Россельхознадзор

федеральное государственное бюджетное учреждение
«Федеральный центр охраны здоровья животных»
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

улица Гвардейская, дом 6, микрорайон Юрьевец, город Владимир, Владимирская область, Россия, 600901
тел.: (4922) 26-06-14, т./ф.: (4922) 26-38-77, e-mail: arriah@fsvps.gov.ru, сайт: www.arriah.ru
ОКПО: 00495527, ОГРН: 1023301283720, ИНН/КПП: 3327100048/332701001

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора ветеринарных наук, доцента Ирзы Виктора Николаевича на диссертационную работу Краскова Дмитрия Андреевича на тему: **«Изучение биологических свойств возбудителя и разработка способов диагностики геморрагического энтерита индеек»**, представленную к защите 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.

1. Актуальность темы диссертационной работы.

Промышленное производство индейки в России развивается бурными темпами и вносит существенный вклад в обеспечение продовольственной безопасности страны. Высокая концентрация поголовья на ограниченных площадях и малейшие технологические нарушения создают предпосылки для возникновения и быстрого распространения инфекционных заболеваний. Особую опасность представляют вирусные инфекции, в том числе геморрагический энтерит индеек (ГЭИ). Вирус геморрагического энтерита индеек (ВГЭИ) не только вызывает гибель птицы, но и индуцирует иммунодепрессию. Это приводит к развитию вторичных бактериальных инфекций, существенному снижению

производственных показателей и эффективности плановой вакцинации против других опасных заболеваний.

В настоящее время остаются малоизученными биологические свойства российских изолятов ВГЭИ, а для серологической диагностики применяются импортные тест-системы (ИФА). В этой связи разработка отечественных высокочувствительных, специфичных и доступных методов диагностики ГЭИ, а также глубокое изучение биологических свойств возбудителя, циркулирующего на территории РФ, являются крайне востребованными, а тема диссертационного исследования Д.А. Краскова представляется актуальной.

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

Диссертантом проведен обстоятельный анализ современной отечественной и зарубежной литературы, посвященной изучению вируса ГЭИ, эпизоотологическим особенностям болезни, патогенезу, клиническим признакам ГЭИ, а также методам диагностики и специфической профилактики геморрагического энтерита индеек. Научные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации логично вытекают из полученных результатов и соответствуют поставленным целям и задачам. Представленные выводы базируются на масштабных экспериментальных исследованиях *in vivo* и *in vitro* с использованием современных серологических, вирусологических и молекулярно-биологических методов, а также подтверждены статистической обработкой данных.

3. Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций.

Работа выполнена на кафедре эпизоотологии им. В.П. Урбана ФГБОУ ВО СПБГУВМ в период с 2023 по 2026гг. Результаты исследований статистически обработаны, их достоверность подтверждена комиссионными испытаниями.

Материалы исследований были представлены на нескольких международных научно-практических конференциях (Санкт-Петербург, СПбГУВМ, 2024-2026; Шэньси, КНР, 2024; Новосибирск, 2025).

Достоверность результатов исследований также подтверждается достаточным объемом экспериментального материала и апробацией разработанных методик на птицеводческих предприятиях.

Научная новизна исследований заключается в том, что автором впервые в Российской Федерации детально изучены биологические свойства возбудителя геморрагического энтерита индеек на основе отечественного штамма «DK-24». Впервые экспериментально определен период полураспада материнских антител к ВГЭИ у индюшат (2,5 дня).

Автором разработаны и успешно апробированы тест-системы для диагностики ГЭИ в реакциях диффузионной преципитации (РДП) и латекс-агглютинации. Кроме того, подобраны специфические праймеры и оптимизированы условия проведения ПЦР для детекции ДНК вируса геморрагического энтерита индеек.

4. Значимость для науки и практики проведенной соискателем работы.

Изучение биологических свойств ВГЭИ (в том числе динамики концентрации вируса в органах-мишенях) и изучение периода полураспада материнских антител создают основу для оптимизации сроков и схем вакцинопрофилактики в птицеводческих хозяйствах.

Созданные способы диагноститки (РДП, латекс-агглютинация и ПЦР) позволяют быстро и достоверно выявлять как сам вирус в патологическом материале, так и специфические антитела в сыворотке крови. Они являются отличной отечественной альтернативой импортным аналогам.

Результаты исследований внедрены в профильных диагностических лабораториях (включая ВДЛ ООО «ПензаМолИнвест» ГК «Дамате»), а также интегрированы в образовательный процесс ФГБОУ ВО СПБГУВМ при подготовке ветеринарных специалистов.

Работа выполнялась при поддержке гранта Российского научного фонда №24-26-20116 «Разработка отечественных серологических тест-систем для диагностики иммунодепрессивных болезней птиц».

Выделенный штамм вируса «DK-24» депонирован в коллекции ФГБНУ «ФЦТРБ – ВНИВИ» (Справка №110) и защищен патентом РФ на изобретение (RU №2853352). Кроме того, получены свидетельства о государственной регистрации двух баз данных (RU №2025622616 и RU №2026622485), описывающих разработанные способы диагностики.

5. Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом, замечания по оформлению диссертации.

Диссертация изложена на 123 страницах компьютерного текста, включает введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение полученных результатов, заключение, практические предложения, перспективы дальнейшей разработки темы и приложения. Текст содержит 7 таблиц и 31 рисунок. Список литературы охватывает 149 источников, в том числе 116 зарубежных авторов. Во «Введении» четко обоснована актуальность проблемы, сформулированы цель и задачи исследования, отражены научная новизна и практическая значимость, представлены основные положения, выносимые на защиту.

В разделе «Обзор литературы» раскрыты вопросы классификации и репликации вируса, эпизоотологии, клинической картины, патоморфологических изменений, а также существующих подходов к специфической профилактике и диагностике заболевания. Данный раздел желательно было бы дополнить заключением, подчеркивающим необходимость проведения собственных исследований по теме диссертации.

В разделе «Собственные исследования» автор исключил традиционный подраздел «Материалы и методы» и структурировал его непосредственно в главы раздела, где описаны материалы, методы, постановка экспериментов и их результаты. К сожалению, не приведены сведения об использованном оборудовании. Автором подробно изложен ход заражения индюшат кросса «БИГ-6» штаммом ВГЭИ «DK-24», изучена динамика патоморфологических изменений в клоакальной сумке, селезенке, кишечнике, печени и тимусе. Проведена работа по изучению периода полураспада материнских антител к ВГЭИ, что важно для расчета сроков вакцинации.

Подробно описаны этапы разработки способов серологической (РДП, реакция латекс-агглютинации) и молекулярно-биологической (ПЦР на базе гена Hexon) диагностики, а также процессы подбора праймеров, реакционной смеси и оптимизации условий амплификации.

В главе «Обсуждение результатов исследований» проведен сравнительный анализ собственных данных и результатов отечественных и зарубежных исследователей, даны обоснованные и логичные заключения.

Главы «Заключение» и «Практические предложения» резюмируют итоги проведенной работы. В приложениях представлены копии патента, актов о внедрении, справок о депонировании штамма и комиссионных лабораторных испытаниях.

Текст диссертация изложен последовательно и логично. Диссертация соответствует паспорту научной специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (пункты 4, 5, 7, 19).

6. Подтверждение опубликования результатов в научной печати.

Основные результаты исследований изложены в 13 научных работах, из которых 6 статей опубликованы в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ. Автором получен 1 патент на изобретение и 2 свидетельства о государственной регистрации баз данных.

7. Соответствие содержания автореферата материалам диссертации.

Автореферат диссертации Д.А. Краскова «Изучение биологических свойств возбудителя и разработка способов диагностики геморрагического энтерита индеек» адекватно отражает основное содержание диссертации.

8. Замечания, вопросы и предложения по диссертации.

При общей положительной оценке работы Д.А. Краскова имеются некоторые замечания и вопросы, на которые хотелось бы получить ответы и разъяснения:

1. В тексте диссертации и автореферата встречаются орфографические, стилистические погрешности и опечатки (несогласованность падежей, неоправданное повторение одних и тех же

терминов), которые, однако, не искажают научного смысла изложенного материала.

2. Во «Введении» автор ошибочно указывает, что ГЭИ входит в «список МЭБ» (ныне – ВОЗЖ), хотя это не преуменьшает экономической значимости заболевания.

3. Имеются неудачные выражения в литобзоре: «фибриновые нити» вместо фибера, «заражение инактивированным вирусом». В главе обзора, посвященной методам диагностики аденовирусов птиц, было бы целесообразно более подробно осветить современные данные зарубежных исследователей касательно генетической эволюции вируса геморрагического энтерита индеек и появления новых генетических линий.

4. В разделе 2.2.3 (стр. 74–76), описывающем разработку и оптимизацию условий проведения ПЦР для детекции генома ВГЭИ, автор указывает температуру отжига праймеров, но недостаточно раскрывает причину выбора именно гена Hexon в качестве целевой мишени. Проводился ли биоинформатический анализ консервативности данного участка у различных мировых изолятов вируса?

5. В главе 3 «Обсуждение результатов исследований» (стр. 102) автор приводит расчет кинетики снижения специфических материнских антител (период полураспада 2,5 дня). Приемлемы ли эти расчеты для других кроссов индеек, с учетом их различий в темпах роста и метаболизма?

6. Оценивалась ли в ходе работы степень генетического и антигенного родства выделенных полевых изолятов с другими серотипами аденовирусов, циркулирующих в промышленном птицеводстве, и возможна ли перекрестная реактивность при использовании разработанных вами методов диагностики?

7. Какие именно методы (ПЦР, ИФА и др.) из предложенного комплекса показали наибольшую специфичность и чувствительность на ранних стадиях болезни, до проявления клинической картины?

8. Каковы перспективы регистрации, серийного производства и массового внедрения в ветеринарные лаборатории птицеводческих хозяйств РФ разработанных диагностических наборов?

9. Вопрос по пп. 2.2.6.2.: Т.к. на латексных микрочастицах была адсорбирована очищенная глобулиновая фракция, полученная из сыворотки крови вакцинированных индеек, мы полагаем, что разработанный метод РЛА направлен на детекцию антигена. Что вы рекомендуете применять в качестве антиген-содержащего исследуемого материала (кровь, органы), и как их приготовить для постановки реакции?

10. Апробированы ли методы РДП и РЛА в производственных условиях, хотелось бы уточнить их специфичность и чувствительность, а так же их пригодность для массовых исследований?

11. Рисунок 1 (стр. 47) не информативен и представляется излишним, в тексте даны описания.

12. В главах 2.1.1.4 и 2.2.5 по изучению трансовариального иммунитета не указаны пороговые значения титра антител в ИФА, рекомендованные производителем набора.

В качестве предложения и пожелания: продолжить дальнейшие исследования проведением контрольного заражения высоковирулентным штаммом вируса ГЭИ и изучением иммунодепрессии по оценке иммунного ответа птиц на вакцинацию против ньюкаслской болезни.

Указанные замечания и вопросы не отражаются на общей положительной оценке работы, они связаны с интересом к данной проблеме и носят дискуссионный характер.

9. Заключение

Диссертационная работа Краскова Дмитрия Андреевича на тему «Изучение биологических свойств возбудителя и разработка способов диагностики

геморрагического энтерита индеек» является законченной научно-квалификационной работой, которая по актуальности, новизне и практической значимости отвечает требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановление Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. №335, от 20 марта 2021 года № 426), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Красков Дмитрий Андреевич, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 4.2.3 - Инфекционные болезни и иммунология животных.

Официальный оппонент:

Главный научный сотрудник Информационно-аналитического центра Управления ветнадзора, доктор ветеринарных наук,
доцент В.Н. Ирза

600901, Владимирская обл., г. Владимир, мкр. Юрьевец, ул. Гвардейская, д. 6, ФГБУ «ВНИИЗЖ»

тел. +7 910 774 01 99

e-mail: irza@arriah.ru; arriah@fsvps.gov.ru

Подпись Ирзы В.Н. заверяю:

Ученый секретарь,
кандидат биологических наук,
доцент Л.Б. Прохватилова

тел. +7 910 774 58 59

e-mail: prohvatilova@arriah.ru; arriah@fsvps.gov.ru

2 ноября 2026г.