

ОТЗЫВ

официального оппонента Светоча Эдуарда Арсеньевича, доктора ветеринарных наук, профессора, на диссертационную работу Василевича Сергея Федоровича «Антимикробная активность пробиотика-энтеросорбента Сорболина и эффективность его применения в скотоводстве», представленную на защиту в диссертационный совет Д.006.033.02 на базе ФГБНУ ФНЦ Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской Академии наук (ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН), на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Актуальность темы

Крупный рогатый скот является одним из важнейших источников полноценного питания для населения многих стран мира, включая Российскую Федерацию. Начиная с 60-х годов прошлого столетия производство продукции крупного рогатого скота в мире постоянно растет, одновременно повышается и требование к ее качеству. В немалой степени этому росту способствовало использование на протяжении многих лет кормовых антибиотиков – стимуляторов роста. Одновременно в эти же годы антибиотики успешно применяли в лечении инфекционных болезней животных. Тем не менее, постепенно, наряду с успехами от применения антибиотиков в животноводстве, становились очевидными и отрицательные последствия их использования: повсеместно от животных стали выделять резистентные к антибиотикам патогены, что незамедлительно сказалось на эффективности антибиотикотерапии. Такая же ситуация с применением антибиотиков складывалась и в медицине. Более того, появились доказательства, что антибиотикорезистентные штаммы патогенных и непатогенных бактерий от животных и птицы могут передаваться людям и служить дополнительным источником генов резистентности для микробиоты человека. В настоящее время ситуация с антибиотикорезистентностью бактериальных патогенов настолько обострилась, что ВОЗ объявил проблему

борьбы с антибиотикорезистентностью одной из важнейших задач современного общества.

Учитывая реальные риски распространения резистентных бактерий от животных к человеку, применение кормовых антибиотиков-стимуляторов роста в 1986 г. было запрещено в Швеции, в 1998 г. – в Дании, в 2006 г. во всех странах ЕС. Сейчас они запрещены и в США. В условиях, когда эффективность антибиотикотерапии в ветеринарии и медицине постоянно снижается, а на рынке все реже и реже появляются новые антибиотики. возникла актуальная, не терпящая никаких отлагательств для решения проблема поиска альтернативных антибиотикам антимикробных средств, активных против бактериальных патогенов, включая антибиотикорезистентные. Одной из таких альтернатив антибиотикам, как показывают многочисленные исследования отечественных и зарубежных ученых, являются пробиотики – микробы-антагонисты, чаще всего представленные молочнокислой группой бактерий: лактобациллами, бифидобактериями и энтерококками. Однако в последние годы все большую популярность в ветеринарии приобретают пробиотические препараты на основе представителей рода *Bacillus*: *B.coagulans*, *B.cereus*, *B.clausii*, *B.subtilis*, *B.licheniformis*. Бациллы-пробионты, благодаря спорам, имеют уникальные свойства: они устойчивы к нагреванию, что делает их технологичными в производстве, они устойчивы к низким pH, что позволяет им легко достигать тонкий и толстый отделы кишечника и проявлять там свой пробиотический потенциал: продуцировать антимикробные субстанции и набор различных ферментов, позволяющих лучше усваивать корм.

В последние годы в нашей стране и за рубежом много внимания уделяется разработке нового поколения пробиотиков – комбинированных, создаваемых на основе бацилл-антагонистов и энтеросорбентов, представляющих собой различные природные минеральные соединения. Комбинированные пробиотики, как свидетельствуют научные исследования, оказываются эффективнее пробиотиков на основе только микробов-

антагонистов. В свете изложенного выше тема диссертационной работы Василевича С.Ф., посвященная разработке, испытанию безвредности, профилактической и лечебной эффективности нового комбинированного антимикробного препарата пробиотика-энтеросорбента Сорболина, безусловно, является весьма актуальной для науки и практики ветеринарной медицины. Результаты, изложенные в диссертации Василевича С.Ф., являются наглядным свидетельством плодотворности и перспективности данного научного направления в решении задачи поиска новых альтернативных антибиотикам средств борьбы с инфекционными заболеваниями сельскохозяйственных животных, столь актуального для нашего времени.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций

Научные теоретические и практические положения диссертационной работы Василевича С.Ф. базируются на современных достижениях ветеринарной и медицинской микробиологии, биотехнологической науки, а также на научных данных, полученных автором при изучении компонентов комбинированного препарата пробиотика-энтеросорбента Сорболина, обладающего антимикробной активностью. Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, представленных в диссертации, подтверждена результатами испытаний безопасности препарата Сорболина на лабораторных животных и его профилактической и лечебной эффективности при бактериальных диареях новорожденных телят, при сальмонеллезе, эймериозе и микотоксикозе крупного рогатого скота.

Выполненные Василевичем С.Ф. экспериментальные исследования по разработке и изучению пробиотика-энтеросорбента Сорболина, их критический анализ позволяют сделать заключение, что результаты работы, выводы и рекомендации, представленные в диссертации, обоснованы и логичны, изложены понятным научным языком. Обоснованность результатов

подтверждена хорошей и тщательной проработкой теоретических основ изучаемой проблемы, анализом собственных экспериментальных данных, их статистической обработкой и актами, представленными в приложении к диссертации, а также публикациями в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

**Достоверность и новизна научных положений,
выводов и рекомендаций, значение полученных результатов для
науки и практики**

Достоверность результатов, выводов и рекомендаций диссертации подтверждены экспериментальными данными, полученными с помощью современных методов микробиологии, на аттестованном оборудовании с высоким классом точности. Научные положения диссертации, выводы и рекомендации апробированы и одобрены обсуждением на научных конференциях и публикацией в специализированных журналах. Экспериментальные результаты диссертации статистически обработаны, проанализированы, сведены в таблицы и рисунки. Достоверность научных результатов диссертации подтверждены также разработанными с участием Василевича С.Ф. Методическими рекомендациями, утвержденными секцией зоотехнии и ветеринарии Отделения сельскохозяйственных наук РАН.

При выполнении диссертационной работы автором получены новые научные данные: показана совместимость и синергидное действие компонентов пробиотика-энтеросорбента Сорболина (бацилл, Хотимского трепела и лактозы), обеспечивающих антибактериальную, фунгицидную и антиэймериозную активность препарата; доказано, что пробиотик-энтеросорбент Сорболин не обладает острой и хронической токсичностью для животных; Сорболин стимулирует в кишечном тракте животных размножение лактобацилл и бифидобактерий; пробиотик-энтеросорбент адсорбирует и выводит из организма животных микотоксины; обеспечивает макроорганизм микро- и макроэлементами; установлена высокая

профилактическая и лечебная эффективность пробиотика-энтеросорбента Сорболина при желудочно-кишечных заболеваниях бактериальной природы у новорожденных телят, а также при сальмонеллезе, эймериозе и микотоксикозе крупного рогатого скота; усовершенствован метод определения живых бактерий в препарате Сорболин.

Испытанный диссертантом на большом количестве новорожденных телят и взрослом крупном рогатом скоте новый пробиотик-энтеросорбент оказался высоко эффективным профилактическим и лечебным препаратом при желудочно-кишечных инфекциях новорожденных телят, при сальмонеллезе, эймериозе и микотоксикозе, что подтверждено актами, утвержденными руководителями хозяйств Московской обл. (ООО «Правда» Истринского района), Тверской обл. (ОАО Агрофирма «Дмитрова гора» Конаковского района) и Краснодарского края (АО «Холдинговая компания-агрофирма «Россия» Тимашевского района). Полученные данные показывают, что препарат Сорболин сегодня может рассматриваться в качестве перспективного антимикробного средства, альтернативного антибиотикам, пригодного для профилактики и лечения ряда инфекционных болезней у крупного рогатого скота. Безусловно, что для окончательной оценки лечебного действия Сорболина, как нового антимикробного средства, необходимо будет дополнительно провести широкие производственные испытания препарата. Важно отметить также, что полученные Василевичем С.Ф. результаты вошли в научно-техническую документацию по производству Сорболина и применению его в животноводстве. Их используют также и в учебном процессе по дисциплинам «Ветеринарная микробиология и микология», «Биотехнология» и «Паразитология». Усовершенствованный метод определения количественного содержания бактерий в составе пробиотиков может быть рекомендован для применения в лабораторной микробиологической практике.

Оценка содержания диссертации

Диссертационная работа Василевича С.Ф. изложена на 164 страницах компьютерного текста и содержит следующие разделы: введение, аналитический обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследований, обсуждение полученных результатов, выводы, рекомендации по использованию научных результатов, список литературы, который 180 источников, в том числе 87 отечественных и 93 иностранных авторов. Работа содержит 34 таблицы, 27 рисунков и 13 страниц приложений.

Материал диссертации изложен последовательно, логично, аккуратно оформлен, содержит информативные графики и фотоиллюстрации.

В разделе «Введение» обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования. Определены основные направления реализации цели, показаны научная новизна, теоретическая и практическая значимость, степень достоверности и апробация результатов исследования, сформулированы положения, выносимые на защиту.

В разделе «Обзор литературы» дается анализ литературных данных, касающихся проблемы создания пробиотических кормовых добавок на основе бактерий-антагонистов рода *Bacillus* и энтеросорбентов, перспективы их использования в скотоводстве. На основании анализа литературы автор делает заключение, что в настоящее время ассортимент пробиотиков-энтеросорбентов на рынке в основном представлен дорогими импортными кормовыми добавками, применение которых экономически нецелесообразно. Поэтому есть острая необходимость создания препаратов пробиотиков-энтеросорбентов в России на основе отечественного сырья.

В разделе «Материалы и методы исследований» автором описаны методы исследований, источники сорбентов, бацилл и лактозы, оборудование, лабораторные и сельскохозяйственные животные, а также методы статистической обработки.

В разделе «Собственные исследования» представлены результаты изучения всех трех компонентов пробиотика-энтеросорбента Сорболина.

Дана характеристика физико-химических свойств сорбента – природного цеолита Хотимского месторождения (Республика Беларусь). Показано, что по ИК-спектру Хотимский трепел близок к смектину, широко используемому для лечения патологии пищеварительного тракта у детей. Хотимский трепел обладает значительной сорбционными свойствами: он способен сорбировать из водных растворов органические кислоты и красители, газы, силикагель. Хотимский трепел, кроме того, является источником физиологически доступного для животных железа. Судя по результатам испытаний Сорболина на животных, Хотимский трепел способен селективно адсорбировать в желудочно-кишечном тракте и продукты жизнедеятельности патогенных бактерий и грибов.

Автор диссертации изучил антагонистические свойства штаммов *B.subtilis* ВКПМ10172 и *B.licheniformis* ВКПМ10135. В опытах *in vitro* выявлена антагонистическая активность бацилл в отношении *E. coli*, *S.dublin*, *S.aureus*, патогенных грибов, а также эймерий (кокцидий). Пробиотические бациллы, как описывает автор, синтезируют 12 аминокислот, 11 протеаз, 8 антимикробных субстанций, витамины группы В, а также микро- и макроэлементы; показано, что бациллы-антагонисты устойчивы к ряду антибиотиков.

Значительная часть исследований выполнена Василевичем С.Ф. по разработке методов контроля качества Сорболина и совершенствованию метода определения количества живых бактерий рода *Bacillus* в пробиотике-энтеросорбенте Сорболин.

Особо следует отметить большой объем исследований, проведенный диссертантом, по оценке токсичности Сорболина, его лечебной и профилактической эффективности. Получены убедительные данные о безвредности Сорболина для лабораторных животных: белых мышей, белых крыс, морских свинок, кроликов и коз зааненской породы. Сорболин оказался высоко эффективен при профилактике и лечении диарей бактериальной этиологии у новорожденных телят, при сальмонеллезе,

эймериозе и микотоксикозе крупного рогатого скота. Такая универсальность профилактической и лечебной эффективности, по всей вероятности, объясняется удачной композицией Сорболина, которая и обеспечивает его антибактериальное, противогрибковое и антиэймериозное действие.

Полученные позитивные результаты по испытанию профилактической и лечебной эффективности Сорболина являются свидетельством реальной возможности создания пробиотиков нового поколения в нашей стране на основе отечественных компонентов. Такие комбинированные пробиотики могут позиционироваться как одна из альтернатив антибиотикам, хотя, конечно, необходимы дальнейшие, более глубокие, исследования лечебной эффективности этой группы пробиотиков.

Соответствие диссертации и автореферата критериям «Положения о порядке присуждения ученых степеней»

По актуальности, степени обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, их достоверности и новизне, диссертационная работа и автореферат диссертации Василевича С.Ф. «Антимикробная активность пробиотика-энтеросорбента Сорболина и эффективность его применения в скотоводстве», соответствуют критериям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г., № 842), предъявляемым к кандидатским диссертациям. Цели и задачи диссертационной работы, определенные Василевича С.Ф., решены методически верно, а полученные результаты и выводы научно обоснованы. Диссертация имеет важное научное и прикладное значение. Сделан весомый вклад в разработку и создание пробиотиков нового поколения на основе бацилл-антагонистов и энтеросорбентов, обладающих профилактической и лечебной эффективностью при инфекционных болезнях крупного рогатого скота.

Автореферат изложен на 24 страницах, его содержание в полной мере отражает содержание самой диссертации. Выводы в автореферате и диссертации идентичны.

Замечания, вопросы и пожелания по содержанию диссертационной работы

1. Основные положения работы, выносимые на защиту, на наш взгляд, сформулированы неудачно: они не раскрывают научной и практической сути, ценности достигнутых автором результатов. Защищать необходимо конкретный полученный продукт (результат), имеющий важное научное и практическое значение.

2. Автор диссертации при изучении антимикробной активности пробиотических штаммов *B.subtilis* ВКПМ10172 и *B.licheniformis* ВКПМ10135 использует только по одному индикаторному штамму разных видов бактерий и грибов, не приводя их характеристики, но называя патогенными или условно патогенными, почему? Для оценки любого нового антимикробного препарата используют панели охарактеризованных, как правило, клинических и референс-штаммов микроорганизмов. Наиболее же объективную информацию об антагонистической активности пробиотиков можно получить только при совместном их культивировании в жидкой среде с индикаторными штаммами.

3. Почему в экспериментах *in vitro* при определении антибактериальной, фунгицидной и антиэймериозной активности препарата Сорболин диссертант использовал только один контроль – физиологический раствор? Ведь для выяснения антимикробной активности каждого компонента Сорболина логично было поставить и другие контроли: бациллы + индикаторные штаммы; энтеросорбент + индикаторные штаммы; лактоза + индикаторные штаммы.

4. Целесообразно было при испытании лечебной и профилактической эффективности Сорболина помимо группы животных,

получавших (опытных) и не получавших (контрольных) этот препарат, ввести в опыт также группы животных, которые получали только суспензию бактерий антагонистов и только энтеросорбент. Это приблизило бы разгадку столь высокого универсального лечебного эффекта Сорболина.

5. Почему при описании положительного влияния Сорболина на физиологические и микробиологические показатели у леченых животных (гематологические, иммунологические показатели, содержание лактобацилл и бифидобактерий в кишечном содержимом животных) диссертант не приводит конкретных цифровых данных, а ограничивается лишь констатацией факта положительного влияния Сорболина на животных?

Указанные выше замечания и пожелания не влияют на общую положительную оценку проделанной Василевичем С.Ф. исследовательской работы, которая имеет важное научное и практическое значение для ветеринарной медицины.

Заключение

Диссертационная работа Василевича С.Ф. «Антимикробная активность пробиотика-энтеросорбента Сорболина и эффективность его применения в скотоводстве» является самостоятельной, завершенной работой, выполненной на современном методологическом уровне, в которой представлены экспериментальные данные по разработке и испытанию отечественного пробиотического препарата нового поколения, созданного на основе бацилл-антагонистов и энтеросорбента. Препарат эффективен при профилактике и лечении ряда инфекционных и паразитарных болезней крупного рогатого скота.

Диссертационная работа Василевича С.Ф. выполнена на актуальную тему, характеризуется научной новизной и практической значимостью полученных результатов для ветеринарной медицины.

Работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК РФ, утвержденного Постановлением

Правительства РФ от 24.09.2013 г., № 842 (в редакции Постановления
Правительства РФ от 21.04.2016 г. №355), предъявляемым к кандидатским
диссертациям, а ее автор Василевич Сергей Федорович заслуживает
присуждения ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология,
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Официальный оппонент:

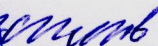
Заслуженный деятель науки Московской обл.,
доктор ветеринарных наук, профессор,
главный научный сотрудник отдела
молекулярной микробиологии ФБУН
«Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии»



Э.А.Светоч

142279, Московская обл.,
Серпуховский р-н, пос. Оболенск,
Тел.+7(4967)36-00-10
E-mail: info@obolensk.org

Подпись Э. А. Светоча удостоверяю
Зам. директора по научной работе
доктор медицинских наук
профессор,



А.П.Анисимов