

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
П.А.СТОЛЫПИНА»
(ФГБОУ ВО Омский ГАУ)

644008, г. Омск-8, ул. Институтская площадь, 1, тел. (3812) 65-11-46, факс 65-17-35



Утверждаю

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО Омский ГАУ

Новиков Ю.И.

«08» 11 2023 г.

ведущей организации

на диссертационную работу Моисеевой Марины Абдукахоровны на тему
«Алгоритм лабораторной диагностики диарей у крупного рогатого скота,
ассоциированных с токсинпродуцирующими штаммами *Clostridium perfringens*»,
представленную в диссертационный совет 35.2.034.01 при ФГБОУ ВО «Санкт-
Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» на
соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 4.2.3.
Инфекционные болезни и иммунология животных

Актуальность темы.

Клостридиозы – одна из самых распространенных групп инфекций во всем мире. К заражению особенно восприимчивы телята до шести месяцев и высокопродуктивные животные после первого и второго отелов. *Clostridium perfringens* — грамположительная, спорообразующая анаэробная бактерия, способная выделять более 30 различных токсинов, основные из которых (А, В, Е and I) обуславливают ее способность вызывать широкий спектр энтеропатогенных поражений. Размножаясь на слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта, клостридии вызывают некроз клеток эпителия, что способствует проникновению в кровь продуцируемых ими токсинов и развитию тяжелых патологических процессов в организме. В связи с быстротечностью инфекционного процесса, высокой токсигенной активностью возбудителей и

обширностью поражения органов и тканей организма лечение таких животных часто оказывается бесперспективным и высокопродуктивных особей приходится выбраковывать. Основным способом профилактики и контроля неонатальной диареи КРС является вакцинация. Для успешной профилактики и контроля вакцина должна производиться из штаммов, имеющих клиническое значение. Таким образом, идентификация токсинотипов и подтипов *Clostridium perfringens* имеет большое значение в диагностических исследованиях, а также для разработки и эффективного проведения профилактических мероприятий.

Все вышесказанное дает основание считать, что диссертационная работа Моисеевой Карины Абдукахоровны на тему: «Алгоритм лабораторной диагностики диарей у крупного рогатого скота, ассоциированных с токсинпродуцирующими штаммами *Clostridium perfringens*» является, несомненно, актуальной.

Новизна исследования и полученных результатов.

В рамках научной работы автором определен видовой состав микроорганизмов в патологическом материале от животных с диарейным синдромом методом секвенирования — в содержимом рубца преимущественно обнаруживали клостридии семейства *Ruminococcaceae*, вида *Clostridium viride* (содержание достигало 2,6% у коров на откорме и 2,1% у коров дойного стада); семейства *Lachnospiraceae*, вида *Clostridium aminophilum* (содержание достигало до 0,5% у коров на откорме и 0,03% у коров дойного стада). Обнаружено, что видовой состав микробиоты в период третьей лактации был выше, чем во вторую лактацию за счет патогенных и условно-патогенных бактерий: *Acinetobacter johnsonii* в 3,1 раза, *Clostridiaceae* в 1,4 раза, *Enterobacteriaceae* в 4,3 раза; были обнаружены представители семейств, отсутствовавшие во вторую (*Burkholderiaceae*, *Listeriaceae*, *Mycobacteriaceae*, *Pasteurellaceae*).

Моисеевой Кариной Абдукахоровной синтезированы и апробированы высокоспецифичные праймеры для детекции гена фосфолипазы С α -токсина *Clostridium perfringens* для ПЦР-РТ.

Автором проведены бактериологические, иммунологические и молекулярно-генетические исследования штаммов *Clostridium perfringens*, полученных от крупного рогатого скота Северо-Западного региона и впервые в Российской Федерации был разработан и научно обоснован алгоритм проведения клинико-лабораторной диагностики диарей, вызванных токсинпродуцирующими штаммами *Clostridium perfringens* у крупного рогатого

скота, заключающийся в пошаговой идентификации возбудителя.

Получен патент на полезную модель «Инструмент для взятия проб фекалий из прямой кишки животных» (RU 204004 U1 от 04.05.2021).

Теоретическая и практическая значимость работы.

Диссертационное исследование носит как фундаментальный, так и прикладной характер. Автором установлены биологические свойства изолятов *Clostridium perfringens*, выделенных из патологического материала крупного рогатого скота с диарейным синдромом в Северо-Западном регионе РФ. Описан характер роста *Clostridium perfringens* на среде системы AnaeroGen W-ZIP Compact.

Синтезированные и апробированные праймеры с модернизированным зондом гасителем флуоресценции для детекции гена фосфолипазы С СРА методом ПЦР в режиме реального времени позволяют быстро и достоверно обнаруживать *Clostridium perfringens* в исследуемом материале с воспроизводимостью реакции 99,9%. Экспресс-индикация энтеротоксина с помощью иммуноферментного анализа, позволяет дифференцировать токсинпродуцирующие штаммы *Clostridium perfringens* от не продуцирующих токсин штаммов.

На основании обобщения полученных данных Моисеевой Кариной Абдукахоровной разработаны методические рекомендации «Алгоритм проведения клинико-лабораторной диагностики диарей у крупного рогатого скота, ассоциированных с энтеротоксинпродуцирующими штаммами *Clostridium perfringens*» (утв. методическим советом ФГБОУ ВО СпбГУВМ, 2023 г).

Результаты исследований автора используются в работе Северо-Западной испытательной лаборатории ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных»; при проведении лекционных и лабораторно-практических занятий для студентов факультета ветеринарной медицины очной, заочной и очно-заочной форм обучения в курсе ветеринарной микробиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»; в производственном процессе при диагностике диарей крупного рогатого скота и планировании противоэпизоотических профилактических мероприятий ЗАО «Предпортовый», что подтверждается справками о внедрении в производственный и образовательный процесс результатов диссертационной работы.

Значимость результатов исследования для науки заключается в том, что

полученные автором данные расширяют сведения в области диагностики диарей у крупного рогатого скота, ассоциированных с энтеротоксинпродуцирующими микроорганизмами.

Разработанная Моисеевой Мариной Абдукахоровной стратегия диагностики является научной основой для применения индивидуального подхода к выбору терапии и к предотвращению развития осложнений, что способствует снижению затрат на лечение и приводит к положительной экономической эффективности.

Выводы и результаты, полученные диссертантом, обоснованы и достоверны, так как опираются на существующую современную теоретико-методологическую базу, а также результаты анализа обширного литературного и собственного материала.

Достоверность результатов обусловлена репрезентативным объёмом изученного материала и методически правильно подобранными этапами проведения изысканий, классическими и современными методами анализа полученных данных.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации.

Положения, вынесенные соискателем на защиту обоснованы, поскольку имеют практическое и теоретическое значение, что служит основой для рекомендаций по использованию их результатов.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации:

1. Внедрить в протоколы диагностических исследования ветеринарных лабораторий разработанный соискателем алгоритм пошаговой идентификации возбудителя при диагностике диарей, что позволит на 20,0% эффективнее относительно общепринятых методик выявлять токсинпродуцирующие штаммы *Clostridium perfringens* в исследуемом от животных материале.

2. Использовать разработанные соискателем высокоспецифичные праймеры кодирующие ген фосфолипазы С α -токсина в реакции ПЦР-РТ для обнаружения в материале ДНК *Clostridium perfringens* при диагностике диарии у сельскохозяйственных животных невыясненной этиологии.

3. Практикующим ветеринарным специалистам и работникам ветеринарных лабораторий рекомендовано проводить отбор проб содержимого прямой кишки крупного рогатого скота используя инструмент (патент на полезную модель (RU 204004 U1 от 04.05.2021) разработанный автором с учетом требований ГОСТ 26503-85 «Животные сельскохозяйственные. Методы

лабораторной диагностики клостридиозов» и методических указаний по отбору биологического материала для проведения лабораторных исследований.

4. Продолжить научные изыскания по разработке и изучению молекулярно-генетических методов диагностики токсинпродуцирующих штаммов *Clostridium perfringens* и бактерий кишечной группы для мультиплексной ПЦР, что позволит повысить экономическую эффективность диагностики, лечения и профилактики анаэробных инфекций.

Основные положения диссертации доложены, обсуждены и одобрены на X юбилейной Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны» (СПбГУВМ, Санкт-Петербург, 2021); на Всероссийской научно-практической конференции (Санкт-Петербург, 2023), на Международных научно-практических конференциях (Москва, 2022; Санкт-Петербург, 2023); на 24й ежегодной конференции Европейского общества репродукции домашних животных (ESDAR) (John Wiley & Sons, 2021); на XIV Международной научно-практической конференции «Current issues of modern science and practice», 2021; а также на III национальной премии «Серебряный Микроскоп» в рамках XXXI Московского Международного Ветеринарного конгресса (Москва, 2023).

Основные материалы диссертации изложены в 13 научных работах, в том числе в пяти научных статьях опубликованных в журналах из перечня рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, и одна статья в журнале, индексируемом в Международной реферативной наукометрической базе Scopus. В публикациях в полной мере отражены основные положения диссертации.

Учитывая вышеизложенное, следует сделать заключение, что научные данные, полученные Моисеевой Мариной Абдукахоровной достоверны и рекомендуются к использованию на современных предприятиях АПК по содержанию крупного рогатого скота, в работе ветеринарных специалистов, в учебном процессе для студентов, аспирантов, научных работников, а также на курсах повышения квалификации и при профессиональной переподготовке кадрового состава зоотехнического и ветеринарного профиля, в научно-испытательных лабораториях.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации.

Автореферат соответствует тексту диссертации и оформлен по требованиям ВАК РФ и ГОСТ Р 7.0.11-2011 «Диссертация и автореферат диссертации».

Структура и правила оформления», утвержденного приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии №811-ст от 13.12.2011 г.

Подчеркивая актуальность, новизну и значимость исследований, считаем необходимым высказать ряд вопросов и замечаний:

1. Что послужило причиной выбора для метогеномного анализа молозива от коров второй и третьей лактации, а не первой и второй и чем можно объяснить отличие микробиоты молозива коров дойного стада в период второй и третьей лактации?

2. С чем, по мнению автора, связано различие микробиомов рубца у коров дойного стада и на откорме, в частности различия по содержанию представителей семейства Lachnospiraceae (стр. 71)?

В качестве замечаний:

1. отсутствует заключение по обзору литературы (стр. 38);
2. на стр. 56 описан инструмент для взятия проб фекалий. Желательно указать размеры, а также глубину введения в прямую кишку животным;
3. в тексте научной работы присутствуют некорректные выражения «участок прямого кишечника коров» (стр. 42, 44); «белых мышей заражали эмульсией из пат. материала» (рис. 17; стр. 67);
4. на подписях к рисункам отсутствуют указания откуда был выделен возбудитель — *Clostridia perfringens* (рис. 9-16, 18, 19).

Высказанные вопросы и замечания не снижают ценность диссертации и могут быть учтены автором в дальнейшей научной работе.

Работа составлена логично, читается с интересом, её основные результаты опубликованы. Автореферат соответствует содержанию диссертации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Моисеевой Марины Абдукахоровны на тему «Алгоритм лабораторной диагностики диарей у крупного рогатого скота, ассоциированных с токсинпродуцирующими штаммами *Clostridium perfringens*», представленная на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук, является самостоятельной, законченной научно-квалификационной работой и соответствует паспорту специальности 4.2.3. - Инфекционные болезни и иммунология животных. Диссертация по актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов, по объему и уровню проведенных исследований соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14

«Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от №842 от 24 сентября 2013 г.), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных.

Отзыв на диссертацию Моисеевой Карины Абдукахоровны на тему «Алгоритм лабораторной диагностики диарей у крупного рогатого скота, ассоциированных с токсинпродуцирующими штаммами *Clostridium perfringens*», рассмотрен и утвержден на расширенном заседании кафедры ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней ФГБОУ ВО Омский ГАУ (протокол № 5 от 07.11.2023 года).

07.11.23 г.

Профессор кафедры ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней ФГБОУ ВО Омский ГАУ, профессор, доктор ветеринарных наук (16.00.03 Ветеринарная эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология; 16.00.02 Патология, онкология и морфология животных)

Плешакова Валентина Ивановна

Доцент кафедры ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней ФГБОУ ВО Омский ГАУ, доцент, кандидат ветеринарных наук (16.00.03 Ветеринарная эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология; 16.00.02 Патология, онкология и морфология животных)

Конев Алексей Владимирович

Зав. кафедрой ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней ФГБОУ ВО Омский ГАУ, доцент, кандидат ветеринарных наук (16.00.03 Ветеринарная эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология)

Лещёва Надежда Алексеевна

Подписи В.И. Плешаковой, А.В. Конева, Н.А. Лещёвой заверяю

Ученый секретарь учебного совета

ФГБОУ ВО Омский ГАУ



Н.А. Дмитриева

644008 г. Омск-8, 1 Институтская площадь, 1 Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина» (ФГБОУ ВО Омский ГАУ)

Тел. 8(3812) 25-05-19, e-mail: vi.pleshakova@omgau.org