

Утверждаю
ИО директора
ФГБНУ «Федеральный аграрный
научный центр Республики Дагестан»

к. с.-х. наук Ниматулаев Н.М.

« 15 » Февраля 2022 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу Камалиевой Юлии Ринатовны « Молекулярно-генетический анализ микобактерий, изолированных от крупного рогатого скота и объектов внешней среды в Республике Татарстан» представленную в диссертационный совет Д 220.034.01 при ФГБНУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

1. **Актуальность проблемы.** Основой успешного развития животноводства является благополучие по социально значимым болезням, в том числе и туберкулезу. Во многих странах мира, в том числе и в России, туберкулез продолжает оставаться острой проблемой в ветеринарии и медицине, причиняя огромный ущерб народному хозяйству и представляя серьезную опасность населению. Многие области и республики страны, несмотря на серьезную работу по искоренению этого недуга, по сегодняшний день неблагополучны. Основой борьбы с туберкулезом является диагностика с удалением больных животных. Следует отметить, что ни один из предложенных методов диагностики туберкулеза на сегодня несовершенен, в том числе и прижизненный метод – аллергический с применением ППД - туберкулина для млекопитающих. Массовое выявление неспецифических реакций на туберкулин делает результаты этой пробы ориентировочными, в связи с чем не все реагирующие на туберкулин животные в благополучных хозяйствах являются

больными, не всегда животные с отрицательными реакциями в неблагополучных хозяйствах - здоровыми. Серьезным тормозом в успешной реализации комплекса мероприятий по профилактике и ликвидации туберкулеза остаются неспецифические реакции на туберкулин, вызываемые атипичными микобактериями. Сенсibiliзирующая роль этих микроорганизмов огромна, в то же время, по сегодняшний день в достаточной степени не изучены вопросы этиологии, распространённости и экономического ущерба, причиняемого микобактериозами.

В этой связи, проведение молекулярно-генетического анализа микобактерий, изолированных от крупного рогатого скота и объектов внешней среды в Республике Татарстан, послужило для диссертанта целью научных исследований.

Цель достигнута решением следующих задач: изучением эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Татарстан с 2010 по 2020 годы и частоты проявления неспецифических реакций на туберкулин; разработкой набора высокоспецифичных олигонуклеотидных праймеров и зондов для идентификации нетуберкулезных микобактерий (*Mycobacterium smegmatis*, *scrofulaceum*, *kansasii*, *paratuberculosis*, *avium*, *intracellulare*, *fortuitum*) методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени; проведением индикации и идентификации микобактерий из патологического материала от реагирующего на туберкулин крупного рогатого скота и объектов внешней среды животноводческих комплексов Республики Татарстан методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

2. Научная новизна. Диссертантом впервые проведен ретроспективный анализ и составлена картограмма частоты проявления неспецифических реакций на туберкулин у крупного рогатого скота в сельскохозяйственных предприятиях Республики Татарстан; изучена эпизоотическая ситуация по туберкулезу, разработаны олигонуклеотидные праймеры и зонды для идентификации микобактерии нетуберкулезного комплекса; идентифицированы микобактерии

из биоматериала и объектов внешней среды; впервые установлено видовое разнообразие микобактерий, циркулирующих в Республике Татарстан.

Диссертантом на уровне решения о выдаче патента на изобретение: №2021111909/10(025541) разработан «Набор высокоспецифичных олигонуклеотидных праймеров и зондов для детекции и дифференциации нетуберкулезных микобактерий» от 27.04.2021 года.

3. Значимость для науки и практики полученных автором результатов. Полученные диссертантом научные материалы в определении нозоареала болезни, установлении частоты проявления неспецифических реакций и видового состава нетуберкулезных микобактерий, персистирующих в биоматериале и объектах внешней среды, а также разработанные олигонуклеотидные праймеры и зонды для идентификации нетуберкулезных микобактерий создают основу для дальнейшего совершенствования системы борьбы с туберкулезом. Диссертационный материал также служит дополнением к научно-практической деятельности на факультетах профильных высших учебных заведений: кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ; кафедре эпизоотологии и ветеринарно-санитарно экспертизы ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА; кафедре инфекционных болезней, зоогигиены и ветсанэкспертизы ФГБОУ ВО Башкирская ГАУ; кафедре ресурсосберегающих технологий производства продукции сельского хозяйства и лесного комплекса АПК ФГБОУ ДПО «Татарский институт переподготовки кадров агробизнеса».

4. Оценка достоверности исследований. Диссертационная работа выполнена на кафедре эпизоотологии и паразитологии, в межкафедральной лаборатории иммунологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана, в двадцати восьми животноводческих хозяйствах Республики Татарстан с 2018-2021 гг. С целью проведения молекулярно-генетического анализа микобактерий из биоматериала и объектов внешней среды была проведена работа с организацией большого количества экспериментов и производственных

испытаний с использованием комплекса современных методов исследования и апробированных методик проведения молекулярно-генетического анализа в сертифицированных лабораториях. В опыты было вовлечено 100 голов крупного рогатого скота, исследовано 100 проб патологического материала, 119 смывов с объектов внешней среды и более 10 известных штаммов нетуберкулезных микобактерий. Достоверность полученных результатов подтверждена большим объемом экспериментального материала, использованием современных методов исследования и статистической обработкой цифрового материала. Очевиден высокий уровень достоверности, новизны, обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций.

Материалы диссертации доложены и обсуждены на 4 специализированных научно-практических конференциях и XXIII Всероссийской агропромышленной выставке «Золотая осень - 2021» в Москве. Содержание диссертации опубликовано в 6 научных работах, в том числе 3 – в изданиях, включенных в перечень Российских рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК РФ и 2 входящих в базу данных Web of Science. Получена положительная заявка на патент РФ «Временные ветеринарные правила по применению набора высокоспецифичных олигонуклеотидных праймеров и зондов для идентификации нетуберкулезных микобактерий методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с целью дифференциации неспецифических туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота».

5. Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации. На основании научных разработок и предложений подготовлены «Временные ветеринарные правила по применению набора высокоспецифичных олигонуклеотидных праймеров и зондов для идентификации нетуберкулезных микобактерий методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с целью дифференциации неспецифических туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота», утверждённые Главным управлением ветеринарии кабинета Министров Республики Татарстан от 12 Марта 2021 года.

Разработанные автором олигонуклеотидные праймеры и зонды могут быть использованы при дифференциации неспецифических туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота. С учетом теоретической значимости работы, результаты также могут быть использованы в учебном процессе при чтении лекций по курсу микробиологии для студентов ветеринарной медицины очной и заочной форм обучения.

6. Общая оценка содержания и оформления диссертации

Диссертация изложена на 148 страницах, иллюстрирована 14 таблицами и 14 рисунками, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, собственных исследований, заключения, выводов, практических предложений списка использованной литературы и приложений. Список использованной литературы включает 232 источника, из которых 74 иностранных.

Во введении автор обосновал актуальность темы, четко сформулировал цели и задачи исследований, показал научную новизну, теоретическую и практическую значимость результатов проведенных исследований, обосновал методологию и методы диссертационного исследования.

В главе «Обзор литературы» особое внимание автором уделяется вопросам характеристики и классификации нетуберкулезных кислотоустойчивых микобактерий, подробно освещены вопросы распространения атипичных микобактерий в биоматериале и объектах внешней среды.

Автором глубоко проанализированы литературные и статистические данные о причинах проявления неспецифических реакций, методах дифференциации и экономическом ущербе при микобактериозах.

Большой раздел «Основное содержание работы» посвящен вопросам эпизоотологии туберкулеза в Республике Татарстан, дан ретроспективный анализ эпизоотической ситуации в период с 2010 по 2020 гг, показана частота проявления неспецифических реакций, дана критическая оценка существующим методам прижизненной диагностики туберкулеза крупного рогатого скота.

Огромная работа автором проведена по разработке высокоспецифичных олигонуклеотидных праймеров и зондов для идентификации микобактерии,

синтезировано 14 праймеров и 7 зондов для идентификации 7 представителей атипичных микобактерий. Для каждого вида разработано по 2 праймера и одному флуоресцентно-меченому зонду с проведением оценки специфичности, где установлена гомологичность выбранных праймеров и зондов с микобактериями определенного вида. Определена высокая специфичность и чувствительность каждой пары праймеров и зондов.

При определении причин сенсibilизации макроорганизма к туберкулину с использованием разработанных олигонуклеотидных праймеров и зондов в патологическом материале от реагирующих на туберкулин крупного рогатого скота в благополучных по туберкулезу хозяйствах Республики Татарстан, автору удалось идентифицировать нетуберкулезные микобактерии в 43% случаев. Приведены результаты персистенции в организме 6 видов атипичных микобактерий, показана видовая принадлежность идентифицированных микобактерий.

Диссертационная работа выполнена на высоком научно-методическом уровне с использованием современных методов исследования. Выводы и практические предложения полностью соответствуют содержанию работы, обоснованы теоретически и экспериментально. Достоверность выводов и практических предложений не вызывает сомнений.

Диссертация качественно оформлена, наглядна и не перегружена лишней информацией. Содержание автореферата и опубликованных работ полностью соответствует основным положениям диссертации.

Оценивая диссертационную работу положительно, возникло несколько вопросов уточняющего характера:

1. По официальным статистическим данным РФ в 2019-2020 гг. в Приволжском федеральном округе неблагополучие по туберкулезу КРС зарегистрировано в Самарской и Саратовской областях, Республика Татарстан – благополучна. По Вашим данным, в Республике Татарстан туберкулез имеет стационарный характер, за последние 10 лет зарегистрирован в 29 районах из 43.

2. Чем объясняется неблагополучие в основном юга Республики.

3. Сенсibiliзирующими макроорганизм к туберкулину свойствами кроме атипичных микобактерий, обладают и микобактериоподобные микроорганизмы (коринебактерии, нокардии и родококки). Не планируете ли в дальнейшем разработать специфичные олигонуклеотидные праймеры и зонды для их идентификации.

4. Уточните экономическую эффективность от Ваших разработок.

Замечание - недостаточно источников в литературном списке по использованию полимеразной цепной реакции в диагностике туберкулёза крупного рогатого скота.

Отмеченные замечания и вопросы не снижают качества и ценности работы, связаны с интересом к проблеме туберкулеза животных и носят дискуссионный характер. В работе также встречаются единичные опечатки и неудачные выражения, не влияющие на значимость.

Заключение

Диссертация Камалиевой Юлии Ринатовны «Молекулярно-генетический анализ микобактерий, изолированных от крупного рогатого скота и объектов внешней среды в Республике Татарстан» на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение, решена научная проблема, имеющая важное социально-экономическое и хозяйственное значение, которая вносит значительный вклад в развитие эпизоотологии, микробиологии и иммунологии. Диссертация написана автором самостоятельно, обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты и положения, выдвигаемые для публичной защиты, свидетельствующие о личном вкладе автора диссертации в науку и ветеринарную практику диагностики и дифференциальной диагностики туберкулеза крупного рогатого скота.

Диссертация Камалиевой Юлии Ринатовны «Молекулярно-генетический анализ микобактерий, изолированных от крупного рогатого скота и объектов внешней среды в Республике Татарстан» отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 № 335), а ее автор Камалиева Юлия Ринатовна заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 - ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Диссертация и отзыв рассмотрены на расширенном заседании лаборатории инфекционной патологии 14.02.2022г., протокол № 7.

**Доктор ветеринарных наук, гл. научный
сотрудник лаборатории инфекционной патологии
Прикаспийского зонального научно –
исследовательского ветеринарного института
– филиал ФГБН «ФАНЦ РД»
Email: alama500@rambler.ru
Tel: 89285010948**

Баратов М.О.

**Прикаспийский зональный научно-исследовательский
ветеринарный институт-филиал
ФГБНУ «ФАНЦ РД»
Адрес: 367000, Республика Дагестан,
г. Махачкала, ул. Дахадаева 88
Директор, д.в.н.**

Алиев А.Ю.

**Подпись Баратова Магомед Омаровича заверяю
Инспектор отдела кадров**

Курбанова Л.З.

15. 02.2022 г.