

ОТЗЫВ

официального оппонента кандидата ветеринарных наук, доцента Шуралева Эдуарда Аркадьевича на диссертационную работу Джакаит Джулиет Акамуран по теме «Усовершенствование иммунохимических методов диагностики лейкоза и туберкулеза крупного рогатого скота», представленную на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

Актуальность темы. Лейкоз и туберкулез являются наиболее часто встречающимися инфекциями крупного рогатого скота. При организации мероприятий по борьбе с этими инфекциями важное место занимает своевременная диагностика.

Несмотря на широкое применение реакции иммунодиффузии, продолжаются исследования по разработке более чувствительных и специфичных диагностических тест-систем, позволяющих выявлять зараженное лейкозом животное на ранних стадиях инфекционного процесса. А поиск уникальных антигенов является основополагающим направлением данных исследований.

Туберкулинизация имеет ряд недостатков, главным из которых является проблема неспецифических реакций. Учеными разных стран ведутся исследования по созданию новых средств и методов диагностики туберкулеза с высокой чувствительностью и специфичностью, одним из направлений которых является серологическая диагностика. Для этих целей на первое место выдвигаются исследования по выделению и изучению антигенных и иммуногенных свойств белков микобактерий, специфических антител к ним, что позволит использовать их для дифференциации

неспецифических реакций животных на туберкулин в иммунохимических реакциях.

В контексте изложенного считаю, что диссертационная работа Джакаит Д.А., посвященная совершенствованию иммунохимических методов диагностики лейкоза и туберкулеза крупного рогатого скота является актуальной для современной ветеринарной науки и практики.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций. Основные научные положения диссертации, представленные к защите в диссертационный совет Д 220.034.01, изложены ее автором на основании проведенных научных исследований на базе кафедры биологической и неорганической химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» и в Государственном бюджетном учреждении «Республиканская ветеринарная лаборатория» Республики Татарстан (г. Казань).

В ходе экспериментальных работ путем сравнительного анализа исследованию подвергались пробы сыворотки крови крупного рогатого скота из различных хозяйств Российской Федерации. Лабораторные исследования проведены с применением принятых в ветеринарной медицине современных биохимических, иммунологических, иммунохимических, серологических методов.

Выводы и практические предложения диссертации являются в достаточной степени обоснованными, так как аргументированно отражают ее основные научные положения и логично вытекают из полученных результатов.

Научная новизна работы и достоверность полученных результатов. Научной новизной диссертационной работы является то, что Джакаит Д.А. впервые:

а) разработан способ получения антигенов вируса лейкоза крупного рогатого скота, обеспечивающих более полное выявление противолейкозных

антител в сыворотках крови крупного рогатого скота, инфицированных вирусом лейкоза, методом иммуноферментного анализа;

б) разработаны тест-системы на основе дот-блот анализа для обнаружения антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота и микобактериям туберкулеза крупного рогатого скота;

в) доказана высокая информативность термообработки проб сыворотки крови как способа повышения чувствительности ИФА при выяснении эпизоотической ситуации хозяйств по лейкозу крупного рогатого скота.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений и подтверждается методически правильно проведенными исследованиями и достаточным экспериментальным материалом, а также апробацией в хозяйствах Республики Татарстан.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации. Результаты исследований, отраженные в диссертации и в «Методических рекомендациях по выявлению антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота методом ИФА и дот-блот иммуноанализа с использованием антигена из местных штаммов возбудителя», рекомендуются для использования ветеринарными специалистами для повышения эффективности диагностики лейкоза крупного рогатого скота, для скрининговых исследований при диагностике лейкоза и туберкулеза крупного рогатого скота, а также в учебном процессе высших учебных заведений биологического и ветеринарного профиля.

Оценка объема, структуры и содержания работы. Диссертационная работа Джакаит Д.А. изложена на 113 страницах стандартного компьютерного текста и включает введение (7 с.), обзор литературы (28 с.), материалы и методы исследований (7 с.), результаты собственных исследований (20 с.), заключение (11 с.), практические предложения (1 с.), список литературы (27 с.), список сокращений и условных обозначений (1 с.) и приложения (7 с.). Работа иллюстрирована 15 таблицами и 9 рисунками.

Библиографический список включает 227 наименований, в том числе 137 на иностранных языках.

Актуальность темы диссертации соискателем четко обоснована, в соответствии с ней грамотно сформулированы цель и задачи исследований.

Раздел «Обзор литературы» является достаточно полным и отражающим изученность и перспективы избранной темы исследований, касающихся не только России, но и зарубежных стран. В данном разделе диссертации отражается способность автора к анализу и оценке современного состояния проблемы. На основе проведенного анализа отечественных и зарубежных литературных источников, многие из которых опубликованы за последние 10 лет, Джакаит Д.А. подробно осветила современную эпизоотологическую ситуацию по лейкозу и туберкулезу крупного рогатого скота в России и мире, проблему диагностики этих заболеваний, достижения в области серологических методов исследований. Приведенный информационно-аналитический обзор свидетельствует о высокой профессиональной подготовке диссертанта.

О достаточно высоком научно-методическом уровне проведенных экспериментальных исследований свидетельствует раздел «Материалы и методы исследований», в котором отображена четко разработанная схема на большом объеме материала. Исследованию было подвергнуто 5324 пробы сыворотки крови крупного рогатого скота методами ИФА, РИД, иммуноблот. В отдельных случаях антигенами служили белковые фракции, выделенные диссертантом из микобактерий и сывороток крови больных лейкозом коров.

Раздел «Результаты собственных исследований» состоит из шести взаимосвязанных подразделов, в которых Джакаит Д.А. полностью раскрыла всю суть своей диссертации, а именно:

- провела иммуноферментный анализ для диагностики лейкоза крупного рогатого скота;
- изучила влияние термической обработки проб сыворотки крови на чувствительность метода ИФА при диагностике лейкоза;

- выделила и охарактеризовала антигенные компоненты вируса лейкоза;

- провела сравнительный анализ полученного антигена с коммерческим антигеном в ИФА;

- разработала и провела апробацию дот-блот ИФА тест-системы для выявления антител к антигенам вируса лейкоза и микобактерий туберкулеза.

При анализе полученных результатов по видам хозяйств и по физиологическим группам животных, соискателем установлено, что лейкоз широко распространен в агропромышленных предприятиях и чаще встречается у молочных коров и телят. При этом Джакаит Д.А. обоснованно указывает на высокую эффективность ИФА по сравнению с РИД при выяснении эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота. Экспериментальными исследованиями соискатель установила, что чувствительность ИФА выше и позволяет выявлять большее число инфицированных вирусом лейкоза животных, если сыворотки крови предварительно подвергать нагреванию при 60°C в течение 1 часа, что соискатель связывает с разрушением циркулирующих в крови инфицированных животных иммунных комплексов и высвобождением антител. Показано, что спектр свободно циркулирующих в крови антител меняется с развитием инфекционного процесса при лейкозе, а полученный диссертантом антиген позволяет их обнаруживать. При этом, результаты ИФА с полученным соискателем антигеном при сравнении с коммерческой тест-системой, в некоторых случаях указывают на повышение диагностической эффективности. Для скрининговых исследований на лейкоз крупного рогатого скота показана эффективность разработанного диссертантом дот-блот ИФА с использованием выделенных из сывороток крови больных коров вирусных частиц. Аналогичным образом доказана и эффективность дот-блот ИФА с микобактериальными антигенами для диагностики туберкулеза.

В разделе «Результаты собственных исследований» полно и убедительно отражены основные положения, выносимые на защиту. Читателю не затруднит составить представление об объеме проведенной работы и использованных методах исследований для решения поставленных задач, что лаконично и доходчиво отображено в данном разделе.

В главе «Заключение» Джакаит Д.А. проводит интерпретацию полученных результатов исследований в виде обсуждения, что позволило диссертанту сделать конкретные выводы. Заключение диссертационной работы аргументировано, вытекает из анализа результатов собственных исследований автора, и является логичным ответом на задачи, поставленные для достижения цели.

В автореферате лаконично представлены: актуальность темы, степень ее разработанности, цель и задачи исследований, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы исследования, основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов, объем и структура диссертации, основное содержание работы, выводы, практические предложения, публикации по теме диссертации. Соискателем опубликовано 7 научных работ по теме диссертации, в том числе 4 – в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях в соответствии с перечнем ВАК при Минобрнауки РФ, которые в полной мере отражают содержание, как диссертационной работы, так и ее автореферата.

Признавая высокое качество содержания диссертации Джакаит Д.А., считаю нужным получить ответы на отдельные **вопросы и замечания**, возникшие у меня в ходе ее изучения:

1. Чем объясняется выбор методов ИФА и дот-блот анализа для проведения Ваших исследований? В чем их преимущество над другими методами серологических исследований (не только РИД)?

2. В разделе 3.2.2 Вы ссылаетесь на работу Митина Ю.А. (1997) и указываете, что циркулирующие иммунные комплексы могут разрушаться

при +38-40°C температурной обработке в течение 0,5-2 часов (стр. 49-50). Однако с этой же целью в своей работе Вы используете другой режим – 1 час при +60°C. Чем обоснован такой подход? Проводились ли эксперименты по оптимизации режимов температурного воздействия на образцы проб сыворотки крови?

3. Рисунок 3 – Электрофореграмма белковых компонентов ВЛКРС, окрашенных азотнокислым серебром (стр. 55), содержит надписи над полосками визуализации результатов электрофореза (1, 2, 3 и M), а также надписи справа. Однако нет подрисовочных расшифровок к этим надписям. Что они означают? Аналогичное замечание и вопрос к рисунку 4.

4. В ходе исследования Вами получен антиген, показавший высокую антигенную активность. Что из себя представляет этот антиген с биохимической точки зрения? А также – является ли он очищенным, или же это смесь каких-то компонентов вируса?

5. Коммерчески доступные тест-системы на лейкоз направлены на выявление антител к таким антигенам, как gp51 и/или p24. Чем Вы объясняете целесообразность использования полученного Вами антигена из местных штаммов возбудителя лейкоза?

6. В разделе 3.2.5 Вы указываете, что при постановке дот-блот иммуноанализа, после внесения коньюгата, Вы наносили субстратную смесь (стр. 62). Какой именно субстрат Вы использовали?

7. В разделе 3.2.6 Вы приводите результаты ИФА и дот-блот анализа на туберкулез. Было бы более наглядно представить и результаты читки туберкулинизации. Проводился ли такой сравнительный анализ?

8. Разработанные и апробированные Вами дот-блот ИФА тест-системы просты в использовании, но они также являются многокомпонентными диагностическими наборами. Сколько компонентов входит в набор? Какие условия и сроки их хранения?

9. В каких случаях применение экспресс-тестов оправдано? В чем их преимущество над классическими серологическими методами, в частности, ИФА?

10. Вами в соавторстве получен патент на изобретение, копия которого имеется в приложении к диссертации. Однако в автореферате, в списке опубликованных работ, информация о патенте отсутствует. С чем это связано?

11. В диссертации встречаются стилистические и орфографические ошибки, но в целом не искажающие смысловой нагрузки и не оказывающие влияния на суть работы.

Приведенные вопросы и пожелания не снижают научную и практическую ценность диссертационной работы, которая написана литературно-профессиональным языком, аккуратно оформлена и удачно завершена по замыслам и результатам. Диссертация Д.А. Джакаит «Усовершенствование иммунохимических методов диагностики лейкоза и туберкулеза крупного рогатого скота» является законченным научным исследованием, содержащим ряд новых, существенных результатов по диагностике инфекционных заболеваний. Основные результаты работы вносят существенный вклад в усовершенствование мер борьбы с туберкулезом и лейкозом крупного рогатого скота. Результаты диссертации опубликованы в должной мере в научной печати. Автореферат в достаточной степени отражает содержание диссертации.

Диссертация соответствует пункту 1 «Природа и происхождение, структура, химический состав, морфологические, биологические, физико-химические свойства патогенных бактерий, вирусов и токсигенных грибов. Классификация возбудителей и вызываемых ими инфекционных болезней животных», пункту 4 «Инфекционный процесс. Природа патогенности, явления, процессы и механизмы взаимодействия микро- и макроорганизмов на всех уровнях (молекулярно-генетическом, клеточном, тканевом, организменном, популяционном) в условиях воздействия экзогенных и

эндогенных факторов», пункту 5 «Методы выделения микроорганизмов и вирусов из патологического материала, средства и методы диагностики инфекционных болезней животных, индикация патогенных микроорганизмов» и пункту 14 «Иммунология животных, противоинфекционный иммунитет, иммунопатология и иммунодефициты. Иммунологический анализ в эпизоотологии. Серология, серопротекция и серотерапия инфекционных болезней животных» паспорта специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

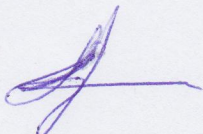
ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая актуальность исследуемой проблемы, научную новизну, теоретическую и практическую значимость полученных результатов диссертационного исследования, высокий уровень их внедрения в научно-исследовательскую деятельность и учебный процесс, убежден в том, что диссертация Джакаит Джулиет Акамуран по теме «Усовершенствование иммунохимических методов диагностики лейкоза и туберкулеза крупного рогатого скота» является самостоятельно выполненным и законченным научным трудом.

Диссертационное исследование представляет собой научно-квалификационную работу, где на основании проведенных автором научных исследований с многократной повторностью разработаны теоретические положения, имеющие в совокупности важное хозяйственное значение. Диссертационная работа соответствует критериям требований п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013г., предъявляемым к кандидатской диссертации, а сам соискатель Джакаит Джулиет Акамуран заслуживает присуждения ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная

микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с
микотоксинологией и иммунология.

Официальный оппонент
кандидат ветеринарных наук, доцент,
доцент кафедры прикладной экологии
Института экологии и природопользования
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский)
федеральный университет»



Шуралев Эдуард Аркадьевич

21 мая 2018 г.

Контактные данные:

420008, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18,
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего
образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет».
Тел.: 8(843)2315357
E-mail: eduard.shuralev@mail.ru

