

*В диссертационный совет Д 220.061.01 на базе
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Саратовский государственный аграрный
университет им. Н.И. Вавилова»*

ОТЗЫВ

*официального оппонента на диссертационную работу Акчурина
Сергея Владимировича «Диагностика функционального состояния
клеток желудочно-кишечного тракта цыплят при
экспериментальных клебсиеллезе, эшерихиозе, сальмонеллезе и
проведении антибиотикотерапии клебсиеллеза», представленную
в диссертационный совет Д 220.061.01 при федеральном
государственном бюджетном образовательном учреждении
высшего образования «Саратовский государственный аграрный
университет им. Н.И. Вавилова» на соискание ученой степени
доктора ветеринарных наук по специальности 06.02.01 –
диагностика болезней и терапия животных, патология,
онкология и морфология животных*

Актуальность избранной темы. Значение птицеводства для обеспеченности населения ценными в биологическом смысле продуктами питания трудно переоценить. В настоящее время серьезной проблемой промышленного птицеводства являются заболевания бактериальной этиологии, вызываемые ассоциациями патогенных и условно-патогенных бактерий. Бактериальные болезни инфекции приносят огромный экономический ущерб птицеводческим хозяйствам в связи с широким распространением, сложностью клинической и лабораторной диагностики, отсутствием средств специфической профилактики и терапии. Кроме того, возбудители этих заболеваний, а также вещества, применяемые для профилактики и лечения этих инфекций, могут передаваться через продукты питания и человеку, вызывая опасные пищевые токсикоинфекции и другие заболевания.

Научно-квалификационная работа, выполненная Сергеем Владимировичем Акчуриным, посвящена изучению патогенеза и патоморфологической диагностике энтеробактериозов, а также исследованию антибиотикотерапии клебсиеллеза. Необходимо отметить, что клебсиеллы в 2017 году ВОЗ причислила к наиболее опасным бактериям в связи с их резистентностью к существующим антибактериальным препаратам. Бактерии рода *Salmonella* являются одной из причин широко распространенных острых и хронических болезней домашней птицы. *E. coli* – оппортунистическая бактерия, которая играет существенную роль при развитии вторичных инфекционных процессов, которые приводят к выбраковке значительного числа тушек бройлеров. Такая ситуация связана с недостаточно научно обоснованными мерами профилактики и отсутствием

методов ранней диагностики инфекций.

В связи с этим диссертационная работа Акчурина Сергея Владимировича, в которой разрабатываются методы патоморфологической диагностики болезней цыплят, вызываемых энтеробактериями, решаются сложные вопросы антибиотикотерапии клебсиеллеза, представляет собой актуальное исследование.

В перспективе эту тему необходимо разрабатывать в направлении внедрения новых методов люминесцентного спектрального анализа клеток и тканей птицы, в том числе с возможностью прижизненного исследования. Необходимо определять маркеры функционального состояния гепатоцитов и эпителиоцитов при взаимодействии их с бактериями кишечной микрофлоры. Разрабатывать направление морфофункционального обоснования получения безопасной пищевой продукции, на фоне проведения лечебно-профилактических мероприятий, в том числе с использованием антибиотиков.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна. Сергей Владимирович Акчурин, с помощью современных и достаточно объективных методов на основе люминесцентного спектрального анализа с применением флуоресцентных красителей провел исследование клеток печени и желудочно-кишечного тракта птиц, провел количественную оценку содержания органических веществ в тканях в норме и при экспериментальных инфекциях, вызванных клебсиеллами, кишечной палочкой и сальмонеллами. Им была проведена морфологическая оценка эффективности антибиотикотерапии клебсиеллеза, разработаны критерии ранней диагностики альтерации эпителиоцитов железистого желудка при развитии энтеритов.

В итоге этого многолетнего и трудоемкого исследования соискатель научно обосновал преимущества применения предложенных им новых методов исследования в системе санации от энтеробактериозов. Проведены исследования достаточного для репрезентативной выборки количества птиц с помощью классических и современных методов в динамике и с повторностями. Полученные результаты исследований осмыслены, тщательно проанализированы и профессионально обсуждены с привлечением имеющихся современных и классических литературных данных из области патоморфологии, микробиологии, эпизоотологии и санитарии.

Обоснованность результатов, научных положений, выдвинутых соискателем на защиту в диссертационном совете, основывается на согласованности результатов проведенных исследований и сделанных научных выводов. Полученные данные были обработаны с помощью адекватных методов и приемов биометрического анализа. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Научные положения, заключение, сделанное по результатам исследования, корректны и соответствуют цели и задачам диссертационной работы, подтверждены

значительным количеством фактического материала.

Автореферат отражает основные положения диссертации и не вызывает принципиальных замечаний.

В целом, в представленной к защите диссертации, соблюдены все требуемые принципы соответствия разделов.

В работе представлены достаточно убедительные доказательства, что новые критерии оценки функционального состояния клеток печени и железистого желудка интактных цыплят и цыплят, экспериментально зараженных клебсиеллезом, эшерихиозом, сальмонеллезом и подвергавшихся антибиотикотерапии клебсиеллеза с помощью люминесцентный спектрального анализа клеток в гистологических срезах, позволяют оценить развитие инфекционного процесса и влияние антибиотиков на функциональное состояние клеток и тканей органов желудочно-кишечного тракта цыплят. Этот методологический подход может быть использован при совершенствовании методов лечения и профилактики кишечных инфекций птиц.

Значимость для науки и производства полученных соискателем результатов. Известно, что большинство описанных патологами изменений при изученных инфекциях взято из практики от спонтанно инфицированных особей. Поэтому не исключено, что патоморфологические картины могли сопровождаться изменениями, связанными с другими бактериальными и/или вирусными инфекциями. Оригинальность представленной работы в то, что мы имеем дело с «чистыми» инфекциями. Поэтому все перечисленные выше результаты и установленные закономерности значительно дополняют научную информацию о закономерностях развития экспериментальных инфекциях. Результаты исследований могут быть использованы дальнейшего совершенствования диагностических и лечебно-профилактических мероприятий при наиболее широко распространенных бактериальных болезнях птицы.

Полученные данные имеют значение для цитологии и гистопатологии болезней птиц, для понимания биохимических аспектов функционирования печени и железистого желудка интактных цыплят и цыплят, экспериментально зараженных клебсиеллезом, эшерихиозом, сальмонеллезом и подвергавшихся антибиотикотерапии, а также позволяют сформулировать новые концептуальные направления и перспективные задачи в области создания новых средств лечения и профилактики заболеваний птиц.

Представленный комплекс усовершенствованных способов и технологических решений, позволил использовать новые методы оценки функционального состояния клеток и тканей органов желудочно-кишечного тракта птиц при кишечных инфекциях (Пат. № 2469296) и при проведении антибиотикотерапии клебсиеллеза кур (Пат. № 2537165).

Особенность представлено исследования в том, что оно экспериментальное с количественной оценкой результатов, а значит, его можно повторить и продолжить дальнейшее объективное исследование в

этом направлении.

Материалы и некоторые результаты исследования используются и могут быть внедрены в учебный процесс и научно-исследовательскую работу в вузах при изучении инфекционных болезней птиц, а также в научно-исследовательских и научно-производственных центрах птицеводства.

Оценка содержания и оформления диссертации. Диссертация изложена на 348 страницах компьютерного текста, состоит из титульного листа и оглавления (6 стр.), введения (11 стр.), главы 1 – «Обзор литературы» (65 стр.), главы 2 – «Материал и методы» (12 стр.), главы 3 – «Результаты исследований и их анализ» (143 стр.), заключения (7 стр.), рекомендаций производству (2 стр.), перспектив дальнейшей разработки темы (2 стр.), списка литературы (61 стр.), списка иллюстративного материала (12 стр.) и приложений (27 стр.).

В списке литературы (61 стр.) перечисляются 578 источников, в том числе 430 иностранных. Работа иллюстрирована 87-ю рисунками и 24-ю таблицами. Девять приложений на 27-ми страницах содержит патенты, карты обратной связи, акт внедрения, титульные листы рекомендаций, рисунки, не вошедшие в раздел результатов собственных исследований.

Введение содержит сведения об актуальности темы диссертационной работы, а также установлена степень разработанности темы. Определена цель и поставлены задачи. Сформулированы научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Кратко представлена методология и методы исследования. Основные положения, выносимые на защиту, сформулированы кратко и чётко, в виде определения решенных проблем. Представлена информация о степени достоверности результатов исследований, апробации работы, публикациях, структуре и объеме диссертации. Они находят свое отражение в тексте и заключении диссертационной работы.

Обзор литературы содержит информацию российских и зарубежных исследователей о болезнях кур, вызываемых патогенными энтеробактериями, использовании антибиотиков в птицеводстве и альтернативных препаратов, позволяющих заменить их при выращивании птицы, о влиянии антибиотиков на органы пищеварения, маркерах, позволяющих оценивать морфофункциональное состояние органов пищеварения, описана методология люминесцентного спектрального анализа. К обзору литературы имеется краткое заключение.

Глава 2 «Материал и методы исследования» включает подробное описание когда и где выполнялась работа, дается характеристика использованных экспериментальных птиц, кормления и содержания их, объясняется как моделировали заболевания и как проводили спектральное исследование. Этот раздел свидетельствует о достаточном количестве использованного материала, адекватности выбранных методик для решения поставленных задач исследования. Написана глава на высоком научно-методическом уровне, в классическом для клинико-морфологических работ стиле.

Глава 3 «Результаты собственных исследований и их анализ» представлена в пяти подразделах. В разделе 3.1 соискатель теоретически обосновывает возможности разработки и применения новых методов обнаружения, определения количественного содержания органических веществ в гистологических срезах и оценки функционального состояния клеток органов желудочно-кишечного тракта цыплят на основе люминесцентного спектрального анализа с применением флуоресцентных красителей. В разделе 3.2 описываются новые методы люминесцентного спектрального анализа клеток для обнаружения, определения количественного содержания органических веществ в гистологических срезах и оценки функционального состояния клеток желудочно-кишечного тракта цыплят с применением флуоресцентных красителей. Раздел 3.3 даются сведения о функциональном состоянии клеток желудочно-кишечного тракта цыплят при экспериментальном заражении клебсиеллезом, эшерихиозом, сальмонеллёзом, полученные при экспериментальной апробации разработанных методов. Раздел 3.4 содержит сведения о функциональном состоянии клеток желудочно-кишечного тракта цыплят при проведении антибиотикотерапии клебсиеллеза, полученные при экспериментальной апробации разработанных методов. В раздел 3.5 автор проводит обсуждение полученных результатов. На пятнадцати страницах сравниваются известные из литературы факты, с результатами полученными лично соискателем. При этом Сергей Владимирович Акчурин показал свою эрудицию, глубокое знание литературы, проявил достаточную компетентность в обсуждаемых вопросах, дал убедительное обоснование выводам.

В главе «Заключение» автор подводит итог своей научно-квалификационной работы. Им предложено 7 выводов, которые сопоставимы с целью и задачами работы. Они сформулированы кратко, ясно, научно аргументированы и логически вытекают из содержания диссертации. Выводы соответствуют представленному фактическому материалу.

«Рекомендации производству» указывают на результаты, которые можно использовать в практике диагностики и профилактики изученных заболеваний птицы.

Список литературы оформлен хорошо, но единичные описания содержит ошибки, часть источников на английском языке не соответствуют теме исследования и их без ущерба можно было бы убрать. Мало оригинальной отечественной литературы, посвященной патоморфологическим изменениям при кишечных бактериозах птиц, что позволило бы подробнее оценить характер патологических процессов у птиц.

В приложениях отражены достижения соискателя и соавторов в изобретательской и внедренческой деятельности, приводятся копии патентов, карт обратной связи, акты внедрения в учебный процесс и научную деятельность вузов, титульные листы рекомендаций, рисунки.

Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати. По материалам диссертационной работы опубликовано

40 научных работ, в том числе 21 из них в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ, 3 в изданиях, входящих в базу данных Scopus, одна монография и одна рекомендация. Получено 2 патента РФ на способы, которые свидетельствуют о новизне научных достижений автора и их можно отнести к публикациям в рецензированных изданиях. Содержание опубликованных работ соответствует результатам собственных исследований и в них отражены основные положения диссертации.

Соответствие содержания автореферата содержанию диссертации. Автореферат, объемом 2 печ. л., достаточно полно отражает основные положения и содержание диссертации, представлен в традиционной форме, содержит общую характеристику работы и отражает все основные разделы собственных исследований. В конце имеется список работ опубликованных по теме диссертации.

Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы. Автором самостоятельно проведен анализ литературных источников по теме диссертации, выполнен основной объем исследований, обобщены, проанализированы и статистически обработаны количественные данные, представлены положения, выносимые на защиту, написан текст диссертации, составлен автореферат. Организация сложного и трудоемкого эксперимента, подбор птицы, моделирование заболеваний, лечение инфицированных птиц, вскрытие и взятие патологического материала, его фиксация, получение срезов и люминесцентное исследование срезов выполнялись лично автором.

Замечания и дискуссионные вопросы диссертанту. Оценивая диссертацию Акчурина С.В. в целом положительно, хотелось бы высказать следующие замечания, а на защите получить ответы на некоторые вопросы.

Замечания

Название диссертации, содержащее 16 слов, без ущерба для смысла можно сократить.

В обозначении научной специальности на титульных листах диссертации и автореферата пропущено слово «болезней».

Степень разработанности темы определена не достаточно конкретно.

Пятая задача сформулирована неудачно: «Получить новые данные о патогенезе кишечных инфекций ... ».

Положения, выносимые на защиту, рациональней определять в виде утвердительного повествовательного предложения об установленных научных фактах.

Нет списка сокращений. А вот «Список иллюстративного материала» объемом 12 страниц, можно было не представлять, т.к. под каждым рисунком имеется подпись.

Избыток англоязычных источников вызывает сомнение в том, что автор подробно изучал эти статьи, т.к. часть этих источников не соответствует теме исследования, и без ущерба их можно было бы убрать (169, 179, 189, 190, 212, 221, 222, 223, 226, 228, 237 и тп). Мало оригинальной отечественной литературы, посвященной патоморфологии кишечных бактериозов птиц, н.п. работ А.П. Стрельников, А.А. Ибрагимов и др.

Встречаются неудачные выражения: «для оценки здоровья желудочно-кишечного тракта ...» (стр. 4 автореферата); «функциональное состояние клеток печени и железистого желудка интактных цыплят, цыплят при патологическом состоянии...» (стр. 8 автореферата); «... транслокация шейных позвонков...» (стр. 10 автореферата); «Ультраструктурные изменения...» (выводы 5, 6 и 7); «методы ... коррекции патологических процессов в организме птиц, в желудочно-кишечном тракте» (стр. 37 автореферата); «балочная структура печени» (в печени имеются печеночные пластинки, которые у птиц на срезе имеют клубочковая структуру).

У одного раздела автореферата на стр. 27 два оглавления: «Сведения о функциональном состоянии клеток...» и «Клиническая картина ... зараженных эшерихиозом ...».

В приложении некоторые фотографии гистологических препаратов низкого качества и с артефактами.

Вопросы для дискуссии на защите

1. Почему для исследования выбраны печень и железистый желудок?
2. В чем особенность метода люминесцентного спектрального анализа? Что позволяет выявить? Концентрацию или количество органических веществ в клетке?
3. Что выявляли одноволновым методом с этидиумом бромида – ДНК, РНК, нуклеиновые кислоты или все же нуклеопротеиды?
4. В выводе 3.1.2 Вы утверждаете, что в клетках нуклеиновые кислоты преобладают над белками. Каких же органических веществ в клетках больше по данным литературы?
5. С чем связано существенное повышение коэффициентов соотношений нуклеиновых кислот и белков в клетках покровного эпителия слизистой оболочки железистого желудка цыплят опытных групп (4-й и 5-й) на 15, 21 и 27 сутки (таблицы 7 и 8).
6. Какая функция клеток у интактных цыплят увеличивается на 229,9% за период 1-30 сутки?
7. Вы диагностировали острое катаральное воспаление мышечного желудка при клебсиеллезе и при эшерихиозе. Опишите морфологические признаки этого патологического процесса.
8. Какая форма миокардита диагностируется при клебсиеллезе?
9. Что диагностировали при сальмонеллезе в почках? Зернистую дистрофию почек, нефроз или гломерулонефрит?
10. Какие критерии выздоровления цыплят использовали, если по Вашим данным «В стадии исхода болезни, характеризовавшейся выздоровлением цыплят, наблюдали сглаженную картину патологоанатомических признаков с сохранением признаков катарального воспаления железистого и мышечного желудков, тонкого и толстого кишечника, зернистой дистрофией печени и почек, гиперплазией селезенки, миокардита» (автореферат стр. 27-28).
11. Действие антибиотиков на бактериальные клетки изучены довольно хорошо, а какое действие антибиотики оказывают на эпителиальные или

паренхиматозные клетки?

12. В каких случаях использовали t-критерий Стьюдента, а в каких о достоверности судили по «величине p-value в варианте двухвыборочного непарного t-теста (two-sample unpaired t-test) с неравными дисперсиями» (стр. 94 диссертации)?

Заключение

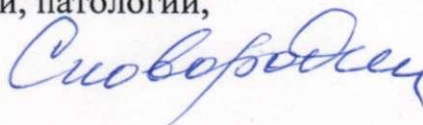
На основании вышеизложенного считаю, что диссертационная работа Сергея Владимировича Акчурина на тему «Диагностика функционального состояния клеток желудочно-кишечного тракта цыплят при экспериментальных клебсиеллезе, эшерихиозе, сальмонеллезе и проведении антибиотикотерапии клебсиеллеза» является самостоятельно выполненной, законченной в пределах поставленной цели научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена научная проблема, имеющая важное хозяйственное значение для развития птицеводства.

По актуальности, объему проведенных исследований, методическому подходу, научной и практической значимости полученных результатов, рецензируемая работа соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям, изложенным в пунктах 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, а её автор Сергей Владимирович Акчурин достоин присуждения ученой степени доктора ветеринарных наук по специальности 06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных

Официальный оппонент:

Сковородин Евгений Николаевич

доктор ветеринарных наук (специальность 06.02.01),
профессор, зав. кафедрой морфологии, патологии,
фармации и незаразных болезней
ФГБОУ ВО Башкирского ГАУ



06 апреля 2021 года

Адрес: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный аграрный университет», 450001, г. Уфа, ул. 50-летия Октября, д. 34

сайт университета: www.bsau.ru, тел. университета: (347) 228-91-77

E-mail официального оппонента: skovorodinen@mail.ru

тел. официального оппонента: раб. (347)228-28-77; сот. +7 905 180 19 01

