



Министерство сельского хозяйства РФ
Департамент ветеринарии
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
“ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ, РАДИАЦИОННОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ
БЕЗОПАСНОСТИ” (ФГБНУ “ФЦТРЕ-ВНИВИ”)

420075, г. Казань, Научный городок-2, тел. (843) 239-53-20, 239-53-11 тел./факс: (843) 239-71-73,
239-71-33. e-mail: vnivi@mail.ru, <http://www.vnivi.ru>, ИНН – 1660022161, КПП – 166001001

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, Спиридонова Геннадия Николаевича 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 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных

Актуальность избранной темы. В настоящее время в крупных животноводческих комплексах Российской Федерации широкое распространение получили клостридиозы, вызываемые токсинпродуцирующими штаммами *Clostridium perfringens*. В связи с высокой патогенностью клостридий и способностью их длительное время сохранять жизнеспособность в окружающей среде, они представляют серьезную проблему для скотоводства. Для успешной борьбы с клостридиозами необходимо наличие высокоэффективных средств и методов диагностики и специфической профилактики. На сегодняшний день диагноз на инфекционную энтеротоксемию животных ставят на основании эпизоотологических, клинических, патологоанатомических данных и результатов лабораторных исследований. Бактериологический метод является качественным методом идентификации возбудителя, однако для типизации токсина необходимо обеспечение специальных условий: лабораторных животных, вивариев, и, самое главное, время. Для постановки диагноза требуется до 8 рабочих дней.

С учетом широкого распространения болезней крупного рогатого скота, ассоциированных с токсинпродуцирующими штаммами *Clostridium perfringens*, отсутствия оптимальной, пошаговой последовательности диагностики с учетом альтернативных методов, алгоритм диагностики диарей как основного

симптомокомплекса поражения желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота является актуальной задачей для ветеринарии. В свете вышеизложенного, диссертационная работа Моисеевой К.А., посвященная разработке и апробированию на территории Северо-Западного федерального округа алгоритма лабораторной диагностики диарей, ассоциированных с токсинпродуцирующими штаммами *Clostridium perfringens* крупного рогатого скота, является актуальной задачей для ветеринарной науки и практики. Для достижения поставленной цели диссертантом были поставлены и решены соответствующие.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Степень обоснованности диссертационных исследований следует из результатов анализа литературных и экспериментальных данных, полученных в ходе исследований. Автором изучены и критически проанализированы публикации отечественных и иностранных исследователей, касающиеся вопросов эпизоотологии, иммунологии, лабораторной диагностики клостридиозов и детекции генов *Clostridium perfringens* методом ПЦР. Основные научные положения, выводы и рекомендации по использованию научных выводов сформулированы исходя из результатов исследований 439 проб патологического материала от 225 гол. крупного рогатого скота из 10 хозяйств Ленинградской и 4 хозяйств Псковской областей с использованием бактериологических, биохимических, молекулярно-генетических методов исследования.

Моисеева К.А. провела большую, многоплановую и последовательную работу для достижения поставленных целей. Объем материалов и методов исследований достаточно для получения объективных и обоснованных результатов. Экспериментальный материал подвергнут статистической обработке.

Таким образом, анализ полученных результатов позволил автору высказать ряд положений, которые четко обоснованы и подтверждены данными собственных исследований, а сформулированные на их основе выводы и рекомендации полностью соответствуют представленным материалам.

Достоверность результатов и новизна исследований и полученных результатов. Достоверность диссертационного исследования Моисеевой К.А. гарантирована достаточностью материала, в том числе экспериментального, его адекватностью поставленным задачам. Научные положения и выводы, изложенные в диссертации, обоснованы и подтверждены фактическим материалом, что позволяет считать полученные результаты достоверными, сделанные выводы обоснованными и вытекающими из результатов проведенных исследований.

Моисеевой К.А. разработан и научно обоснован алгоритм проведения лабораторной диагностики диарей, вызванных токсинпродуцирующими штаммами *Clostridium perfringens* у крупного рогатого скота, заключающийся в пошаговой идентификации возбудителя. Результаты исследования соискателя послужили основой для методических рекомендаций «Алгоритм проведения клинико-лабораторной диагностики диарей у крупного рогатого скота, ассоциированных с

энтеротоксинпродуцирующими штаммами *Clostridium perfringens*» (утверждены Методическим советом ФГБОУ ВО СПбГУВМ 01 февраля 2023 года, протокол №1). Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс, производственный процесс при диагностике диарей крупного рогатого скота и планировании противоэпизоотических профилактических мероприятий, в работу Северо-Западной испытательной лаборатории ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», что подтверждено справками. По результатам научных исследований для оптимизации отбора проб был получен патент на полезную модель «Инструмент для взятия проб фекалий из прямой кишки животных» (RU 204004 U1 от 04.05.2021).

Значимость для науки и практики полученных соискателем результатов. Результаты диссертационной работы Моисеевой К.А. имеют существенное значение для науки и практики, поскольку они не только расширяют представления о современных возможностях идентификации токсинпродуцирующих штаммов *Clostridium perfringens*, но и позволяют оптимизировать диагностику возбудителя в биоматериале крупного рогатого скота альтернативными методами в целях своевременного и грамотного выбора тактики лечения и разработки схем профилактики.

Использование разработанного алгоритма диагностики диарей, вызванных токсинпродуцирующими штаммами *Clostridium perfringens* у крупного рогатого скота, в неблагополучных хозяйствах будет способствовать повышению эффективности проводимых диагностических и оздоровительных мероприятий, позволит значительно снизить экономические потери от этих инфекций.

Материалы, представленные в диссертационной работе, могут быть использованы также в научно-исследовательской работе и при написании монографий, справочных пособий, в учебном процессе.

Соответствие диссертации, автореферата и публикаций критериям «Положения о присуждения ученых степеней». Автореферат оформлен методически верно, содержит основные разделы диссертации и раскрывает ее научные положения. Выводы и практические предложения в автореферате и диссертации идентичны. Диссертация и автореферат соответствует критериям «Положения о присуждения ученых степеней».

Результаты и положения диссертационной работы Моисеевой Карины Абдукахоровны опубликованы в 13 научных работах, из них 5 работ в изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ, 7 публикаций в материалах научных и научно-практических конференций, 1 работа опубликована в журнале, индексируемом в международной базе данных Scopus, получен 1 патент РФ на полезную модель.

Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы. Диссертация является результатом исследования автора в период с 2020 по 2023 гг. Научное исследование выполнено соискателем ученой степени самостоятельно, в ходе которого проведен анализ научной литературы по теме диссертации, поставлена

цель и определены задачи, освоены современные и классические методики исследований с последующей статистической обработкой полученных результатов, сформулированы основные положения и выводы диссертации. Диссертантом предложена оптимизация отбора проб с применением инструмента для взятия проб фекалий из прямой кишки животных (Патент на полезную модель RU 204004 U1 от 04.05.2021), проведены исследования по изучению биологических свойств токсинпродуцирующих штаммов *Clostridium perfringens*, экспресс-индикация энтеротоксина *Clostridium perfringens* методом иммуноферментного анализа, разработаны и апробированы праймеры для детекции гена α -токсина *Clostridium perfringens*, апробирован и обоснован алгоритм диагностики диарей, ассоциированных с токсинпродуцирующими штаммами *Clostridium perfringens*. Опубликованные результаты исследований подтверждают значительный вклад диссертанта в решение поставленных задач.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность и замечания по оформлению. Диссертационная работа Моисеевой К.А. построена по традиционному плану и состоит из разделов: введение, обзор литературы, результаты собственных исследований, обсуждение результатов исследований, заключение, выводы, практические предложения, рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы, благодарности, список сокращений и условных обозначений, список литературы, приложения.

Диссертация изложена на 136 страницах компьютерного текста, содержание иллюстрировано 12 таблицами, 22 рисунками и 7 приложениями. Список литературы включает 216 источников, в том числе 119 иностранных авторов.

Во введении автором лаконично изложен методологический аппарат диссертационного исследования с обоснованием выбора темы и краткой информацией о её современном состоянии. На основе сформулированной проблемы отражены цель и задачи исследований; научная новизна; теоретическая и практическая значимость работы; методология и методы исследований; основные положения, выносимые на защиту; степень достоверности и апробация результатов; публикации; объем и структура диссертации.

В главе «Обзор литературы», состоящей из 6 разделов, соискателем проведен анализ биологических свойств и эпизоотологических сведений о штаммах *Clostridium perfringens*, антигенной структуры и факторов патогенности возбудителя, клинических признаков и патогенеза при энтеротоксемии крупного рогатого скота, методов лабораторной диагностики диарей, вызванных токсинпродуцирующими штаммами *Clostridium perfringens*, методов профилактики и лечения болезней, вызванных *Clostridium perfringens*.

Все упомянутые в тексте работы присутствуют в библиографическом списке.

В разделе «Материалы и методы исследования» автор приводит объем и схему комплексных поэтапных исследований. Методы и методология исследований адекватны поставленным целям и задачам, они соответствуют современному уровню. В работе применялись клиничко-эпизоотологические,

патологоанатомические, бактериологические, биохимические, молекулярно-генетические методы исследования, которые обеспечили получение научно-обоснованных и достоверных данных по изучаемым вопросам. Приводится описание основных методических приемов, использованных автором в ходе выполнения работы, включая методы статистической обработки данных. Раздел написан подробно и не вызывает возражений.

Результаты собственных исследований состоит из 7 разделов. Первый раздел посвящен разработке инструмента для взятия проб фекалий из прямой кишки животных. Инструмент позволяет отбирать пробу сразу необходимого объема и надежно изолировать до момента ее закладки в индивидуальный контейнер для сбора фекалий, чем достигается высокая точность последующей диагностики.

Во втором разделе приведены результаты исследований по идентификации выделенных изолятов *Clostridium perfringens* бактериологическим методом. Проводилось изучение культурально-морфологических, биохимических, вирулентных свойств *Clostridium perfringens* с применением селективных питательных сред и лабораторных животных.

В третьем разделе обобщены результаты исследований по идентификации выделенных изолятов *Clostridium perfringens* иммунологическим методом. Отработан метод иммуноферментного анализа для идентификации токсинпродуцирующих штаммов *Clostridium perfringens* от возбудителей, не экспрессирующих ген *CPE*.

В четвертом разделе представлены результаты детекции генов *Clostridium perfringens* методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Данные анализа микробиома содержимого рубца и молозива с помощью секвенирования нового поколения обобщены в пятом разделе результатов исследований.

Большой научный и практический интерес представляют также результаты исследований по разработке и апробации праймеров для детекции гена *CPE* в биологическом материале, приведенные в шестом разделе.

По результатам исследований разработан алгоритм диагностики диарей, ассоциированных с токсинпродуцирующими штаммами *Clostridium perfringen*.

В главе «Обсуждение результатов исследований» автор проанализировал полученные данные в результате собственных исследований, сопоставляя их с библиографическими данными, что позволяет представить работу как законченное исследование, посвященное актуальной цели и решению научных задач, поставленных соискателем.

В главе «Заключение» автор приводит четыре заключения, которые логично синхронизованы с результатами собственных исследований и не вызывают сомнения.

В главе «Практические предложения» представленные автором практические предложения являются перспективными и актуальными, отражая основные положения диссертационной работы.

В главе «Рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы» соискателем приведены актуальные и современные предложения по развитию инструментов для оптимизации лабораторной диагностики.

В главе «Список литературы» 216 источников приведены в соответствии с предъявляемыми требованиями.

Диссертация носит завершенный характер.

В целом диссертация Моисеевой К.А. полностью соответствует требованиям, предъявляемым к оформлению диссертации и представлению в ней оригинальных данных.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации.

Анализируя работу в целом, хотелось бы отметить грамотное изложение материала и качественное оформление работы. Представленные таблицы и рисунки наглядно иллюстрируют полученные Моисеевой К.А. результаты. Структура и содержание диссертационной работы соответствуют требованиям, предъявляемым ВАК к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

Принципиальных замечаний к работе нет. В процессе рецензирования, однако, возникли следующие вопросы:

1. Какова эпизоотическая ситуация на сегодня в Ленинградской области по клостридиозам крупного рогатого скота?
2. Проводилась ли серотипизация выделенных изолятов *Clostridium perfringens*, если проводилась, то какие серотипы наиболее распространены в Северо-Западном федеральном округе?
3. Чем обоснован выбор гасителя флуоресценции ВНQ1 среди всего многообразия гасителей?
4. В результате исследования микрофлоры молозива установлено, что микробиальный состав молозива коров во время второй лактации существенно отличался микробиоты молозива коров дойного стада во время третьей лактации. Разнообразие видового состава микробиоты молозива в период третьей лактации было выше, чем в период второй. Произошло существенное увеличение процентного содержания патогенных и условно-патогенных бактерий. Чем можно это объяснить?

Вышеуказанные вопросы не снижают положительной оценки оппонируемой диссертационной работы, поскольку они отчасти носят дискуссионный характер и вызваны интересом к этой работе.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней.

Диссертационная работа Моисеевой Марины Абдукахоровны на тему: «Алгоритм лабораторной диагностики диарей у крупного рогатого скота, ассоциированных с токсинпродуцирующими штаммами *Clostridium perfringens*», представленная в диссертационный совет 35.2.034.01 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» на

соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 4.2.3 Инфекционные болезни и иммунология животных, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важных теоретических и прикладных задач, связанных с разработкой усовершенствованных, новых методов диагностики клостридиозов крупного рогатого скота, имеющих существенное значение для ветеринарной науки и практики. Актуальность темы, новизна, научно-практическая значимость результатов, научных положений и практических предложений позволяют констатировать, что диссертация Моисеевой К.А. соответствует критериям, предъявляемым к работам на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней...», утвержденного постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г., а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 4.2.3 Инфекционные болезни и иммунология животных.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук по специальности 06.02.02 - Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология, заведующий лабораторией бактериальных патологий животных Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»

Спиридонов Геннадий Николаевич

420075, г. Казань, Научный городок-2. ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»
Тел.: (843) 239-53-37, e-mail: spiridonovkzn57@gmail.com

