ОТЗЫВ

официального оппонента кандидата ветеринарных наук, старшего научного сотрудника Луницина Андрея Владимировича на диссертационную работу Краскова Дмитрия Андреевича **«Изучение биологических свойств возбудителя и разработка способов диагностики геморрагического энтерита индеек»**, представленную на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по научной специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных

1 Актуальность темы диссертационной работы

Разведение индеек в промышленных масштабах - наиболее динамично развивающаяся отрасль отечественного птицеводства, однако расширение отрасли сопровождается повышением эпизоотических рисков из-за вирусных инфекций, способных поражать индеек. К ним относиться и геморрагический энтерит индеек (ГЭИ), занимающий одно из ведущих мест по экономическому влиянию на разведение восприимчивой птицы.

Отсутствие на рынке широкого спектра отечественных средств диагностики и полное отсутствие средств специфической профилактики ГЭИ, недостаточная изученность биологических свойств возбудителя в условиях РФ определяют актуальность диссертационной работы Краскова Дмитрия Андреевича. Работа посвящена изучению биологических свойств впервые выделенного на территории Российской Федерации и депонированного в установленном порядке возбудителя ГЭИ, а также разработке отечественных способов его диагностики.

2 Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформированных в диссертации

Диссертационная работа выполнена соискателем лично в период с 2023 по 2026 гг. на кафедре эпизоотологии им. В.П. Урбана и в научно-консультационном диагностическом центре по птицеводству ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной

медицины» Министерства сельского хозяйства РФ. Проведённые исследования были поддержаны грантом Российского научного фонда.

Диссертантом выполнен большой объём экспериментальной работы. Исследования проведены на 300 головах индеек кросса «БИГ-6» с использованием современных вирусологических, серологических, молекулярно-биологических, патоморфологических и статистических методов исследования.

Научные положения, сформулированные в диссертационной работе, выводы и практические предложения, вытекающие из результатов исследований, достаточно обоснованы и подтверждаются результатами собственных исследований автора.

3 Достоверность и новизна исследований

Научные положения и выводы обоснованы и базируются на аналитических и экспериментальных данных. Полученные результаты обладают несомненной научной новизной: впервые в России изучены биологические свойства возбудителя ГЭИ, выделен и депонирован штамм «DK-24», разработаны и апробированы три способа диагностики – реакция диффузионной преципитации (РДП), реакция латекс-агглютинации (РЛА) и классическая ПЦР. Зарегистрированы две базы данных.

4 Значимость для науки и практики проведенной соискателем работы

Особого внимания заслуживает комплексный подход к исследованиям: автор не ограничился разработкой диагностикумов, но и детально охарактеризовал патогенез инфекции, определил оптимальный возраст заражения (4 недели), установил пик концентрации вируса в органах-мишенях (5–6 день после заражения), изучил период полураспада материнских антител (2,5 суток). Эти данные имеют фундаментальное значение для понимания эпизоотологии и профилактики ГЭИ.

Практическая значимость подтверждена актами апробации в производственных условиях в ветеринарной диагностической лаборатории, в

отделе вирусологии ВНИВИП, а также при сравнении полученных результатов с данными исследований ИФА-набором АО «Вектор-Бест».

Результаты исследований внедрены в образовательную программу ФГБОУ ВО СПбГУВМ, доложены на восьми международных и национальных научных конференциях, включая первую международную конференцию «Один пояс, один путь».

5 Подтверждение опубликования результатов в научной печати

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

6 Соответствие содержания автореферата материалам диссертации.

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации, оформлен в соответствии с требованиями ВАК РФ и «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (от 24.09.2013 № 842).

7 Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом, замечания по оформлению диссертации, вопросы

Диссертационная работа изложена в традиционной форме и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, практических предложений, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений, списка использованной литературы и приложений.

Диссертация изложена на 123 страницах машинописного текста, иллюстрирована 7 таблицами и 31 рисунком. Список литературы включает 149 источников, в том числе 116 зарубежных авторов. По основным результатам диссертации опубликовано 13 научных работ, из них 6 работ в изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ, 3 публикации в материалах научных и научно-практических конференций, 2 работы в сборниках научных трудов и 2 работы в журналах,

входящих в РИНЦ. Получен 1 патент на изобретение и зарегистрированы 2 базы данных. Диссертация соответствует паспорту научной специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (пункты 4, 5, 7, 19).

В главе «Введение» соискатель обосновал актуальность темы исследования, сформулировал цель и пять задач исследований, изложил научную новизну, теоретическую и практическую значимость, методологию и методы, семь положений, выносимых на защиту, степень достоверности и апробацию результатов, личный вклад, публикации по теме диссертации, соответствие паспорту специальности и структуру работы.

В главе «Обзор литературы» диссертантом представлены сведения об истории возникновения, распространении в мире и экономическом ущербе от геморрагического энтерита индеек; биологических свойствах возбудителя; эпизоотологии, патогенезе и клинических признаках; патоморфологических изменениях; лабораторной и дифференциальной диагностике; общей и специфической профилактике и лечении. Обзор изложен грамотным литературным языком.

Глава «Собственные исследования» включает разделы «Материалы и методы исследований» и «Результаты собственных исследований». В разделе «Материалы и методы исследований» отражены схемы экспериментов по изучению концентрации вируса, макро- и микроскопических изменений, материнского иммунитета, а также методики получения компонентов для серологических реакций, разработки РДП и РЛА, подбора праймеров и постановки ПЦР, математическая и статистическая обработка результатов.

В разделе «Результаты собственных исследований» изложены результаты исследований в соответствии с целью работы и поставленными задачами. Автор описал макроскопические изменения при экспериментальном заражении, что подтверждено гистологическими исследованиями, которые иллюстрированы качественными микрофотографиями с обозначением структур.

Далее автор изложил результаты определения возрастной восприимчивости и динамики концентрации вируса в органах-мишенях по дням после заражения. В подразделе, посвящённом материнскому иммунитету, установлено среднесуточное снижение титров материнских антител, антитела сохраняются на диагностически значимом уровне не менее 14 суток.

В подразделе «Разработка серологических способов диагностики» представлены методики по получению антигена вируса ГЭИ из ткани селезёнки заражённых индеек и получения гипериммунной сыворотки, отработки условий постановки РДП, что подтверждено отсутствием перекрёстных реакций с гетерологичными антигенами и сыворотками. При разработки РЛА подобраны буфер для сенсибилизации, тип латексных микросфер, метод получения фракции и разведение иммуноглобулинов для адсорбции.

В подразделе, посвящённом ПЦР, автор на основе анализа нуклеотидных последовательностей более десяти вакцинных и патогенных штаммов выбрал наиболее консервативный участок гена Hexon длиной около 200 нуклеотидов, подобрал к нему праймеры, оптимизировал реакционную смесь, режим амплификации и условия электрофореза, подтвердил специфичность на положительных и отрицательных пробах и других представителях семейства Adenoviridae.

В главе «Обсуждение результатов исследований» автор обобщил результаты своих исследований, проанализировал их с данными зарубежных учёных, обосновав, что данная диссертация является первой полноценной работой в России по изучению циркулирующего в стране вируса ГЭИ и разработке способов его диагностики.

В «Заключении» автор представил выводы, вытекающие из достигнутых в ходе работы целей и отражающие результаты исследований, сформулировал практические предложения по использованию результатов диссертации ветеринарными специалистами индейководческих предприятий,

диагностических лабораторий и в учебном процессе. Предложил перспективы дальнейшей разработки темы: создание отечественных средств профилактики на основе штамма «DK-24», разработку средств диагностики на основе прямого ИФА, РИЭОФ, МФА и ПЦР в реальном времени. Автор завершил диссертацию благодарностью научному руководителю и коллегам и списком используемых сокращений. В приложениях представлены копии патента, свидетельств о регистрации баз данных, справки о депонировании штамма, акта апробации, справки о внедрении в учебный процесс, заключения экспертов РНФ и акта лабораторных испытаний.

При общей положительной оценке диссертации следует отметить отдельные замечания и пожелания:

1. Глава 1, подраздел 1.3.2, с. 21–23. Описание патогенеза носит преимущественно последовательный повествовательный характер. Желательно было представить обобщающую схему патогенеза с указанием входных ворот инфекции, места первичной репликации, уровень вирусемии.

2. Глава 1, подраздел 1.4, с. 24–26. Макроскопические и микроскопические изменения описаны достаточно подробно, однако не всегда показана их диагностическая специфичность или ценность. Следовало чётче разграничить характерные, типичные и действительно патогномоничные изменения.

3. Глава 1, подраздел 1.6.2, с. 29–33. При анализе средств специфической профилактики недостаточно полно отражены ограничения применения живых вакцин, связанные с наличием материнских антител, возрастом птицы и возможным иммуносупрессивным действием вакцинных штаммов.

4. Подраздел 2.1.2.3, с. 47–48. Не в полной мере раскрыты вопросы стабильности разработанного латексного диагностикума при хранении, воспроизводимости результатов между сериями и влияния условий хранения на диагностическую активность препарата.

5. Глава 3, с. 79–82. Следовало отдельно обсудить, насколько экспериментальная заражающая доза и способ введения вируса соответствуют естественному механизму инфицирования птицы в промышленном хозяйстве.

В тексте работы встречаются орфографические, грамматические и стилистические погрешности, а также опечатки в числительных и падежных окончаниях.

Вопросы:

1. Почему при получении специфической сыворотки для серологических реакций не использовали схему «вакцинация индеек живой/инактивированной вакциной с последующим контрольным заражением вирулентным вирусом»?

2. В заключении 2 сказано, что «оптимальный возраст заражения – 4-я неделя», но в самом эксперименте (таблица 1) группа, заражённая в 4 недели, показала титр 1:16, в 5 недель – 1:8, в 6 недель – 1:2, в 7 недель – отрицательно. Однако не указано, наблюдались ли клинические признаки и падёж в этих группах?

3. Как автор предлагает интегрировать разработанные методы в практическую схему диагностики геморрагического энтерита индеек?

Указанные замечания не носят принципиального характера, не снижают научной и практической ценности работы и могут быть учтены соискателем при дальнейшей публикации материалов.

8 Заключение

Диссертационная работа Краскова Дмитрия Андреевича «Изучение биологических свойств возбудителя и разработка способов диагностики геморрагического энтерита индеек» представляет собой завершённую, логически выстроенную научно-квалификационную работу, в которой выводы и результаты полностью соответствуют поставленной цели и задачам. Работа выполнена на высоком методическом уровне с применением современных вирусологических, серологических, патоморфологических и

молекулярно-биологических методов, содержит новые научные результаты и имеет существенное практическое значение для отечественного индейководства.

Автореферат и опубликованные работы полностью отражают содержание диссертации. Диссертация соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор, Красков Дмитрий Андреевич, заслуживает присуждения учёной степени кандидата ветеринарных наук по научной специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных.

Официальный оппонент:
заместитель директора по производству
и качеству ФГБНУ ФИЦВиМ,
кандидат ветеринарных наук Андрей Владимирович Луницин

29.10.2026г.

Подпись А.В. Луницина ЗАВЕРЯЮ:
ученый секретарь
ФГБНУ ФИЦВиМ,
кандидат биологических наук Е.А. Балашова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» (ФГБНУ ФИЦВИМ). 601125, Владимирская область, Петушинский район, посёлок Вольгинский, улица Академика Бакулова, строение 1. ФГБНУ ФИЦВИМ
Тел.: +7-905-573-59-56, E.-mail: lunicyn@mail.ru