

Отзыв

официального оппонента на диссертацию Карайченцева Даниила Викторовича «Совершенствование лабораторной диагностики инфекционного кератоконъюнктивита крупного рогатого скота», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Актуальность темы диссертации. Инфекционный кератоконъюнктивит крупного рогатого скота, вызываемый *Moraxella bovis*, имеет широкое распространение и наносит значительный экономический ущерб за счет выбраковки животных, потери племенной ценности, снижения удоев и прироста массы тела, затрат на проведение лечебных мероприятий. Эффективность проводимых / профилактических, оздоровительных и лечебных мероприятий во многом зависит от своевременной диагностики заболевания, в основе которой лежит изоляция чистой культуры возбудителя инфекции и его идентификация. Выделяемые из патологического материала от больных животных кокковые микроорганизмы, эшерихии, протей и другие бактерии, менее требовательные к питательным средам и условиям культивирования, чем *Moraxella bovis*, существенно усложняют диагностику болезни. Исходя из этого, большую актуальность представляет совершенствование лабораторной диагностики инфекции, направленное на разработку плотной селективной питательной среды, которая позволит повысить частоту обнаружения ее возбудителя в патологическом материале от больных животных и ускорить бактериологическую диагностику.

Научная новизна исследований. Диссертантом показано, что из патологического материала от больных животных неблагополучных по инфекционному кератоконъюнктивиту крупного рогатого скота хозяйств на традиционно используемой питательной среде (кровяной агар, агар Хоттингера) более 82% выделяется сопутствующая микрофлора (эшерихии,

сальмонеллы, золотистый стафилококк, грибы) и 17,3% *Moraxella bovis*, которые в значительной степени отличаются по чувствительности/устойчивости к антимикробным препаратам.

Выявленные у микроорганизмов различия по этому показателю послужили основой для разработки рецептуры плотной селективной питательной среды, которая существенно (в 2,82 раза) повышает результативность изоляции *Moraxella bovis* из патологического материала и выделения ее из смешанных культур бактерий.

Значимость для науки и практики выводов и рекомендаций диссертанта. Разработанная плотная селективная питательная среда обеспечивает своевременную диагностику заболевания, выявление больных животных, что позволяет предупреждать распространение инфекции и повышать эффективность оздоровительных мероприятий.

Полученные диссертантом результаты могут быть использованы для проведения дальнейшей научно-исследовательской работы, в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий по дисциплинам: эпизоотология и инфекционные болезни животных, ветеринарная микробиология на факультетах ветеринарной медицины ВУЗов.

Полученные диссертантом данные о чувствительности *Moraxella bovis* к антимикробным химиотерапевтическим препаратам могут использоваться при организации и проведении лечебных мероприятий в неблагополучных хозяйствах.

Результаты исследований нашли отражение в нормативном документе «Методические рекомендации по приготовлению и применению селективной питательной среды для изоляции из патологического материала культур *Moraxella bovis*– возбудителя инфекционного кератоконъюнктивита крупного рогатого скота и выделения его чистой культуры», которые одобрены секцией «Инфекционная патология животных» Отделения ветеринарной медицины РАСХН 15 июля 2014г (протокол №3).

Степень обоснованности достоверности полученных результатов.

Диссертация выполнена на высоком методическом уровне с использованием классических методов. Диссертация написана в традиционной форме на 129 страницах компьютерного текста и включает введение, обзор литературы, материал и методы исследований, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов, выводы, практические предложения, список литературы, приложения. Диссертация иллюстрирована 9 таблицами и 3 рисунками. Список литературы включает 142 источника, в том числе 90 зарубежных авторов. По материалам диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 3 - в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Все разделы написаны грамотно и отражают сущность выполненных исследований.

Во введении автор обосновывает актуальность, цель и задачи диссертации, раскрывает ее научную новизну, практическую значимость и формулирует основные положения, выносимые на защиту.

Анализ данных литературы, представленных в пяти разделах «Краткая характеристика инфекционного кератоконъюнктивита», «Питательные среды для изоляции культур *Moraxella bovis*», «Основные биологические свойства культур *Moraxella bovis*, отличающие их от морфологически сходной и сопутствующей микрофлоры», «Чувствительность культур *Moraxella bovis* и сопутствующей микрофлоры к антибактериальным и другим химиотерапевтическим препаратам», «Патогенные свойства культур *Moraxella bovis*», послужил теоретическим обоснованием для выполнения настоящей работы.

Раздел «Материал и методы исследований» дает полное представление о характере и количестве исследованного материала и методах, использованных в данной работе.

Переходя к анализу раздела «Результаты собственных исследований», следует отметить, что диссертант на основании данных бактериологических исследований патологического материала от больных инфекционным кератоконъюнктивитом животных с использованием кровяного агара Хоттингера, позволивших выделить чистую культуру возбудителя инфекции в 16,7-22,2% случаев, вполне обосновано делает заключение, что на указанной среде более интенсивно размножается менее требовательная к питательным веществам сопутствующая микрофлора, подавляющая рост и размножение *Moraxella bovis*.

Изучая чувствительность возбудителя инфекционного кератоконъюнктивита и сопутствующей микрофлоры (эшерихии, сальмонеллы, золотистый стафилококк и грибы *Aspergillus niger*) к 37 антибактериальным монопрепаратам и 6 сочетаниям из 2-3 средств, диссертант установил, что рост *Moraxella bovis* в наименьшей степени ингибирует спиктиномицин в сочетании с резорцином (МПК 56,4±5,5) мкг/мл, в то время как эшерихии, сальмонеллы и золотистый стафилококк оказались более чувствительными к указанному сочетанию 24,3±0,1; 14,1±4,2 и 15,1±4,5 мкг/мл соответственно, а *Aspergillus niger* к резорцину 14,2±1,9 мкг/мл.

Полученные результаты, а также данные по испытанию основы и различных компонентов питательной среды, стимулирующих рост и размножение моракселл, были использованы при конструировании плотной селективной питательной среды для их изоляции и очистки культур.

Проведенными исследованиями установлено, что ростовым потребностям *Moraxella bovis* в наибольшей степени удовлетворяет перевар Хоттингера с аминным азотом 220-230 мг% (основа среды) с добавлением по 10% (по объему) дефибрированной крови крупного рогатого скота и экстракта пекарских дрожжей, а для придания среде селективных свойств в отношении моракселл – спиктиномицина и резорцина до конечной концентрации 10 и 25 мкг/мл соответственно.

Использование разработанной плотной селективной среды для бактериологической диагностики инфекционного кератоконъюнктивита крупного рогатого скота (исследовано 583 пробы патологического материала от больных животных) значительно повысило (в 2,82 раза) частоту изоляции *Moraxella bovis* и снизило (в 1,53-1,67 раза) выделение сопутствующей микрофлоры.

Сравнительное изучение изолятов моракселл из патологического материала, выделенных на селективной плотной питательной среде и кровяном агаре Хоттингера, показало их идентичность по культуральным, морфологическим, тинкториальным и биохимическим свойствам, характерным для *Moraxella bovis*, описанным в литературе.

Выделенные на селективной среде культуры моракселл не отличались и по патогенным свойствам. При экспериментальном заражении телят (n= 36) гемолитическими культурами *Moraxella bovis* был воспроизведен инфекционный кератоконъюнктивит в 67,7% случаев с типичным симптомокомплексом, регистрируемым при естественном инфицировании животных. От всех заболевших телят были реизолированы культуры *Moraxella bovis*, идентичные используемым бактериям для заражения.

Патогенные свойства культур *Moraxella bovis*, выделенных на плотной питательной селективной среде из патологического материала от животных неблагополучных по заболеванию хозяйств, установлены и в эксперименте на белых беспородных мышах (n=63), летальность которых составила 84,6%.

В разделе «Обсуждение полученных результатов» диссертант анализирует полученные экспериментальные данные, умело использует их в качестве обобщения, сопоставляя с данными литературы.

В завершении работы диссертант приводит 7 выводов, которые логически вытекают из результатов собственных исследований. Выводы, практические предложения и результаты исследований научно обоснованы и достоверны. Они подтверждены значительными лабораторными

анализами, экспериментами, статистической обработкой цифрового материала, представленного в таблицах.

Диссертация оформлена в соответствии с существующими требованиями к кандидатским диссертациям. Полученные результаты соответствуют поставленной цели и задачам. Содержание автореферата и опубликованных работ соответствует содержанию диссертации. Тема диссертации соответствует заявленной научной специальности.

В целом рассматриваемая диссертация заслуживает положительной оценки. В то же время при анализе работы возник ряд вопросов и замечаний:

1. В обзоре литературы, к сожалению, не приведены работы учёных «Федерального центра токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (г. Казань), внёсших большой вклад в изучение рассматриваемой проблемы и, в частности, в разработку серологической диагностики болезни и её специфической профилактики.

2. На странице 41 указано, что пробы патологического материала помещали в пробирку с простым МПА, а на странице 66 – в пробирки с МПБ. Какую же питательную среду использовали при отборе исследуемого материала?

3. На страницах 12, 13, 16, 19, 21, 30, 35, 51, 53, 54 и др. имеют место опечатки, неправильное написание *Aspergilles niger*.

4. Исследования по диссертации выполнены в 2008-2011 годы. Почему её защита проводится в 2017 году?

Вопросы и замечания, возникшие при анализе диссертации, не снижают научной значимости, ценности проведённых исследований, её вклада в решение актуальных научных и практических задач и не могут отразиться на её общей положительной оценке.

Заключение

Диссертация Карайченцева Данилы Викторовича «Совершенствование лабораторной диагностики инфекционного кератоконъюнктивита

крупного рогатого скота» является завершённой научно-квалификационной работой. В ней представлены важные в научном и практическом отношении данные, на основании которых могут быть разработаны новые способы диагностики, терапии и профилактики.

По актуальности, методическому уровню, научной новизне, практической значимости, объёму исследований и полученным результатам диссертация полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор Карайченцев Данила Викторович заслуживает присуждения учёной степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Официальный оппонент,
доктор ветеринарных наук, профессор,
член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки Российской Федерации, главный научный сотрудник Государственного научного учреждения Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии (394087, г. Воронеж, ул. Ломоносова, д. 114Б, тел. 8-473-253-92-81,
E-mail: vnivipat@mail.ru)



Шахов Алексей Гаврилович

Подпись Шахова А.Г. заверяю:
учёный секретарь Государственного научного учреждения
Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный
институт патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии,
кандидат биологических наук, доцент



Ермакова Татьяна Игоревна

26.12.2016 г.