной реакции на введение туберкулина у морских свинок, а также кратности сенсibilизации лабораторных животных для оценки иммунологических параметров аллергенов, оптимальной диагностической дозы ППД туберкулина для млекопитающих. Результаты экспериментальных исследований использованы в дальнейшем для разработки нормативно-технических документов по применению аллергенов на сельскохозяйственных животных.

По разделу «Совершенствование тестов оценки иммунологических параметров микобактериальных аллергенов на лабораторных животных» автором разработано инструментальное устройство и программное обеспечение для оценки этих показателей, значительно улучшающих технологичность процессов. Кроме того, в данном разделе представлены результаты исследований по совершенствованию способов оценки иммунологических параметров комплексных аллергенов, способа оценки биологической активности и специфичности комплексного аллергена из атипичных микобактерий, в результате чего установлена целесообразность такой оценки на гомологичной сенсibilизации морских свинок культурами *M. scrofulaceum* и *M. intracellularae*.

По разделу «Изучение стабильности иммунологических свойств микобактериальных аллергенов длительного периода хранения» автором решен важный вопрос для производственного процесса, основанный на нецелесообразности очистки аллергенов от низко специфичных, родových микобактериальных антигенов.

По разделу «Усовершенствование комплексного аллергена из атипичных микобактерий для применения в симультанной пробе с ППД туберкулином для млекопитающих» диссертантом разработана технология изготовления препарата «Параавиум», методы определения активности и оценки

специфичности, что предусмотрено международными требованиями.

В разделе «Заключение» представлены итоги работы, сделано обобщение результатов исследований в сопоставлении с данными научной литературы и нормативной правовой документацией. Сформулированные выводы в количестве 16 положений логически вытекающих из результатов исследований и соответствуют цели и задачам диссертационного исследования.

Библиографический список включает 411 источников научной литературы, из них 172 –зарубежных авторов.

Приложение содержит копии документов, отражающих научную новизну, практическую и теоретическую ценность работы и использование результатов исследований.

Результаты исследований Ю.М. Мясоедова опубликованы в 60 научных статьях, в том числе 30 – в рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК Минобрнауки России, получено 9 патентов на изобретение, 2 свидетельства о государственной регистрации программ для ЭВМ, изданы 3 методические рекомендации, 3 монографии.

Автореферат диссертации Ю.М. Мясоедова «Микобактериальные аллергены – совершенствование методов контроля качества и способов применения при аллергической диагностике туберкулеза и паратуберкулеза крупного рогатого скота» отражает краткое содержание диссертации.

В ходе экспертизы диссертации возник ряд вопросов и замечаний, на которые хотелось бы получить исчерпывающие ответы.

1. Какие параметры стабильности, кроме срока годности, существуют для микобактериальных аллергенов как в сублимированной, так и жидкой формах, и кто их определяет в непрерывном процессе производства этих препаратов в условиях биофабрики?

2. Возможно ли использование разработанных Вами аллергенов (КАМ-2, КАМ-3, Параавиум) для индивидуальной оценки инфекционного процесса у отдельного животного, что принципиально важно для личных хозяйств граждан, в которых содержатся единицы голов?

3. Каково место в прижизненной диагностике туберкулеза и паратуберкулеза разработанных Вами аллергенов, и каков алгоритм их применения с учетом того, что первичная диагностика этих инфекций основана на результатах бактериологических и патологоанатомических исследований?

4. Вами разработан новый аллергический препарат для диагностики паратуберкулеза крупного рогатого скота «Параавиум», доказана его активность, специфичность, разработаны методы контроля изготовления, однако не представлены документы по регламенту его применения (наставление), что повысило бы значимость и законченность разработки.

5. В разделе «Заключение», согласно требованиям к оформлению диссертации и автореферата, наряду с выводами, необходимо было изложить подраздел «Практические предложения», которые представлены в других разделах.

6. В разделе диссертации «Приложения» следовало представить копии монографий (выходные данные), как доказательную базу Вашего соавторства.

7. В тексте диссертации имеются ряд орфографических и стилистических погрешностей, в том числе при оформлении ряда таблиц и списка литературы.

Указанные замечания в целом не снижают ценность диссертации и не влияют на ее общую положительную оценку.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Мясоедова Юрия Михайловича на тему «Микобактериальные аллергены – совершенствование методов контроля качества и способов применения при аллергической диагностике туберкулеза и паратуберкулеза крупного рогатого скота», представляет собой законченную научно-квалификационную работу, содержащую решение важных теоретических и прикладных задач для ветеринарной науки и практики. Работа выполнена автором самостоятельно, обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты и положения, выдвигаемые для публичной защиты,

свидетельствующие о личном вкладе диссертанта в решение крупной научной проблемы инфекционной патологии сельскохозяйственных животных – диагностики туберкулёза и паратуберкулёза крупного рогатого скота, имеющей важное народно-хозяйственное значение в обеспечении ветеринарного благополучия животноводства агропромышленного комплекса России.

Считаю, что по актуальности, научной новизне, практической значимости, и объему исследований работа полностью отвечает требованиям ВАК РФ, предъявляемым к докторским диссертациям (п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых ...», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., а ее автор – Мясоедов Юрий Михайлович, заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по специальности 4.2.3 – Инфекционные болезни и иммунология животных.

Главный научный сотрудник лаборатории туберкулёза сельскохозяйственных животных Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока ФГБНУ «Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий» Российской академии наук, доктор ветеринарных наук, профессор

Смолянинов Юрий Иванович

Подпись Смолянинова Юрия Ивановича заверяю:

Ученый секретарь СФНЦА РАН,
кандидат биологических наук
« » января 2024 г.



В.И. Коркина

Дополнительные данные об авторе отзыва:

630501, Новосибирская обл., Новосибирский район, п. Краснообск, ИЭВСиДВ
СФНЦА РАН, а/я 8, Тел.: +7 (383)348-14-40, e-mail: uismol@yandex.ru