

УТВЕРЖДАЮ:

Директор Прикаспийского зонального
НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД»,
доктор ветеринарных наук, профессор
С.Ш. Кабардиев

« » 2018 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Прикаспийского зонального научно-исследовательского ветеринарного института – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации на диссертационную работу Димовой Алеси Сергеевны «Теоретическое, экспериментальное и практическое обоснование технологичности использования различных методов и средств контроля эпизоотического процесса бруцеллеза», представленную к публичной защите в диссертационный совет Д 220.062.02 при ФГББОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук по специальности 06.02.02 - ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

1. Актуальность темы

Ретроспективный анализ мирового и отечественного опыта борьбы с бруцеллезом животных свидетельствует о том, что тотальная замена всего скомпрометированного на почве бруцеллеза поголовья в сочетании с проведением комплекса необходимых для разрыва эпизоотической цепи мер противоэпизоотически эффективна, но часто неприемлема в экономическом отношении. Специальные противобруцеллезные мероприятия, основанные только на диагностике, даже самой комплексной, нацеленной на максимальное выявление бруцеллоносителей, не обеспечивает надежного оздоровления стад (отар) от бруцеллеза.

Использование в системе мер борьбы с бруцеллезом, наряду с общими ветеринарно-санитарными и ограничительными мероприятиями, диагностики и вакцинопрофилактики, в значительной мере повышает противоэпизоотический эффект. Однако, важно, чтобы противобруцеллезные

вакцины и схемы их применения, как утверждал профессор Косилов И.А. (1985), были технологичными, то есть способными обеспечить не только высокий уровень иммунитета, но и беспрепятственную диагностику в целях выявления бруцеллоносителей в максимально возможные ранние сроки после вакцинации.

Общепризнано, что в системах специфической профилактики бруцеллеза разных видов животных наиболее эффективны живые вакцины. Инагглютиногенные живые вакцины широкого применения в нашей стране не нашли из-за низкой иммуногенности. Слабоагглютиногенные живые вакцины оказались эффективными на крупном рогатом скоте при определенных условиях, в частности при формировании гуртов однородных в половозрастном, эпизоотическом и иммунном отношениях и планомерном вытеснении на этой основе всего неблагополучного по бруцеллезу поголовья. Живые агглютиногенные вакцины в регламентированных дозах при подкожном применении нашли применение лишь для однократной иммунизации молодых животных. Однако, использование их для дальнейшей реиммунизации, с целью поддержания перманентного иммунитета, создает проблемы, связанные с длительной серопозитивностью, препятствующей объективной поствакцинальной диагностике. Убитые противобруцеллезные вакцины различных типов известны давно, но оптимального варианта, пригодного для их широкого применения в ветеринарной практике, так и не было найдено по причинам их низкой иммуногенности или высокого уровня антигенности и/или реактогенности.

Поствакцинальная диагностика бруцеллеза также требует оценки по принципу технологичности, так как должна своевременно и максимально выявить больных животных, используя при этом провоцирующие свойства вакцин, а также быть достаточно простой, быстрой и объективной, и вместе с тем обеспечивать дифференциацию поствакцинальных реакций от постинфекционных.

В научной литературе применительно к противоэпизоотическим мероприятиям существует такое адекватное научно-методическое понятие, как контроль эпизоотического процесса, предполагающий управление и динамическое слежение за его развитием. В современных условиях в ряде регионов страны уровень управляемости эпизоотическим процессом бруцеллеза резко снизился из-за начавшейся еще в 90-ые годы реструктуризации животноводства. Стихийное формирование и переформирование хозяйств без учета их эпизоотического состояния по бруцеллезу, а также создание многочисленных мелких хозяйств, где в одних и тех же стадах содержатся вместе все половозрастные группы животных, привели к расширению угрожаемых и неблагополучных зон и практической невозможности планомерного вытеснения скомпрометированного поголовья. В такой ситуации ранее разработанные специальные противобруцеллезные мероприятия оказались недостаточными и стали терять свою технологичность или стали вообще нетехнологичными.

В этой связи, поставленная Димовой А.С. цель исследований по теоретическому, экспериментальному и практическому обоснованию технологичности использования различных методов и средств контроля эпизоотического процесса бруцеллеза является, несомненно, актуальной.

2. Новизна исследований и полученных результатов

В диссертационной работе соискателем комплексно рассмотрена проблема технологичности использования различных методов и средств контроля эпизоотического процесса бруцеллеза. Прежде всего, теоретически и практически обоснована необходимость обязательного использования в контроле эпизоотического процесса бруцеллеза вакцин на основе принципа технологичности схем их применения.

Направление поиска убитых адьювант-вакцин из S- и SR-штаммов бруцелл признано неперспективным с позиций технологичности.

Соискателем доказано, что в современных условиях при бруцеллезе крупного рогатого скота целесообразно использовать живые вакцины из слабоагглютиногенных штаммов *B. abortus* 82 и 75/79-AB, совершенствуя схемы иммунизации и используя дифференциальную поствакцинальную диагностику с учетом особенностей ведения скотоводства. При этом установлено особо важное значение формирования относительно однородных стад в возрастном, эпизоотическом и иммунном отношении. В мелких хозяйствах, где формирование однородных стад становится невозможным, эти схемы вакцинации и поствакцинальной диагностики, по результатам исследований автора, становятся нетехнологичными.

Соискателем разработан диагностический комплекс, способный объективно оценивать эпизоотический статус по бруцеллезу стад крупного рогатого скота, иммунизированного живыми вакцинами из слабоагглютиногенных штаммов *B. abortus* 82 и 75/79-AB. При дифференциации серологических реакций вакцинного и инфекционного происхождения впервые выявлены существенные преимущества использования R-антигена, изготовленного из природной R-формы бруцелл – *B. ovis*, перед R-антигеном, изготовленным из R-формы *B. abortus* (получен патент).

В результате проведенных экспериментов и производственных опытов автором показана технологичность схемы специфической профилактики на основе конъюнктивальной иммунизации животных уменьшенной дозы вакцины из агглютиногенного штамма *B. abortus* 19, так как при этом обеспечивается беспрепятственная ранняя поствакцинальная диагностика бруцеллеза (РИД, РА и РСК), и вместе с тем создается иммунитет на уровне агглютиногенных и слабоагглютиногенных вакцин, возникающего при их подкожном применении.

Большой теоретический интерес представляют также экспериментальные данные, полученные на лабораторных животных, доказывающие возможность эффективного купирования бруцеллезной

инфекции за счет сочетанного применения антибиотика Нитокс-200 и конъюнктивальной иммунизации вакциной из штамма 19 в уменьшенной дозе (получен патент).

Особенно следует отметить, что Димовой А.С. получены новые научные данные по оптимизации диагностики бруцеллеза животных. В частности, ею доказаны противоэпизоотическая эффективность и дифференцирующие возможности применения А- и М- О-ПС антигенов по рациональной схеме, их способность оценивать степень эпизоотической и эпидемической опасности по бруцеллезу стад и отар.

Важное научное и практическое значение имеет предложенная автором новая тест-система ИФА, позволяющая осуществить массовую скрининговую экспресс-диагностику бруцеллеза как у невакцинированных, так и у вакцинированных животных (в регламентированные сроки после иммунизации различными вакцинами по разным схемам). Следует отметить, что ею впервые получены результаты, доказывающие перспективы использования в качестве экспресс-метода дифференциальной диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота ИФА с О-ПС антигеном по специально разработанной методике (получен патент). Доказана эффективность новых схем получения дифференцирующих видовых сывороток anti-melitensis и anti-abortus (получены патенты).

3. Степень обоснованности и достоверности научных положений, заключений, выводов, практических рекомендаций

Достоверность научных положений, заключений, выводов и практических предложений, сделанных автором, обусловлена большим объемом исследований и подкрепленных фактическим материалом. Для этого соискателем проведены:

- анализ материалов ветеринарных лабораторий и отчетных данных госветучреждений разных регионов о результатах применения различных противобруцеллезных вакцин на поголовье более 60 тыс. животных;

- собственные комплексные серологические исследования сывороток крови от животных различных половозрастных групп - более 30 тыс. проб;

-эксперименты и производственные опыты на поголовье более 12 тыс. голов крупного рогатого скота и 12 тыс. овец, 200 морских свинок и 18 кроликов.

Автором адекватно обоснованы методы, цель и задачи исследований, схемы производственного испытания; полученные результаты подвергнуты статистической обработке. Материалы исследований опубликованы в рецензируемых источниках и апробированы на специализированных научных конференциях.

4. Значимость для науки и практики полученных соискателем результатов

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы заключается прежде всего в доказанной соискателем необходимости соблюдать принцип технологичности специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных, основанной на обеспечении беспрепятственного выявления бруцеллоносителей в максимально возможные ранние сроки после вакцинации при обязательности обеспечения в неблагополучных и угрожаемых стадах и отарах длительного перманентного иммунитета.

На основании данных полученных в экспериментах и производственных опытах, объективно доказана эффективность новых технологичных схем использования различных средств и методов контроля эпизоотического процесса бруцеллеза.

На большом фактическом материале разработана концепция оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных в современных условиях их содержания. Широкое использование указанной концепции в ветеринарной практике открывает возможности ускорить сроки оздоровления неблагополучных стад (отар) и своевременно предотвратить возможные новые вспышки болезни.

Результаты собственных исследований диссертанта использованы при разработке 13 нормативно-технических и научно-методических материалов, из которых 2 - рекомендованы для широкого практического использования на Всероссийском уровне, 2 – на уровне Республики Казахстан; 9 – научно-методические рекомендации, положения и пособия.

5. Оценка содержания и оформления диссертации

Диссертация изложена на 315 стр. компьютерного текста и включает: введение (13 стр.), обзор литературы (36 стр.), материалы и методы (13 стр.), результаты собственных исследований (121 стр.), заключение (21 стр.), 13 выводов, 13 практических предложений и перспективы дальнейшей разработки, список использованной литературы (446 источников, из которых – 58 иностранных), приложения.

Работа оформлена в соответствии с требованиями ВАКа, иллюстрирована 18 таблицами и 26 рисунками, отражающими основное содержание работы. Текст диссертации легко воспринимается.

Глава 1 «*Обзор литературы*» включает в себя три раздела (каждый из которых имеет по два подраздела) и заключение. В первом его разделе соискатель доступно освещает теоретические основы контроля эпизоотического процесса, достаточно информативно отразив современные представления об эпизоотическом процессе и управлении им. Во втором разделе соискатель останавливается на принципиальных характеристиках эпизоотического процесса бруцеллеза и дает ретроспективную оценку эффективности различных методов его контроля. Третий раздел соискатель посвящает ретроспективному анализу проблем технологичности использования различных средств и схем специфической профилактики и диагностики в системах контроля эпизоотического процесса бруцеллеза. В результате обобщения научных литературных данных в заключении по обзору литературы актуальными признаются исследования, направленные на оценку технологичности имеющихся и поиск новых более технологичных

методов и средств контроля эпизоотического процесса бруцеллеза и разработку на этой основе современной концепции оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных.

В главе 2 в разделе *«Материалы и методы»* отражены места проведения, объекты, объемы и методы исследований, позволившие реализовать цель и поставленные задачи и получить новые ценные научные данные, имеющие большое практическое значение.

Результаты исследований обобщены в 4-х разделах.

В разделе 2.2.1. на основе изложенных в нем материалов представлены два варианта концептуальной модели контроля эпизоотического процесса бруцеллеза. Убедительно доказано, что в популяциях животных при использовании одного только первого варианта, основанного лишь на диагностике и удалении из стад серопозитивного поголовья (без вакцинации), рецидивы бруцеллезной инфекции исключить нельзя, даже на фоне отрицательного реагирования животных всего стада. Только при втором варианте, основанном на перманентном иммунитете, создаваемом вакцинами в сочетании с поствакцинальной диагностикой по рациональным схемам удастся практически исключить рецидивы бруцеллеза.

В разделе 2.2.2. приведены убедительные доказательства технологичности схем специфической профилактики на основе живых слабоагглютиногенных вакцин из штаммов *B. abortus* 82 и 75/79-AB и дифференциальной диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота в крупных хозяйствах при условии соблюдения принципа разделения половозрастных групп и формирования однородных в возрастном, эпизоотическом и иммунном отношении маточных гуртов. В мелких хозяйствах, где допускается совместное содержание животных разных половозрастных групп, а поступление новых животных недостаточно контролируется, отмечается резкое снижение уровня их технологичности. В

этой связи становится очевидной необходимость новых, технологичных схем вакцинации и последующих поствакцинальных исследований.

В разделе 2.2.3. в 7 подразделах отражены результаты изучения эффективности новых методов и средств специфической профилактики и диагностики бруцеллеза животных с позиций их технологичности.

По результатам экспериментальной оценки, все изученные варианты адъювант-вакцин оказались нетехнологичными, прежде всего по причине их выраженной агглютиногенности или низкой иммуногенности.

Доказана перспективность новой схемы, предусматривавшей конъюнктивальное введение животным живой вакцины из штамма *B. abortus* 19 в дозе в дозе 1/10 от подкожной. Наряду с этим установлено также, что конъюнктивальная иммунизация вакциной из штамма 19 экспериментальных животных, искусственно зараженных бруцеллезом, на фоне предварительного введения антибактериального препарата обеспечивает полную элиминацию вирулентных бруцелл уже через месяц.

В качестве индикаторов, определяющих степень эпизоотической опасности отдельных животных, а также отар и стад в целом и дифференциации серологических реакций вакцинного и инфекционного происхождения, по результатам исследований соискателя, целесообразно использовать РИД с О-ПС антигенами из бруцелл видов *B. melitensis* и *abortus*.

Кроме того, на большом фактическом материале автором подтверждено, что используемый при изготовлении официального овисного антигена природный штамм *B. ovis* (R-форма) является идеально приемлемым и при изготовлении антигена для дифференциальной диагностики бруцеллеза у крупного рогатого скота, привитого вакцинами из диссоциированных штаммов бруцелл.

В этом же разделе приведены результаты комплексного изучения эффективности ИФА с новой скрининговой тест-системой при бруцеллезе КРС и МРС, в т.ч. в условиях иммунизации животных живыми

противобруцеллезными вакцинами, показывающие перспективы его широкого внедрения в ветеринарную практику. Получены данные, обосновывающие возможность вместо официально принятой в дифференциальной диагностике РИД с О-ПС антигеном, на постановку и учет которой уходит до 48 часов, применять иммуноферментный анализ с этим же антигеном по специально разработанной методике с учетом реакций через 2 часа.

Доказаны перспективы практического использования новых схем получения бруцеллезных моноспецифических сывороток anti-abortionus и anti-melitensis для дифференциации видов бруцелл.

В разделе 2.2.4. приведены результаты разработки концепции оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных в современных условиях по пути повышения уровня их технологичности и ее практической апробации с ведущей ролью в ней конъюнктивной иммунизации животных вакциной из штамма 19.

В главе 3 «**Заключение**» Димова А.С., на основании собственных исследований, подводит итог своей научной квалификационной работы, сопоставляя полученные результаты с литературными данными. В соответствии с поставленными целями и задачами и полученными результатами ею сделаны 13 выводов, которые достаточно аргументированы и соответствуют фактическим материалам проведенных исследований. Выводы и практические предложения актуальны и конкретно отражают основные положения диссертационной работы.

6. Подтверждение публикаций основных результатов диссертации в научной печати

По материалам диссертации опубликованы 65 научных работ, в которых изложены основные положения выполненной работы. Из них 24 изданы в периодических изданиях, входящих в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов, утвержденных ВАК Министерства образования и науки России и рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени

(«Ветеринария», «Достижения науки и техники АПК», «Ветеринария и кормление», «Сибирский вестник сельскохозяйственной науки»). Материалы диссертации вошли в 5 патентов, 10 методических рекомендаций, положений и пособий.

7. Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат изложен на 2,1 печатных листах и полностью соответствует содержанию диссертации. Выводы и практические предложения в обоих документах идентичны.

8. Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы

Диссертационная работа выполнена Димовой А.С. лично. Самостоятельно проанализировано современное состояние проблемы, сформулированы цель и задачи исследований, обоснованы необходимые для их реализации объекты, объемы, материалы и методы. Сформулированы основные положения и выводы. Диссертация написана и оформлена лично автором. Опубликованные материалы подтверждают ее существенный личный вклад в оптимизацию системы контроля эпизоотического процесса бруцеллеза по пути повышения ее эффективности.

9. Конкретные рекомендации по использованию результатов диссертационной работы

Новые положения разработанной концепции оптимизации специфической профилактики и поствакцинальной диагностики бруцеллеза животных по пути повышения уровня их технологичности, прошедшие, кроме теоретического и экспериментального обоснования, успешную практическую апробацию, необходимо широко внедрить в ветеринарную практику в целях повышения уровня осуществления противоэпизоотических

и профилактических мероприятий при этой эпизоотически, эпидемически, экономически и социально значимой болезни.

Ряд результатов исследований может быть использован в качестве методической основы в дальнейших научных разработках по оптимизации специальных противобруцеллезных мероприятий у с.-х. животных, а также в учебном процессе ВУЗов ветеринарного профиля.

10. Замечания, вопросы и пожелания по диссертации

По диссертационной работе Димовой А.С. принципиальных возражений и замечаний не возникло.

Однако есть некоторые замечания и вопросы дискуссионного характера.

1. В качестве вакцины для конъюнктивальной иммунизации как крупного так и мелкого рогатого скота диссертант предлагает вакцину из штамма *B. abortus* 19. Известна более иммуногенная живая вакцина из штамма *B. melitensis* Rev-1, которую применяют в ряде стран, включая Россию, для специфической профилактики бруцеллеза у мелкого рогатого скота, в том числе с использованием конъюнктивального метода ее введения. Интересно было бы знать на чем основано решение автора, выбирая для исследований по конъюнктивальной иммунизации мелкого рогатого скота не ее, а вакцину из штамма *B. abortus* 19 ?

2. Автор диссертации А.С. Димова получила интересные экспериментальные данные по эффективности НИТОКСА. А как практически представляет она себе стратегию использования НИТОКСА в сочетании с конъюнктивальной иммунизацией на сельскохозяйственных животных?

3. От каких факторов, по мнению исследователя, зависит изменение антигенных свойств слабоагглютиногенных вакцин в организме животных в направлении превалирования в их антигенной структуре S-компонента?

4. Хотелось бы знать, как она себе представляет проблему миграции вакцинного штамма 82 с иммунизированного на неиммунизированное поголовье. Каково ее практическое значение и существует ли такая проблема при применении других живых противобруцеллезных вакцин?

5. Каково мнение автора по РНГА как экспресс-методу диагностики бруцеллеза животных, особенно овец?

6. Хотелось бы знать мнение диссертанта об эффективности и необходимости применения РИД с О-ПС антигеном при диагностике бруцеллеза? Почему ее надо обязательно применять при бруцеллезе как невакцинированных, так и особенно вакцинированных против указанной болезни животных? Ведь применение указанного диагностикума, как видно из Ваших же данных, выявляет, по сравнению даже с РА и РСК далеко не всех инфицированных животных?

Следует отметить, что указанные замечания и вопросы не влияют на общую положительную оценку работы.

Хочется пожелать автору продолжить дальнейшие исследования в этом интересном научном и, самое главное, практическом направлении по пути оптимизации противоэпизоотических и профилактических мероприятий при этой актуальной и сложной зооантропонозной инфекции.

11. Заключение

Диссертация А.С. Димовой на тему «Теоретическое, экспериментальное и практическое обоснование технологичности использования различных методов и средств контроля эпизоотического процесса бруцеллеза» является самостоятельной законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором комплексных исследований решена научная проблема, имеющая важное теоретическое и практическое значение в направлении оптимизации противоэпизоотических систем, в том числе при такой эпизоотически, эпидемически, экономически и социально значимой болезни, как бруцеллез.

По актуальности, объему проведенных исследований, методическому обеспечению и полученным результатам работа соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней ВАК РФ», предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор Димова Алеся Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени доктора ветеринарных наук по специальности 06.02.02 ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Отзыв обсужден и одобрен на совещании научных сотрудников лаборатории эпизоотологии, диагностики и профилактики бруцеллеза Прикаспийского зонального НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД» (протокол №2 от 03 сентября 2018 г.).

Отзыв составил:

доктор ветеринарных наук, профессор,
главный научный сотрудник лаборатории эпизоотологии,
диагностики и профилактики бруцеллеза
Прикаспийского зонального НИВИ –
филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД»

Юсупов Омар Юсупович

Подпись О.Ю. Юсупова удостоверяю:

Ученый секретарь института

К.А. Карпушенко

Адрес: 367000, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Дахадаева, 88,
Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД»
8(8722)67-94-65; pznivi05@mail.ru