

«УТВЕРЖДАЮ»

Исполняющий обязанности директора Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского федерального научного центра агrobiотехнологий Российской академии наук, доктор биологических наук, профессор РАН, чл.-корр. РАО



_____ К.С. Голохваст

7 сентября 2021г.

О Т З Ы В

ведущей организации на диссертационную работу Новиковой Оксаны Борисовны «Разработка способов профилактики и усовершенствование методов диагностики бактериальных болезней птиц», представленную в диссертационный совет Д 220.059.03 при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» на соискание учёной степени доктора ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

1. Актуальность темы

Биологическая безопасность в современном промышленном птицеводстве является одним из ключевых факторов эффективности производства. Нарушение технологии кормления и содержания, ветеринарно-санитарных правил негативно сказывается на показателях продуктивности и эпизоотическом состоянии хозяйства. В последнее время отмечается значительное повышение резистентности бактериальной микрофлоры к антимикробным препаратам, прежде всего к антибиотикам. Однако практика борьбы с бактериальными болезнями птиц показывает, что антибиотики не способны обеспечить полную бактериологическую безопасность и имеют ряд негативных побочных последствий, в том числе и для человека. В связи с этим в ветеринарии актуальным становится поиск и изучение альтернативных путей профилактики и лечения бактериальных болезней с использованием новых высокоактивных экологически чистых

препаратов с целью снижения инфицированности патогенной и условно-патогенной микрофлорой.

Из вышесказанного, очевидно, что диссертационная работа Новиковой Оксаны Борисовны, посвящённая разработке и изучению средств для специфической и неспецифической профилактики болезней бактериальной этиологии в птицеводстве, является важной и актуальной.

2. Новизна исследований и полученных результатов

Диссертантом впервые подробно изучено биоразнообразие патогенных микроорганизмов, выделяемых от сельскохозяйственной птицы разных видов (кур яйценокских и бройлеров, индеек, перепелов, водоплавающих) и возрастов на птицефабриках различного технологического направления, выявлен удельный вес сальмонелл и клостридий в спектре выделенной микрофлоры. Для диагностики клостридиозов впервые разработаны метод двойной индикации с промежуточным накоплением для выделения *Clostridium perfringens* из патматериала и методика типирования клостридий в реакции нейтрализации с диагностическими сыворотками на модели развивающихся куриных эмбрионов. Разработан и использован на практике новый способ быстрого генотипирования бактериальных изолятов, выделенных от птиц разных видов, основанный на методе двойного расщепления и избирательного мечения фрагментов ДНК (ДРИМ).

Изучена и выявлена эффективность инновационных средств неспецифической защиты на основе органических кислот под торговыми марками КЛИМ и Сальмоцил для профилактики анаэробной энтеротоксемии птиц и в отношении основных возбудителей бактериальных болезней птиц. Для специфической профилактики созданы инактивированные вакцины: сорбированная против анаэробной энтеротоксемии птиц и эмульгированная против сальмонеллёза птиц «Сальмокрон, получившая награды на различных профильных выставках. Новизну исследований подтверждают патенты: патент на полезную модель Ru 173791 «Чашка Петри» и патент на штамм сальмонеллезного бактериофага Ru

2342429 С1 «Штамм бактериофага *Bacteriophagum Salmonella* IBP-1, обладающий лизирующей активностью по отношению к *S. Enteritidis*».

3. Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключений

Научные положения, выводы, практические предложения и заключения, представленные в диссертационной работе Новиковой О.Б., обоснованы достаточным количеством экспериментальных исследований, проведённых в соответствии с целью и задачами диссертации. Использованные методы специфичны, адекватны поставленным задачам и отвечают научно-методическим требованиям, результаты проанализированы, обобщены и оформлены в таблицы, графики, диаграммы. Структура и логика изложения соответствуют поставленным в диссертации задачам исследования. Выводы аргументированы, логически и объективно вытекают из проведённых экспериментальных исследований.

Положения диссертационной работы исходят из результатов, полученных автором, доложены на научно-практических конференциях разного уровня, опубликованы в научных статьях. Достоверность экспериментальных данных обеспечивается использованием современных средств и методик проведения исследований. Кроме этого, достоверность результатов исследований подтверждена справками о внедрении, представленных в приложении диссертации.

Обобщая изложенное, следует отметить, что автором выполнен очень большой объём работы, объединённой общей генеральной идеей, диссертация хорошо оформлена, материал изложен в логической последовательности, легко воспринимается.

4. Значимость для науки и производства полученных соискателем результатов

Результаты исследований Новиковой О.Б. обладают теоретической и практической значимостью для решения проблем профилактики и лечения бактериальных болезней в птицеводческих хозяйствах. Полученные диссертантом результаты научных исследований уже используются в птицеводческих Ле-

нинградской, Белгородской, Тюменской областей, Ставропольского и Краснодарского края.

Испытанные диссертантом средства на основе органических кислот и инактивированные вакцины для профилактического применения в птицеводстве имеют существенное практическое значение в борьбе с патогенными микроорганизмами, с их циркуляцией и носительством и способствует обеспечению бактериологической безопасности продукции птицеводства.

Научные результаты настоящей диссертации используются в учебном процессе на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии и кафедре эпизоотологии им. В.П.Урбана ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», а также при проведении курсов повышения квалификации для специалистов птицеводства.

5. Оценка содержания и оформления диссертации

Диссертационная работа Новиковой О.Б. по архитектонике составлена в соответствии с требованиями ВАК РФ, изложена на 433 странице компьютерного текста (Microsoft Word) и включает в себя введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение полученных результатов, заключение, выводы и практические предложения, список литературы и приложения. Работа иллюстрирована 55 рисунками, 33 таблицами. Список литературы включает 624 источника, в том числе 210 – иностранных авторов.

В разделе «Введение» диссертантом рассматриваются актуальность и целесообразность изучаемого вопроса, приводятся поставленные для решения цели задачи исследований, показана научная новизна и практическая ценность, апробация работы и основные положения, выносимые на защиту.

Раздел «Обзор литературы» содержит 6 глав и заключение, которые включают широкий подбор имеющихся литературных данных по теме исследования. В первой главе описана проблема бактериальных болезней в птицеводстве. Во второй главе автор диссертации собрал информацию о зоопатогенной и эпидемически опасной микрофлоре, выделяемой от птиц. В третьей главе представлена проблема сальмонеллёза в птицеводстве и эпидемиологическая

опасность продукции птицепереработки. В четвёртой главе, включающей 5 подглав, содержится подробная информация об анаэробной энтеротоксемии птиц. Пятая глава посвящена контролю бактериальных болезней в птицеводстве, специфической и неспецифической профилактике болезней птиц. В шестой главе диссертантом даётся характеристика современных методов диагностики болезней птиц бактериальной этиологии. Проведённый анализ обзора литературы позволил обосновать актуальность и необходимость исследований по теме диссертационной работы.

В «Собственных исследованиях» в разделе «Материалы и методы исследований», включающего 5 глав, соискатель приводит сведения об условиях и месте проведения исследований, подробно описывает методики культивирования и идентификации патогенных микроорганизмов, выделяемых от птиц, описывает условия проведения экспериментальных исследований на птице. Подробно в разделе представлены методы определения вирулентных свойств культур микроорганизмов и чувствительности к антибактериальным препаратам. Завершается раздел главой, в которой детально описано генотипирование методом ДРИМ.

Экспериментальная часть исследований проведена в 2005–2019 гг. на базе ВНИВИП, отдельные исследования проводили совместно с Санкт-Петербургским НИИЭМ им. Пастера и ВНИИГРЖ.

Раздел «Результаты исследований» состоит из 6 глав. В первой главе представлены результаты по изучению биоразнообразия патогенной микрофлоры, выделяемой от сельскохозяйственной птицы, проведённые более, чем в 100 птицеводствах по выращиванию разных видов птицы различных субъектов Российской Федерации, Беларуси, Казахстана, Таджикистана и Узбекистана. Отдельное внимание уделено патогенной микрофлоре, выделяемой при респираторном синдроме птиц и изучению чувствительности сальмонелл к антибактериальным препаратам разных групп.

Во второй главе «Усовершенствование и модификация методики выделения клостридий. Подбор штамма для создания препарата специфической про-

филактики – вакцины – против анаэробной энтеротоксемии птиц» дана подробная характеристика культуральных, тинкториальных, морфологических, биохимических, токсигенных, биологических и вирулентных свойств *Clostridium perfringens*, выделенных от птиц; рассказано об особенностях эпизоотологии анаэробной энтеротоксемии при смешанном течении с другими бактериальными болезнями, об изучении чувствительности клостридий к антибактериальным препаратам разных групп. Также в главе подробно описана работа по усовершенствованию и модификации методик выделения и типирования клостридий.

В третьей главе детально описаны исследования по разработке унифицированной методики генотипирования патогенных микроорганизмов, циркулирующих у птиц, методом двойного расщепления и избирательного мечения – ДРИМ.

В четвёртой главе содержатся данные по изучению эффективности кормовых добавок КЛИМ, КЛИМ Гидро, КЛИМ Термо в отношении клостридий в экспериментальных условиях и антибактериальной эффективности подкислителей Сальмоцил FL и Сальмоцил F в отношении основных возбудителей бактериальных болезней птиц.

В последних пятой и шестой главах представлены материалы по созданию и испытанию препаратов специфической профилактики анаэробной энтеротоксемии птиц – опытного образца вакцины инактивированной сорбированной и сальмонеллёза птиц – вакцины инактивированной эмульгированной. Обе вакцины прошли контроль на стерильность, безвредность и иммуногенную активность на птице. На обе вакцины имеется необходимая нормативная документация.

В разделе «Обсуждение результатов исследований» автор аргументировано интерпретирует результаты собственных исследований. В разделе «Заключение» диссертант приводит выводы и итоги проведенного исследования и предлагает практическое использование полученных научных результатов. Результаты работы обобщены в 7-ми основных выводах, которые сформулирова-

ны на основании полученных данных, аргументированы и убедительны, отражают суть исследований диссертанта.

6. Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати

По материалам исследований напечатано 100 работ, в которых отражены основные положения и выводы по теме диссертации, в том числе 25 научных статей – в обязательных периодических изданиях, входящих в перечень российских рецензируемых журналов, утвержденных ВАК Министерства образования и науки РФ, 2 – статьи в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования Web of Science и Scopus.

Также диссертантом по материалам настоящих исследований подготовлены и утверждены 2 методических положений, 2 монографии, 1 учебно-методическое пособие.

7. Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат изложен на 2 печатных листах и полностью соответствует основному содержанию диссертации. Выводы и практические предложения в автореферате и тексте диссертации идентичны.

8. Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы

Диссертантом Новиковой О.Б. лично написан обзор литературы, проведено диссертационное исследование, выполнена экспериментальная часть работы, самостоятельно сформулированы цель и задачи, обоснован выбор материалов и методов, проведен анализ и статистическая обработка экспериментальных данных, сформулированы основные выводы и перспективные предложения по материалам собственных исследований, разработаны методические положения. Результаты диссертационного исследования дополняют и углубляют существующие сведения об обеспечении благополучия по бактериальным болезням в птицеводческих хозяйствах.

Диссертационная работа написана и оформлена лично автором, опубликованные в статьях результаты подтверждают личный вклад автора в решение

поставленных научных задач в области ветеринарной микробиологии и эпизоотологии.

9. Конкретные рекомендации по использованию результатов диссертационной работы

Рекомендации, предложенные автором, имеют теоретическое и практическое значение для совершенствования системы контроля и профилактики бактериальных сельскохозяйственной птицы. Автором предложены усовершенствованные и новые методы диагностики болезней птиц, а также способы борьбы с инфицированностью в птицеводстве с помощью препаратов неспецифической профилактики (кормовых добавок и подкислителей на основе органических кислот), что является перспективной альтернативой антибиотикам. Внедрение в практику вакцины против анаэробной энтеротоксемии позволит профилактировать клостридиозы в птицеводстве, снижая экономические потери. Применение в птицеводствах вакцины «Сальмокрон» позволяет создать стабильное благополучие в отношении сальмонеллёза, что также обеспечивает охрану здоровья людей от этой инфекции.

Учитывая теоретическую значимость, результаты используются в учебном процессе в ветеринарном вузе, а также при составлении монографий, учебных и справочных пособий по ветеринарной микробиологии и эпизоотологии.

10. Замечания, вопросы и пожелания по диссертации

При общей положительной оценке диссертационной работы имеются некоторые замечания, и вопросы к диссертанту.

1. В каком диапазоне длин фрагментов ДНК микроорганизмов проводился анализ результатов ДРИМ? Возможно, было бы корректнее указывать не количество отличающихся, у разных штаммов бактерий, фрагментов ДНК а их удельную долю, ведь суммарное количество фрагментов может различаться у разных штаммов и видов бактерий?

2. Различалось ли генетическое разнообразие *E.coli* на птицефабриках бройлерного и яичного направления?

3. На странице 288 некорректно, на наш взгляд, отражена формула расчета экономической эффективности методом преимущества, следует умножить разницу стоимости одной дозы, на количество производимых доз, а не разницу стоимости тысячи доз. Но, расчеты выполнены верно.

4. Непонятна фраза про увеличение годового экономического эффекта при производстве отечественной противосальмонеллезной вакцины в 10-15 раз на странице 288. Стоимость импортного аналога вакцины ниже на 32,8%, хотя если оценивать эффект импортозамещения, как такового, то экономический эффект для отечественной экономики будет еще больше.

5. Чем, на Ваш взгляд, обусловлен разный уровень антигенной активности *Salmonella* (п.2.2.6.2 стр. 262-264), при тестировании в ИФА, - гетерологичностью антигенов изучаемых штаммов, относительно антигена тест-системы или собственно антигенной активностью этих штаммов?

6. Отличались ли, статистически значимо, результаты эксперимента с препаратом Клим гидро, от групп птицы получавших другие препараты в экспериментах на цыплятах по подавлению негативных эффектов при заражении *Cl.perfringens* и какие компоненты этого препарата могли обеспечить такой эффект?

Поставленные вопросы имеют дискуссионный характер, вышеперечисленные замечания не снижают научную и практическую ценность диссертационной работы в целом, и не влияют на положительную оценку диссертации.

11. Заключение

Диссертация Новиковой О.Б. «Разработка способов профилактики и усовершенствование методов диагностики бактериальных болезней птиц», представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой содержится решение задач, имеющих существенное значение для промышленного птицеводства, ветеринарной эпизоотологии и микробиологии. Работа выполнена на актуальную для ветеринарной медицины тему лично автором и опирается на достаточный для обобщения и выводов материал. По содержанию диссертация соответствует специальности 06.02.02 – ветеринарная микробио-

логия, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология, а также критериям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 824 (в редакции от 20.03.2021), предъявляемым к докторским диссертациям, а её автор Новикова Оксана Борисовна заслуживает присуждения учёной степени доктора ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Материалы диссертации, автореферата и настоящий отзыв рассмотрены и одобрены на межлабораторном совещании сотрудников Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СФНЦА РАН протокол № 3 от 10 сентября 2021 года.

Руководитель ИЭВСиДВ
СФНЦА РАН,
доктор ветеринарных наук,
член-корреспондент РАН

Донченко Николай Александрович

Зав. сектором молекулярной
биологии ИЭВСиДВ
СФНЦА РАН,
кандидат биологических наук

Афонюшкин Василий Николаевич

Подписи Донченко Н.А. и Афонюшкина В.Н. заверяю
учёный секретарь СФНЦА РАН,
кандидат экономических наук



Я.Ю. Зяблицева

630501, Новосибирская область, Новосибирский район, р.п. Краснообск,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский
федеральный научный центр агrobiотехнологий Российской академии наук
(СФНЦА РАН), Тел. (383) 3481440, 3484462, факс (383) 3484462,
e-mail: office@sfscs.ru; www.sfscs.ru.