

Заключение комиссии Диссертационного совета Д 208.046.01 при Федеральном бюджетном учреждении науки “Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им Г. Н. Габричевского” Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по кандидатской диссертации Вагановой Анастасии Николаевны на тему: “Разработка методики выявления генетических маркеров *Ureaplasma diversum* методом полимеразной цепной реакции в реальном времени” по специальностям 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 03.02.03 – микробиология

Научные руководители:

Фрейлихман Ольга Александровна – кандидат биологических наук (03.02.03 - микробиология), заведующая лабораторией молекулярно-биологических технологий Отдела новых технологий Федерального бюджетного учреждения науки “Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера” Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера).

Сусский Евгений Владимирович – доктор биологических наук (03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии)), директор Федерального казённого предприятия “Армавирская биологическая фабрика” (ФКП “Армавирская биофабрика”).

Диссертационная работа Вагановой Анастасии Николаевны соответствует специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) (биологические науки) и специальности 03.02.03 – микробиология (биологические науки).

Работа посвящена оптимизации методики ПЦР в реальном времени для обнаружения ДНК возбудителя заболеваний крупного рогатого скота *U. diversum* и апробации этой методики в производственных условиях. Разработанная методика также предполагает единовременное выявление ДНК *U. diversum* и ДНК крупного рогатого скота в исследуемом материале. Выявление ДНК крупного рогатого скота служит внутренним контролем исследования, что способствует повышению достоверности результатов за счёт исключения ложноотрицательных результатов, обусловленных деградацией ДНК в исследуемом материале. Новизна представленной разработки подтверждена решением о выдаче патента на изобретение “Способ выявления ДНК *Ureaplasma diversum* методом ПЦР в реальном времени в материале от взрослого крупного рогатого скота” (заявка № 2018120414 от 01.06.2018 г.).

Разработанная методика обладает аналитической чувствительностью до 1000 геномных эквивалентов *U. diversum* на 1 мл исследуемого препарата ДНК. На

основании предложенной методики была разработана тест-система "*Ureaplasma diversum*-Amp".

В ходе апробации разработанной методики оценена распространённость носительства *U. diversum* в респираторной и репродуктивной системах крупного рогатого скота, содержащегося в условиях животноводческих предприятий Ленинградской области. Показано, что носительство *U. diversum* в респираторном и репродуктивном тракте встречается среди обследованного поголовья взрослого крупного рогатого скота в 33% и 58% случаев соответственно. При этом выявлено, что частота носительства *U. diversum* среди нетелей, коров-первотёлок и коров после второго отёла значительно выше, чем среди коров старших групп (75%, 83% и 53% и 36% соответственно). Отмеченное неравномерное распределение частоты носительства в различных возрастных группах, вероятно, является следствием того, что заражение происходит в младшем возрасте, при этом развивается носительство с последующей элиминацией патогена, и, по-видимому, формированием устойчивости к повторному заражению.

Теоретической значимостью работы является то, что применение ПЦР в реальном времени для контроля за распространением *U. diversum* среди поголовья крупного рогатого скота и выявление случаев ассоциированных с ней заболеваний способствует сохранению репродуктивных качеств крупного рогатого скота и своевременному воспроизводству его поголовья.

Практическая значимость заключается в том, что на основании полученных результатов была создана тест-система "*Ureaplasma diversum* Amp", организовано её производство, и выпущены три серии наборов указанной тест-системы. Соответствие тест-системы "*Ureaplasma diversum* Amp" требованиям, предъявляемым к диагностическим препаратам (НД №13-5-2/1062 "Ветеринарные препараты. Показатели качества. Требования и нормы" (утв. Минсельхозпродом России 17.10.1997)) подтверждено декларацией соответствия, выданной ФГБУ "Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов" (регистрационный номер декларации: РОСС RU Д-РУ.С07.В.00018/18 / вРФ(ЕП).С07.00021/18). Данная тест-система пригодна для выявления *U. diversum* в клиническом материале из репродуктивной и респираторной системы разновозрастного крупного рогатого скота, а также в патологическом материале, в том числе в образцах ткани, зафиксированной в формалине. Показанное негативное влияние *U. diversum* на способность коров к оплодотворению позволяет рекомендовать разработанную методику для выявления случаев носительства *U. diversum* и назначения антибиотикотерапии животным при падении эффективности осеменения.

Материалы диссертации используются в образовательном процессе на кафедре биотехнологии биотехнологического факультета Лужского института (филиала) ГАОУ ВО ЛО "Ленинградский государственный университет им. А.С. Пушкина" в учебном процессе по дисциплинам «Основы биохимии и молекулярной

биологии», «Прикладная биотехнология» и «Основы животноводства» (Акт внедрения от 20.09.2018 г.).

Полученные при выполнении диссертационного исследования данные используются в работе ОАО «Партизан» при организации мероприятий по профилактике заболеваний телят. Проведённые мероприятия привели к повышению сохранности молодняка крупного рогатого скота до возраста 1,5 месяцев на 10% (Акт внедрения 19.04.2018 г.)

Работа выполнена с применением современных методов исследования, соответствующих поставленным задачам. Представленные результаты являются достоверными, поскольку был проведён достаточный объём исследований.

По объёму проведённых исследований, их новизне и научно-практической значимости диссертационная работа «Разработка методики выявления генетических маркеров *U. diversum* методом полимеразной цепной реакции в реальном времени» соответствует всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата биологических наук и рекомендуется к представлению в диссертационный совет для защиты по специальностям 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 03.02.03 - микробиология.

Комиссия не установила в диссертации и автореферате фактов некорректного заимствования материалов без ссылки на первоисточники. Анализ проверки с помощью системы «Антиплагиат» на сайте [www.antiplagiat.ru](http://www.antiplagiat.ru) показал, что оригинальный текст составляет 89,62%.

Материалы исследования и основные положения диссертационной работы были доложены и обсуждены на 4 российских и международных конференциях.

Диссертация не содержит недостоверных сведений об опубликованных соискателем учёной степени работах, в которых изложены основные результаты диссертации. Результаты диссертации отражены в 14 печатных работах, в том числе 3 статьи - в рецензируемых изданиях, 6 статей – в других изданиях и 5 тезисов — в материалах конференций.

Диссертация соответствует профилю диссертационного совета Д 208.046.01.

В качестве **ведущей организации** предлагается утвердить Федеральное Государственное Бюджетное Научное Учреждение «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности». Согласие ведущей организации имеется.

В качестве **официальных оппонентов** предлагаются:

Сухинин Александр Александрович – доктор биологических наук (03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии), профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии, первый проректор (проректор по учебно-воспитательной работе) Федерального государственного бюджетного

образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» (ФГБОУ ВО СПбГАВМ).

Раковская Ирина Валентиновна – доктор биологических наук (03.02.03 - микробиология), руководитель лаборатории микоплазм и Л-форм бактерий Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

#### **Заключение:**

Комиссия диссертационного совета Д 208.046.01 рекомендует диссертацию Вагановой Анастасии Николаевны на тему «Разработка методики выявления генетических маркеров *Ureaplasma diversum* методом полимеразной цепной реакции в реальном времени» по специальностям: 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 03.02.03 – микробиология к приёму к защите.

Заключение подготовили члены комиссии диссертационного совета Д 208.046.01:

#### **Председатель:**

Главный научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,  
доктор биологических наук

В.М. Лахтин

#### **Члены комиссии:**

Главный научный сотрудник, руководитель лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,  
доктор медицинских наук, доцент

О.Ю. Борисова

Главный научный сотрудник, руководитель отдела медицинской биотехнологии ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,  
доктор биологических наук

Е.А. Воропаева

Директор ОАО «Институт инженерной иммунологии», доктор медицинских наук,  
профессор

С.Ю. Пчелинцев