

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной и инновационной деятельности федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный аграрный университет», доктор биологических наук, профессор

И.В. Чудов  
« 30 » мая 2017 г.

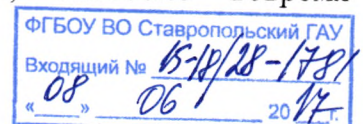
**ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**

на диссертационную работу Васильева Никиты Владимировича «Профилактические мероприятия эшерихиоза молодняка крупного рогатого скота в Ставропольском крае», представленную в диссертационный совет Д 220.062.02 при ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

**Актуальность темы диссертации.** Диссертационная работа Васильева Никиты Владимировича является актуальной в научном и практическом плане, так как посвящена решению проблемы профилактических мероприятий при эшерихиозе молодняка крупного рогатого скота, а именно использованию ассоциаций пробиотических бактерий *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecalis* H22; *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecium* УДС 86 и увеличению сохранности новорождённых телят.

Значимое место по распространенности среди желудочно-кишечных заболеваний, не только в нашей стране, но и за рубежом, занимает эшерихиоз сельскохозяйственных животных и птицы. Телята заболевают эшерихиозом в основном в первые 2-7 дней жизни, но также часто болезнь поражает и одно и двухмесячных телят. Заболеваемость может достигать до 90%, а летальность составляет около 30-50%. Патогенное действие бактерий группы кишечной палочки, в первую очередь обусловлено воздействием на желудочно-кишечный тракт животных.

Дисбиотические нарушения желудочно-кишечного тракта способны вызвать острые кишечные заболевания у новорожденных телят из-за преобладания энтеробактерий над симбионтной флорой, что является особенностью в становлении кишечного микробиоценоза телят в первые 5-7 дней жизни. Кишечная палочка способна проявлять устойчивость к некоторым видам антибиотиков. Поэтому изыскание правильных форм профилактики, способно вовремя





остановить распространение и развитие дисбиотических состояний желудочно-кишечного тракта телят. Нарушения, вызываемые дисбактериозами, ведут к потере кишечной микрофлоры, ее способности к обезвреживанию продуктов белкового обмена, таких как индола, скатола, фенола, ксенобиотиков, гистамина, токсинов бактериальной этиологии и метаболитов экзогенного и эндогенного происхождения. Преобладающие при дисбактериозе факультативные анаэробные и аэробные микроорганизмы начинают продуцировать широкий спектр токсических веществ, способных вызвать развитие инфекционного процесса.

Вопросами распространения, диагностики и профилактики эшерихиоза телят, а также идентификацией серовариантов эшерихий, поражающих телят в нашей стране занимались многие учёные. Однако, несмотря на достигнутые успехи, проблема эшерихиоза продолжает оставаться одной из актуальных для ветеринарной науки и практики.

В этой связи, изучение распространения эшерихиоза молодняка крупного рогатого скота в Ставропольском крае, определение влияния ассоциаций пробиотических бактерий *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecalis* H22; *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecium* УДС 86 на клинико-гематологические и иммунобиологические показатели у животных, а также определение их эффективности для профилактики эшерихиоза у молодняка крупного рогатого скота стали предметом научных исследований Васильева Н.В., результаты которых представлены в качестве диссертационной работы.

**Научная новизна исследований** не вызывает сомнений и состоит в том, что соискателем выполнена работа в рамках перспективного направления профилактики эшерихиоза молодняка крупного рогатого скота.

Автором проведены отдельные клинико-гематологические и иммунобиологические исследования молодняка крупного рогатого скота и белых мышей при использовании ассоциации пробиотических бактерий *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecalis* H22; *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecium* УДС 86.

Впервые в Ставропольском крае проведен ретроспективный анализ распространения эшерихиоза у крупного рогатого скота.

Автором представлены новые данные по удельному весу эшерихиоза среди других инфекционных заболеваний крупного рогатого скота, а также сформулированы и обоснованы научные положения о профилактике этой формы патологии у крупного рогатого скота в Ставропольском крае.

Впервые автором предложены и испытаны эффективные схемы профилактики эшерихиоза молодняка крупного рогатого скота, основанные на применении ассоциаций пробиотических бактерий *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecalis* H22; *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecium* УДС 86.

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

Степень обоснованности диссертационных исследований следует из результатов анализа литературных и экспериментальных данных, полученных в ходе исследований. Исследования проведены на достаточном количестве материала с использованием современных апробированных методов исследований. Экспериментальный материал подвергнут статистической обработке.



Представленные в работе научные положения обоснованы и подтверждены экспериментальными данными и производственными испытаниями и одобрены при представлении материалов на научно-практических конференциях, что также подтверждает их достоверность. Результаты экспериментальных работ с достаточной степенью точности согласуются с теоретическими и литературными данными и положениями, принятыми в области данного направления исследований.

Научные выводы и практические рекомендации теоретически и экспериментально обоснованы, что подтверждается фактическими данными.

Результаты исследований были представлены, обсуждены и положительно охарактеризованы: на Международной научно-практической конференции «Современные тенденции в образовании и науке» (г. Тамбов, 2013); на 78, 80-й научно-практических конференциях СтГАУ и опубликованы в сборнике научных трудов «Диагностика, лечение и профилактика заболеваний сельскохозяйственных животных» (г. Ставрополь, 2014); на Международной научно-практической интернет-конференции «Актуальные вопросы ветеринарной и зоотехнической науки и практики» (Ставрополь, 2015).

Также результаты исследований используются в учебном процессе на кафедре эпизоотологии и микробиологии по курсам дисциплин: «Эпизоотология и инфекционные болезни животных» и «Иммунология»; на кафедре терапии и фармакологии по курсам дисциплин: «Лабораторная диагностика» и «Ветеринарная фармакология» при подготовке специалистов по направлению «Ветеринария» и бакалавров по направлению «Ветеринарно- санитарная экспертиза» в ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет»; ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины имени К.И. Скрябина» и ФГБОУ ВО «Калмыцкий государственный университет».

**Значимость для науки и практики полученных автором результатов.** Фундаментальное значение диссертационной работы заключается в том, что результаты исследований создают теоретическую базу для усовершенствования профилактических мероприятий эшерихиоза у телят и расширяют сведения об особенностях биологических процессов в организме животных под действием ассоциаций пробиотических бактерий.

Практическая ценность работы состоит в том, что разработаны схемы профилактики эшерихиоза телят с использованием ассоциаций пробиотических бактерий *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecalis* H22; *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecium* УДС. В результате проведенных исследований и на основании полученных результатов установлено, что применение ассоциаций пробиотических бактерий *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecalis* H22; *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecium* УДС 86 для профилактики эшерихиоза молодняка крупного рогатого скота по апробированной схеме способствует сохранности новорожденных животных.

**Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации.** Научные разработки, выводы и положения диссертационного исследования апробированы и используются в практической деятельности СПХ «Правокумское» Советского района Ставропольского края.



Результаты исследований Васильева Н.В. рекомендуются использовать в высших учебных заведениях, подведомственных Минсельхозу России.

**Содержание диссертации, ее завершенность.** Диссертационная работа изложена на 158 страницах компьютерного текста, содержит 43 рисунка и 15 таблиц. Список литературы включает 331 источник, в том числе 121 иностранных авторов, приложения – 3 страницы.

Во «Введении» к диссертации автор описывает актуальность темы, степень разработанности исследований, цель и задачи, необходимые для её решения, методологию и методы исследований. Чётко сформулированы научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, положения, выносимые на защиту. Далее диссертант сообщает о степени достоверности, апробации и публикации результатов исследований, структуре и объеме диссертации.

Глава 1 «Обзор литературы» выполнен на 34 страницах и читается с интересом. Автор провёл анализ отечественной и зарубежной литературы по вопросам: нарушение микробиоценоза кишечника телят как этиологический фактор эшерихиоза; нормальная микрофлора желудочно-кишечного тракта животного организма и её функция; иммунологический статус у новорождённых телят; методы профилактики эшерихиоза телят с использованием традиционных методов, пробиотических препаратов; использование бифидопробиотиков и комбинированных пробиотиков для профилактики эшерихиоза телят. Следует отметить, что соискатель не просто констатирует источники литературы, а приводит информационно-аналитический обзор, что свидетельствует о высокой профессиональной подготовке диссертанта и глубоком научном обосновании предусмотренной цели и поставленных задач для её достижения. Проведенный обзор литературы полностью отражает состояние изученности вопроса.

В «Материалы и методы исследований» изложена общая программа и методика экспериментальных исследований. Приведены гематологические методы, методы биохимических, иммунологических исследований; исследования по определению динамики микрофлоры желудочно-кишечного тракта.

Глава «Собственные исследования» состоит из шести разделов, в которых диссертантом отражены данные по выполнению всех поставленных задач.

Автором изучена эпизоотическая обстановка по эшерихиозу молодняка крупного рогатого скота в Ставропольском крае. В течение 10 лет в Ставропольском крае заболеваемость эшерихиозом крупного рогатого скота снижается, а в 2012-2013 гг. согласно отчетной документации неблагополучные пункты не выявлены, что свидетельствует об эффективности терапевтических и профилактических мероприятий, проводимых в хозяйствах. Согласно отчетных данных краевой ветеринарной лаборатории за период 2013-2015 годы у молодняка крупного рогатого скота выделена *E.coli*, сероварианта O78.

Для получения ассоциации пробиотических бактерий автор использовал паспортизированные штаммы молочнокислых микроорганизмов – *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecalis* H22; *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecium* УДС 86. Чтобы получить пробиотический продукт молоко 2,5 % жирности стерилизовали путем автоклавирования при температуре 121°C в течение 20 минут. Затем, в стерильных условиях в стерилизованное молоко вносили штаммы молочнокислых бактерий. Отобранные штаммы обладают способностью свертывать стерильное молоко в течение 1-4 сут. с накоплением в нем от  $10^6$  до  $10^{12}$  КОЕ/см<sup>3</sup> популяций своих клеток.



Полученные ассоциации пробиотических бактерий на основе штаммов *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecalis* H22 и *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecium* УДС, способны приживляться в желудочно-кишечном тракте телят, и проявлять ингибирующую активность в отношении эшерихий, являющихся одними из основных бактериальных возбудителей желудочно-кишечных болезней животных.

Диссертантом выявлено, что при изучении влияния полученных пробиотических препаратов на организм белых мышей замечена тенденция к увеличению живой массы в ходе всего эксперимента, уменьшение условно-патогенной микрофлоры в желудочно-кишечном тракте начиная с 7 суток после начала эксперимента. Основные гематологические показатели крови (количество эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобин, гематокрит) были выше, чем у животных контрольной группы, но при этом оставались в пределах физиологической нормы. Значительных различий в биохимических показателях сыворотки крови (общий белок, альбумин, глюкоза, билирубин, АСТ, АЛТ, креатин, мочевины), выявлено не было, основные показатели находились в пределах физиологической нормы. Это позволяет судить о безопасности испытуемых пробиотических штаммов. Из приведенных результатов исследований можно сделать вывод о том, что ассоциации пробиотических бактерий влияют на физиологическое состояние животных. Они не оказывают существенных изменений на показатели крови животных, оказывают влияние на иммунобиологический статус организма животных.

В связи с полученными результатами автором были продолжены научные исследования и изучены гематологические, биохимические и иммунобиологические показатели телят при использовании ассоциаций пробиотических бактерий. У телят произошли достоверные количественные и качественные изменения состава лейкоцитов, увеличился уровень иммуноглобулинов. При изучении иммунного статуса телят опытных групп, выявлены более высокие показатели клеточного (ФАЛ, ФЧ) иммунитета, наблюдалась динамика повышения уровня в сыворотке крови Ig G, M, A. Уровень IgG у телят опытных групп к концу опыта повысился на 47,9% и 47,2% (первая и вторая группа, соответственно), уровень IgA на 27,9 % и 35,8 %, уровень IgM 38,9% и 47,7%. Отмечена динамика увеличения прироста ежедневной живой массы у телят опытных групп на 17,4% и 24,3% к концу эксперимента. Отмечена динамика снижения условно-патогенных бактерий и в частности эшерихий в желудочно-кишечном тракте телят в ходе эксперимента. Уровень бактерий рода *E. coli* достоверно снизился на 18,3% и 18,8% в первой и во второй опытной группах, в то время как количество бифидобактерий и лактобактерий увеличилось на 22,5% и 5,7% и 23,7% и 7,1 %, соответственно.

Диссертант показывает, что у телят опытных групп, принимавших ассоциации пробиотических бактерий, не регистрировалась желудочно-кишечная патология. В то время как у 3-х телят контрольной группы были отмечены признаки расстройства желудочно-кишечного тракта, проявляющейся диареей, лихорадкой и обезвоживанием. Полученные данные об отсутствии расстройств желудочно-кишечного тракта у телят опытных групп, может служить основанием о профилактической способности данных ассоциаций пробиотических бактерий. Для усовершенствования профилактических мероприятий при эшерихиозе, мы рекомендуем применять ассоциации пробиотических бактерий, которые являются



более безопасными для здоровья животных. Исходя из этого, мы испытали ассоциации пробиотических бактерий на основе штаммов бифидобактерий и энтерококков. Сущность профилактики заключается в том, что телятам со второго дня жизни, индивидуально ежедневно с интервалом в 24 часа, орально выпаиваются пробиотики содержащие ассоциации пробиотических бактерий на основе штаммов *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecalis* H22; *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecium* УДС 86. Преимущество применения заключается в его экологической безопасности и безвредности. Данные ассоциации пробиотических бактерий улучшают иммунобиологический статус телят, влияют на метаболические процессы в организме. Они обладают антагонизмом по отношению к условно-патогенной микрофлоре желудочно-кишечного тракта, в том числе и к бактериям рода эшерихий.

Раздел «Обсуждение результатов исследования» показывает эрудированность автора и способность его анализировать полученные экспериментальные данные. Соискатель обобщил результаты исследований по изучаемым вопросам, провёл сравнительный анализ данных с результатами, полученными другими авторами.

Результаты исследований обобщены в семи выводах в главе «Заключение», которые вытекают из результатов исследований и отражают основное содержание работы.

В предложениях производству для профилактики эшерихиоза и острых кишечных заболеваний автор рекомендует назначать ассоциации пробиотических бактерий на основе штаммов *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecalis* H22, а также *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecium* УДС 86 новорожденным телятам с первого дня жизни в течение 10 дней в дозе 5,0 мл один раз в сутки.

Автореферат полностью соответствует положениям диссертации.

Основные научные результаты по теме диссертации опубликованы в семи печатных работах, из них одна работа в базе данных SCOPUS («Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences»), две работы в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ («Вестник АПК Ставрополя», «Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского ГАУ»), что в полной мере отражает основные результаты, полученные автором в эксперименте.

Вместе с тем, отмечая актуальность диссертационной работы, её новизну и практическую значимость хотелось бы получить ответы на вопросы и высказать следующие замечания:

1. В названии работы сочетание «Профилактические мероприятия эшерихиоза...» некорректно, следовало бы назвать: «Профилактические мероприятия при эшерихиозе...» или «Профилактика эшерихиоза...».

2. В диссертационном исследовании не указана порода крупного рогатого скота.

3. Каждая таблица работы дублируется рисунком в виде графика, что загромождает работу.

4. Бифидобактерии – анаэробы, почему Вы культивировали их в аэробных условиях (стр. 59)?



5. Вами изучена динамика лактобактерий в фекалиях мышей и телят, однако в материалах и методах исследований не изложена их методика культивирования. Как Вы их выделяли?

6. Почему в пробиотическом продукте, содержащем штаммы *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecium* УДС 86, на вторые сутки концентрация микроорганизмов выше, чем в продукте, содержащем штаммы *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecalis* H22?

7. Каким образом было установлено, что «что ассоциации пробиотических бактерий на основе штаммов *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecalis* H22 и *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecium* УДС 86, способны приживляться в желудочно-кишечном тракте телят» (стр. 62)?

8. Какова концентрация штаммов двух пробиотических продуктов при изучении антагонистической активности по отношению к тест-культурам *E. coli*?

9. Чувствительны ли сероварианты *E. coli*, циркулирующие на территории Ставропольского края, к полученным пробиотическим продуктам? Ведь в опыте на белых мышах при заражении культурой *E. Coli* O78 ассоциации пробиотических бактерий на основе штаммов *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecalis* H22 не показали профилактической и терапевтической эффективности, а ассоциации пробиотических бактерий на основе штаммов *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecium* УДС 86 показали результаты аналогичные контрольной группе без дачи этого продукта?

10. Почему у подопытных телят при использовании ассоциаций пробиотических бактерий на 10-й день исследований увеличивается содержание бифидобактерий и лактобацилл, но снижается содержание *Enterococcus faecium* и *Enterococcus faecalis*?

11. Почему у телят в СПХ «Правокумское» пробиотические продукты показали 100% профилактическую эффективность, а у белых мышей – нет? Зависит ли это от того, что Вы включили изучаемые препараты в профилактическую схему хозяйства, которая содержит, в том числе специфическую гипериммунную сыворотку?

12. Почему для получения пробиотических продуктов необходимо молоко 2,5% жирности? Как в условиях хозяйства получить рекомендуемые Вами комбинированные пробиотические препараты?

13. В выводах не отражены результаты эффективности профилактики эшерихиоза у телят при использовании ассоциаций пробиотических бактерий *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecalis* H22; *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, ATCC 29521 и *Enterococcus faecium* УДС 86, хотя такая задача перед диссертантом была поставлена и в теме диссертации она заявлена.

Отмеченные замечания и заданные вопросы носят дискуссионный характер и не снижают общей положительной оценки работы, а также её научной и практической значимости.

### **Заключение**

Диссертационная работа Васильева Никиты Владимировича «Профилактические мероприятия эшерихиоза молодняка крупного рогатого скота в Ставропольском крае» представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, выполненную автором самостоятельно на достаточно



большом материале для получения объективных данных. В ней решена важная народно-хозяйственная задача по профилактике эшерихиоза молодняка крупного рогатого скота, что является существенным вкладом в науку и практику.

Диссертационная работа по своему содержанию, новизне результатов исследований и научно-практической значимости соответствует требованиям п. 9 «Положения ВАК РФ о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании кафедры инфекционных болезней, зоогигиены и ветсанэкспертизы ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет» протокол № 12 от 30 мая 2017 г.

Зав. кафедрой инфекционных болезней,  
зоогигиены и ветсанэкспертизы  
ФГБОУ ВО Башкирский ГАУ,  
д-р биол. наук, профессор,  
Почетный работник ВПО РФ,  
Заслуженный деятель науки  
Республики Башкортостан

Андреева Альфия Васильевна

450001, г. Уфа, ул. 50-летия Октября, 34  
ФГБОУ ВО Башкирский ГАУ  
alfia\_andreeva@mail.ru, 8(347)2280659

Доцент кафедры инфекционных болезней,  
зоогигиены и ветсанэкспертизы  
ФГБОУ ВО Башкирский ГАУ,  
канд. биол. наук

Николаева Оксана Николаевна

450001, г. Уфа, ул. 50-летия Октября, 34  
ФГБОУ ВО Башкирский ГАУ  
oksananik83@mail.ru, 8(347)2280659

Подписи профессора Андреевой А. В., Николаевой О.Н. заверяю:

