

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента, доктора ветеринарных наук, доцента Бушукиной Ольги Сергеевны на диссертационную работу Акчурина Сергея Владимировича на тему: «Диагностика функционального состояния клеток желудочно-кишечного тракта цыплят при экспериментальных клебсиеллезе, эшерихиозе, сальмонеллезе и проведении антибиотикотерапии клебсиеллеза», представленную к защите в диссертационный совет Д 220.061.01 при ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И.Вавилова» на соискание учёной степени доктора ветеринарных наук по специальности 06.02.01 - Диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных.

### **Актуальность избранной темы**

Актуальность диссертационного исследования Акчурина С.В. обусловлена высокой научной значимостью проблемы оценки здоровья желудочно-кишечного тракта домашней птицы.

Известно, что желудочно-кишечный тракт домашней птицы занимает ведущие позиции в регуляции обменных процессов в организме, фактически являясь связующим звеном между внешней и внутренней средой. При этом любые патологические процессы, возникающие в желудочно-кишечном тракте, оказывают существенное влияние на весь организм птицы, в том числе способны привести к его гибели.

В настоящее время данные, посвященные изучению здоровья желудочно-кишечного тракта в ветеринарной медицине, немногочисленны и фрагментарны. Так, мало работ посвящено оценке функционального состояния клеток ЖКТ, практически отсутствуют сведения о влиянии антибиотикотерапии на организм птицы с рассмотрением на клеточном уровне.

В этой связи, поставленные диссертантом задачи, связанные с разработкой новых методов диагностики функционального состояния клеток желудочно-кишечного тракта цыплят, представляют научный интерес и являются актуальными.

## **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Работа выполнялась в период с 2007 по 2020 годы на базе кафедры «Ветеринарная медицина» ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева». Научные эксперименты проводились в условиях ФГБУ «Саратовская межобластная ветеринарная лаборатория».

Диссертационное исследование выполнено на достаточном количестве материала (1850 цыплят) с использованием комплекса как классических, так и современных методов. Использованный комплексный методический подход соответствует современному уровню развития ветеринарных наук. Он позволил получить достоверную научную информацию в соответствии с поставленными целью и задачами.

Основные результаты диссертационного исследования отражены в 40 публикациях, в том числе: 21 из них - в рецензируемых научных журналах, рекомендованных перечнем ВАК РФ, 3 - в изданиях, входящих в базу данных Scopus, 1 монография (Саратов, 2020), 1 рекомендации (Саратов, 2020). По результатам научных исследований выданы 2 патента РФ на изобретения. Общий объем составляет 27,24 п.л., из них 25,23 п.л. принадлежат лично соискателю.

Акчуриным Сергеем Владимировичем достаточно хорошо проанализирована имеющаяся зарубежная и отечественная научная литература, что позволило определить проблему в области изыскания новых подходов к диагностике функционального состояния клеток, сформулировать цель и задачи исследований. Для достижения поставленной цели им разработан ряд новых методов диагностики. Проведены исследования по апробации указанных методов. В результате проведенных исследований им разработаны Рекомендации по оценке функционального состояния клеток

печени и железистого желудка цыплят при кишечных инфекциях (клебсиеллез, эшерихиоз, сальмонеллез) и проведении антибиотикотерапии, рекомендованные Научно-методическим советом при Федеральном учебно-методическом объединении по укрупненной группе специальностей и направлений подготовки высшего образования «Ветеринария и зоотехния» в качестве рекомендаций для студентов высших учебных заведений и специалистов хозяйств.

Основные материалы диссертационной работы были представлены и обсуждались на международных, всероссийский научно-практических конференциях в 2007-2020 гг.

Основные положения, заключение и практические предложения, сформулированные в диссертации, отвечают целям и задачам работы. Новизна их подтверждена наличием двух патентов по разрабатываемой тематике.

#### **Достоверность научных положений, выводов и рекомендаций**

Достоверность научных положений, полученных результатов, выводов рекомендаций в работе диссертанта не вызывает сомнения и обусловлены репрезентативностью выборки животных, находящихся в экспериментах, применением современных методов исследования, аналитическим подходом к обработке полученных данных с использованием адекватных критериев для статистического анализа.

В диссертационной работе обобщены результаты исследований от 1850 цыплят.

Научные исследования проводились в несколько этапов логически вытекающих один из другого. На первом этапе было проведено теоретическое обоснование 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. Вторым этапом включал в себя разработку новых методов люминесцентного спектрального анализа клеток для обнаружения, определения количественного содержания органических веществ в гистологических срезах и оценки функционального состояния клеток печени и желудочно-кишечного тракта птиц с применением флуоресцентных красителей. На третьем этапе была осуществлена экспериментальная апробация новых методов, осуществлен сравнительный анализ функционального состояния клеток печени и железистого желудка интактных цыплят, цыплят при кишечных инфекциях (клебсиеллез, эшерихиоз, сальмонеллез) и при проведении антибиотикотерапии клебсиеллеза, разработаны люминесцентно-микроскопические критерии ранней диагностики функционального состояния клеток железистого желудка цыплят. На четвертом этапе были разработаны рекомендации по оценке функционального состояния клеток печени и железистого желудка цыплят при кишечных инфекциях (клебсиеллез, эшерихиоз, сальмонеллез) и проведении антибиотикотерапии.

Объем полученного клинического материала и уровень статистического анализа имеют высокую степень достоверности и обоснованности научных положений, выводов, практических рекомендаций автора. Задачи соответствуют поставленной цели исследования и полностью раскрыты. Выводы сформулированы корректно, выглядят логичными, не выходят за пределы поставленных задач. Предложенные рекомендации основаны только на достоверных, объективных результатах собственных исследований. Положения, выносимые на защиту, отражают только сведения, полученные лично автором

#### **Новизна научных положений, выводов и рекомендаций.**

В представленной Акчуриным Сергеем Владимировичем диссертационной работе впервые разработаны и апробированы 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. Новые методы подтверждены охраноспособными документами (Пат. № 2469296, Пат. № 2537165). На достаточном количестве экспериментального материала проведен сравнительный анализ функционального состояния клеток печени и железистого желудка интактных цыплят и цыплят, экспериментально зараженных клебсиеллезом, эшерихиозом, сальмонеллезом, и подвергавшихся антибиотикотерапии клебсиеллеза. Разработаны люминесцентно-микроскопические критерии ранней диагностики функционального состояния клеток печени и железистого желудка цыплят при кишечных инфекциях (эшерихиоз, сальмонеллез, клебсиеллез) и при проведении антибиотикотерапии клебсиеллеза. На основании разработанных методов и проведенных исследований подготовлены рекомендации по оценке функционального состояния клеток печени и железистого желудка цыплят при кишечных инфекциях (клебсиеллез, эшерихиоз, сальмонеллез) и проведении антибиотикотерапии, рекомендованные Научно-методическим советом при Федеральном учебно-методическом объединении по укрупненной группе специальностей и направлений подготовки высшего образования «Ветеринария и зоотехния» в качестве рекомендаций для студентов высших учебных заведений и специалистов хозяйств. Вышеуказанные исследования позволили впервые разработать комплекс диагностических мероприятий по оценке функционального состояния клеток желудочно-кишечного тракта при кишечных инфекциях (клебсиеллез, эшерихиоз, сальмонеллез) и при антибиотикотерапии клебсиеллеза.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Ценность для науки и практики проведенной соискателем работы состоит в том, что на основании использованного комплексного методического

подхода были разработаны новые методы, позволяющие оценивать функциональное состояние клеток желудочно-кишечного тракта при воздействии патологических агентов и проведении антибиотикотерапии

Полученные результаты расширяют и дополняют имеющиеся сведения о функциональном состоянии клеток желудочно-кишечного тракта цыплят в норме, при кишечных инфекциях (клебсиеллез, эшерихиоз, сальмонеллез) и при антибиотикотерапии клебсиеллеза. Разработанные люминесцентно-микроскопические критерии ранней диагностики функционального состояния клеток печени и железистого желудка цыплят позволяют контролировать состояние указанных клеток на ранних этапах развития инфекционного процесса и оценивать степень влияния антибиотикотерапии на них.

На основании разработанных методов и проведенных исследований подготовлены рекомендации по оценке функционального состояния клеток печени и железистого желудка цыплят при кишечных инфекциях (клебсиеллез, эшерихиоз, сальмонеллез) и проведении антибиотикотерапии

Материалы диссертационной работы используются в учебном процессе при чтении лекций и проведении занятий при подготовке студентов, аспирантов и докторантов во ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», ФГБОУ ВО «Рязанский аграрно-технологический университет имени П.А. Костычева», ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова». Полученные данные используются в производственной деятельности ООО «Нита-Фарм».

### **Оценка содержания диссертации и автореферата**

Диссертация изложена на 348 листах машинописного текста и включает: введение, обзор литературы, материал и методы исследования, результаты исследований и их анализ, обсуждение полученных результатов, заключение, список сокращений, список литературы, список иллюстративного материала,

приложения. Список литературы содержит 579 источников, в том числе 430 иностранных. Работа содержит 24 таблицы, 87 рисунков и 10 приложений.

Во введении автором обозначена актуальность темы исследования; степень разработанности проблемы, цель и задачи исследований; объект исследований; предмет исследования; показаны научная новизна; теоретическая и практическая значимость работы; методология и методы исследований; представлены положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов, а также об объеме и структуре диссертации.

В главе 1 представлен анализ данных литературы о болезнях кур, вызываемых патогенными энтеробактериями, антибиотиках и их альтернативах в птицеводстве, биологических маркерах для мониторинга здоровья органов желудочно-кишечного тракта домашней птицы, люминесцентном спектральном анализе, влиянии антибиотиков на органы желудочно-кишечного тракта. В целом литературный обзор соответствует названию темы диссертации и в полной мере отражает проблемные вопросы, поставленные в работе. Обзор литературы проведен в достаточно объеме и отражает основные сведения, имеющиеся как в зарубежных, так и отечественных источниках.

В главе 2 изложены материал и методы исследования.

В главе 3 представлены результаты исследований и их анализ.

В разделе 3.1. изложено теоретическое обоснование 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. описаны 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.

В разделе 3.3. представлены сведения о функциональном состоянии клеток желудочно-кишечного тракта цыплят при экспериментальном заражении клебсиеллезом, эшерихиозом, сальмонеллёзом, полученные при экспериментальной апробации разработанных методов.

В разделе 3.4. приведены сведения о функциональном состоянии клеток желудочно-кишечного тракта цыплят при проведении антибиотикотерапии клебсиеллеза, полученные при экспериментальной апробации разработанных методов.

В разделе 3.5. представлено обсуждение полученных результатов.

В главе «Заключение» автором представлены выводы по диссертационной работе. Рекомендации производству и перспективы дальнейшей разработки темы представлены в соответствующих главах.

Главы имеют разделы и подразделы, что позволяет легко найти в работе необходимый материал.

Представленная диссертационная работа является полноценным научным трудом, в котором правильно поставленные цели и задачи находят логическое воплощение в сформулированных автором теоретических положениях и полученных практических разработках.

Автореферат диссертации оформлен в соответствии с требованиями ВАК РФ, в полном объеме соответствует тексту диссертации дает возможность вынести заключение о характере научных результатов и их достоверности.

### **Замечания и вопросы по диссертации**

В целом положительно оценивая диссертацию Акчурина Сергея Владимировича «Диагностика функционального состояния клеток желудочно-кишечного тракта цыплят при экспериментальных клебсиеллезе, эшерихиозе, сальмонеллёзе и проведении антибиотикотерапии клебсиеллеза» принципиальных возражений не возникло. Исследования проведены на



высоком научном и методическом уровне с использованием большого количества фактического материала. Однако к оформлению диссертации есть некоторые замечания, а к диссертанту вопросы, ответы на которые желательно услышать в ходе публичной защиты.

***Замечания:***

1. В работе (стр.121) встречаются единичные опечатки и неудачные в литературном отношении словосочетания.
2. Чрезмерно детализированы и обширны наименования разделов «Собственные исследования».
3. На единичных рисунках отсутствуют обозначения. Так, на рисунках 17, 18, 19, 20 желательно обозначить стрелками и пояснить функциональная активность каких клеток здесь определяется.
4. Вы акцентируете, что толщина срезов варьирует от 4- до 7 мкм и в каждом конкретном случае она Вами определяется, то желательно на рисунках 21, 22 указать толщину среза гистопрепарата, с которого получен спектр, чтобы можно сравнить контрольные и опытные показатели.
5. В приложении 8 на рисунках 50-59 желательно указать какому заболеванию соответствует данное патоморфологическое изменение.

***Вопросы:***

1. Почему в качестве предмета исследования функционального состояния клеток выбраны клетки железистого желудка, а не кишечника интактных цыплят, цыплят при патологическом состоянии, вызванном патогенными энтеробактериями?
2. С какой целью отбирали кусочки поджелудочной железы, сердца, легкого, почек, тимуса, селезенки, головного мозга, фабрицевой бursы, затем осуществляли проводку и заливку, если в диссертации нет ссылки на их гистологию?

3. Как на гистологических препаратах, окрашенных метками-красителями определялись границы оболочек, слоев стенки органа, границы клеток эпителия и клеток соединительной ткани? Функциональная активность каких клеток покровного эпителия (складок, сосочков или поверхностных желёз) слизистой оболочки определялась?
4. Какой, на Ваш взгляд, механизм изменений функциональной активности клеток железистого желудка при кишечных инфекциях? Какие показатели функциональной активности клеток можно считать специфичными при клебсиеллезе, эшерихиозе, сальмонеллёзе и можно ли их отнести к стереотипным, возникающим при других патологических процессах в желудочно-кишечном тракте?
5. Вы утверждаете, что ультраструктурные изменения при клебсиеллезе, эшерихиозе, сальмонеллёзе цыплят характеризовались снижением функциональной активности клеток. Какие ультраструктурные изменения Вы наблюдали?

Указанные замечания и имеющиеся вопросы ни в коей мере не снижают научную и практическую ценность рецензируемой работы, а носят, в основном, дискуссионный характер и не влияют на ее общую положительную оценку.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Докторская диссертация Акчурина Сергея Владимировича на тему: «Диагностика функционального состояния клеток желудочно-кишечного тракта цыплят при экспериментальных клебсиеллезе, эшерихиозе, сальмонеллёзе и проведении антибиотикотерапии клебсиеллеза», является законченной, самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой. По актуальности, объему материала, методическому уровню исследований, новизне полученных результатов, научной и практической

