



**Министерство сельского хозяйства РФ
Департамент ветеринарии
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ, РАДИАЦИОННОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ
БЕЗОПАСНОСТИ» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»)**

420075, г. Казань, Научный городок-2, тел. (843) 239-53-20, 239-53-11 тел./факс: (843) 239-71-73,
239-71-33. e-mail: vnivi@mail.ru, <http://www.vnivi.ru>, ИНН – 1660022161, КПП – 166001001

ОТЗЫВ ЗАРУБЕЖНОГО НАУЧНОГО КОНСУЛЬТАНТА

доктора биологических наук, заведующего лабораторией бактериальных патологий животных ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» Спиридонова Геннадий Николаевича на диссертационную работу Боранбаевой Карлыгаш Ерболатовны «Разработка мультиплексной полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени для выявления возбудителей инфекционного кератоконъюнктивита крупного рогатого скота», представленную на соискание ученой степени доктора философии (Ph.D.) по образовательной программе 8D09101 – «Ветеринарная медицина»

Диссертация Боранбаевой К.Е. посвящена решению проблемы по диагностике и лечению инфекционного кератоконъюнктивита крупного рогатого скота, которая выполнялась в рамках проекта «Разработать и предложить для производства мультиплексную полимеразно-цепную реакцию (ПЦР) в режиме реального времени для выявления возбудителей инфекционного кератоконъюнктивита КРС» на выполнение прикладных научных исследований в области агропромышленного комплекса на 2021-2023 годы.

Успехи в борьбе с инфекционными заболеваниями сельскохозяйственных животных несомненны - наука вооружила практику многочисленными новыми методами диагностики, средствами борьбы и эффективными специфическими препаратами. Ряд инфекционных болезней уже полностью ликвидированы, другие - утратили былое значение. Однако появляются болезни, значение которых все более возрастает, а ущерб, причиняемый ими, постоянно увеличивается. К одной из таких болезней относится инфекционный кератоконъюнктивит (ИКК), зарегистрированное во многих странах мира как высоконтагиозное заболевание глаз крупного рогатого скота.

Причиной инфекционного кератоконъюнктивита крупного рогатого скота является сочетание физического фактора и биологического

возбудителя. Ведущая роль при его возникновении принадлежит гемолитическим бактериям *Moraxella bovis* и *Moraxella bovoculi*, относящимся к роду *Moraxella*, семейству *Moraxellaceae*, на фоне солнечного ультрафиолетового облучения или других возможных предрасполагающих факторов.

Главной целью работы являлась разработка мультиплексной полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени для диагностики моракселлеза крупного рогатого скота, также разработка фитопрепарата для лечения инфекционного кератоконъюнктивита крупного рогатого скота.

Разработка мультиплексной полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени для диагностики моракселлеза крупного рогатого скота имеет большое научно-практическое значение, так как своевременное выявление возбудителя является неоспоримым доказательством наличия инфекции как нозоформы, что повлечет разработку соответствующих противоэпизоотических мероприятий.

Тест система «ПЦР-Моракселла-РВ» показала 100% специфичность для определения культур *Moraxella*, в частности ДНК *Moraxella ovis*, *Moraxella bovoculi* и *Moraxella bovis*. Чувствительность составила 21 копия, что соответствовало 50 фг в реакции.

В ходе производственных испытаний набора реагентов «ПЦР-Моракселла-РВ» для выявления ДНК *Moraxella bovoculli*, *Moraxella ovis* и *Moraxella bovis* методом мультиплексной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени была показана возможность одновременного выявления трех возбудителей инфекционного кератоконъюнктивита крупного рогатого скота, что повышает его ценность в диагностике данной болезни.

В настоящее время в связи с ухудшением экологической ситуации весьма актуальна создание новых фитопрепаратов, которые по сравнению с синтетическими оказывают не только симптоматическое, но и более эффективное патогенетическое воздействие.

В сравнительном аспекте более 30% применяемых в современной медицине препаратов получают из растительного сырья. Фитопрепараты применяются для лечения всех видов заболеваний, а в ветеринарной офтальмопатологии, к сожалению, пока еще используются недостаточно.

В отличие от синтетических лекарственных средств фитопрепараты обладают более широким диапазоном фармакотерапевтического действия, не токсичны или малотоксичны, что дает возможность применять их более длительное время без риска возникновения каких-либо выраженных побочных проявлений.

Поэтому в настоящее время разработка и внедрение в широкую ветеринарную практику новых фитопрепаратов из растительного сырья при болезнях глаз животных во всем мире имеет большое научно-практическое значение, тем более богатство флоры Республики Казахстан открывает в этом направлении широкие перспективы.

Поэтому разработка и применение новых фитопрепаратов из растительного сырья при болезнях глаз животных, внедрение их в широкую ветеринарную практику в настоящее время имеет большое научно-практическое значение во всем мире, тем более богатство флоры Республики Казахстан открывает в этом направлении широкие перспективы.

Разработанный лечебный препарат - фитомазь «КерКон» в своем составе имеет следующие лекарственные растения: трава очанки прямостоячей (*Euphrasia officinalis* L.), листья подорожника (*Plantago stepposa*), трава чабреца обыкновенной (тимьян ползучий - *Thymus serpyllum* L.), цветки ромашки (*Matricaria chamomilla* L.).

Исследованиями установлено, что комплексное применение разработанных мазей способствует биокоррекцию и бионормализацию метаболических процессов в организма больных животных, что выражается достоверным повышением количественных значений гематологических показателей, общего белка и его фракционного состава, β -лизина, лизоцима, лактоферрина, бактерицидной активности сыворотки крови. После нанесения комбинированной схемы к 10-му сутки с начала лечения выздоровление наступило у 33,3%, а полное выздоровление основной массы больных животных наступило в течении 11-16 суток (66,7%).

Обоснованность и достоверность каждого заключения, сформулированного в диссертации, не вызывают сомнений, так как работа выполнена в соответствии с методикой исследований. Приведенные выводы, вытекают из материалов, изложенных в диссертации.

Объем исследованного материала достаточен и позволил диссертанту решить все поставленные перед исследованием задачи.

Автором получены следующие научные результаты:

1. Разработана и апробирована мультиплексная полимеразно-цепная реакция (ПЦР) в режиме реального времени для выявления возбудителей инфекционного кератоконъюнктивита крупного рогатого скота;
2. Разработана и утверждена нормативно техническая документация – «Набор реагентов «ПЦР-Моракселла-РВ» для выявления ДНК *Moraxella bovoculli*, *Moraxella ovis* и *Moraxella bovis* методом мультиплексной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени»;
3. Опубликованы две статьи в рецензируемых научных изданиях, имеющий процентиль по CiteScore в базе Scopus 48 и 58;
4. Три патента на полезную модель;
5. Одна статья в рецензируемом зарубежном и три статьи в отечественных изданиях, рекомендованных КОКНВО, а также статьи в материалах международных научно-практических конференций России, Грузии и Казахстана.

Научная работа изложена достаточно компетентно и полностью раскрывает сущность проведенной работы, направленной на разработку мультиплексной полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени для выявления возбудителей инфекционного кератоконъюнктивита крупного

рогатого скота и лечебного препарата - фитомазь «КерКон» для лечения ИКК крупного рогатого скота.

На основании вышеизложенного, считаю, что выполненная соискателем Боранбаевой Карлыгаш Ерболатовной диссертационная работа на тему «Разработка мультиплексной полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени для выявления возбудителей инфекционного кератоконъюнктивита крупного рогатого скота», представленная на соискание ученой степени доктора философии (Ph.D.) по специальности 8D09101 – «Ветеринарная медицина», соответствует предъявляемым требованиям к докторским диссертациям, а ее автор, Боранбаева Карлыгаш Ерболатовна, заслуживает присуждения ученой степени доктора философии.

Зарубежный научный консультант,
д.б.н., заведующий лабораторий
бактериальных патологий животных
ФГБНУ «ФЦТРБ» ВНИВИ



Спиридонов Г.Н.

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»)

Почтовый адрес организации с индексом: 420075, г. Казань, Научный городок-2;

Контактный телефон: (843)239-53-37;

e-mail: spiridonovkzn57@gmail.com

Заверяю ученый секретарь
ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» г.Казани
Д.б.н. Зейкупова Л.И.
15 ноября 2023.



8D09101 - «Ветеринариялық медицина» білім беру бағдарламасы бойынша философия докторы (Ph.D.) ғылыми дәрежесін алу үшін ұсынылған Боранбаева Карлыгаш Ерболатовнаның «Ірі қара малдың індетті кератоконъюнктивитінің қоздырғыштарын анықтауға арналған нақты уақыттағы мультиплексті полимеразды-тізбекті реакциясын құрастыру» атты диссертациялық жұмысына БҒЗВИ «Токсикологиялық, радиациялық және биологиялық қауіпсіздік федералдық орталығы» ФМБҒМ жануарлардың бактериялық патологиялар лабораториясының меңгерушісі, б.ғ.д., Спиридонов Геннадий Николаевичтің

ШЕТЕЛДІК ҒЫЛЫМИ КЕҢЕСШІНІҢ ПІКІРІ

К.Е. Боранбаеваның диссертациясы ірі қара малдың індетті кератоконъюнктивитінің қоздырғыштарына диагностика жасау және емдеу бойынша мәселелерді шешуге арналған, 2021-2023 жылдарда аграрлық өнеркәсіп кешені саласындағы қолданбалы ғылыми зерттеулер орындауға арналған «ІҚМ жұқпалы кератоконъюнктивитінің қоздырғыштарын анықтау үшін нақты уақыт режимінде мультиплексті полимеразды-тізбекті реакцияны (ПТР) әзірлеу және өндіріске ұсыну» жобасы шеңберінде орындалған.

Ауылшаруашылық жануарларының жұқпалы ауруларымен күрестегі жетістіктер сөзсіз - ғылым тәжірибені диагностикалық көптеген жаңа әдістермен, күрес құралдарымен және тиімді арнайы препараттармен қаруландырды. Бірқатар жұқпалы аурулар толығымен жойылды, басқалары бұрынғы маңыздылығын жоғалтты. Алайда, маңыздылығы артып келе жатқан аурулар пайда болады және олардың келтірген зияны үнемі артып келеді. Осындай аурулардың біріне әлемнің көптеген елдерінде ірі қара малдың көзінің аса жұғымтал ауруы ретінде тіркелген жұқпалы кератоконъюнктивит (ЖКК) жатады.

Ірі қара малдың індетті кератоконъюнктивитінің себебі физикалық фактор мен биологиялық қоздырғыштың қосындысы болып табылады. Оның пайда болуындағы жетекші рөл күн ультракүлгін сәулелену немесе басқа ықтимал бейімділік факторлары аясында *Moraxellaceae* тұқымына, *Moraxella* тұқымдасына жататын *Moraxella bovis* және *Moraxella bovoculi* гемолитикалық бактерияларына тиесілі.

Жұмыстың негізгі мақсаты ірі қара малдың моракселлезіне диагностика жасау үшін нақты уақыт режимінде мультиплексті полимеразды-тізбекті реакцияны әзірлеу, сондай-ақ ірі қара малдың індетті кератоконъюнктивитін емдеуге арналған фитопрепаратты әзірлеу болды.

Ірі қара малдың моракселлезіне диагностика үшін нақты уақыт режимінде мультиплексті полимеразды тізбекті реакцияның дамуы үлкен ғылыми-практикалық маңызға ие, өйткені қоздырғышты уақытылы анықтау инфекцияның нозоформа ретінде болуының даусыз дәлелі болып табылады, бұл тиісті эпизоотияға қарсы іс-шаралардың дамуына әкеледі.

«НУ-Моракселла-ПТР» тест жүйесі *Moraxella* қоздырғыштарын, атап айтқанда *Moraxella ovis*, *Moraxella bovoculi* және *Moraxella bovis* ДНҚ-сын

анықтау үшін 100% ерекшелігін көрсетті. Сезімталдық 21 дананы құрады, бұл реакциядағы 50 фг-ға сәйкес келді.

Нақты уақыт режимінде мультиплексті полимеразды тізбекті реакция әдісімен *Moraxella bovoculli*, *Moraxella ovis* және *Moraxella bovis* ДНК-сын анықтау үшін «ПТР-Моракселла-РВ» реагенттер жинағын өндірістік сынау барысында ірі қара малдың жұқпалы кератоконъюнктивитінің үш қоздырғышын бір мезгілде анықтау мүмкіндігі көрсетілді, бұл оның осы ауруға диагностика жасау құндылығын арттырады.

Қазіргі уақытта экологиялық жағдайдың нашарлауына байланысты синтетикалық препараттармен салыстырғанда симптоматикалық ғана емес, сонымен қатар тиімді патогенетикалық әсер ететін жаңа фитопрепараттарды жасау өте өзекті болып табылады.

Қазіргі медицинада қолданылатын препараттардың 30%-дан астамы салыстырмалы түрде өсімдік шикізатынан алынады. Фитопрепараттар аурудың барлық түрлерін емдеу үшін қолданылады, ал ветеринарлық офтальмопатологияда, өкінішке орай, әлі де жеткіліксіз қолданылады.

Фитопрепараттардың синтетикалық дәрі-дәрмектерден айырмашылығы фармакотерапиялық әсердің кең ауқымына ие, улы емес немесе аз уытты, бұл оларды кез-келген айқын жанама әсерлердің пайда болу қауіпінсіз ұзақ уақыт қолдануға мүмкіндік береді.

Сондықтан жануарлардың көз аурулары кезінде өсімдік шикізатынан жаңа фитопрепараттарды әзірлеу және қолдану және кең ветеринариялық практикаға енгізу қазіргі уақытта бүкіл әлемде үлкен ғылыми-практикалық мәнге ие, әсіресе Қазақстан Республикасының флорасының байлығы осы бағытта кең перспективалар ашады.

Әзірленген дәрілік препарат - «КерКон» фитомазінің құрамында келесі дәрілік өсімдіктер бар: көздәрі шөбі (*Euphrasia officinalis* L.), жолжелкен жапырақтары (*Plantago stepposa*), қарапайым тасшөп (*Tymus serpyllum* L.), түймедақ гүлдері (*Matricaria chamomilla* L.).

Жүргізілген зерттеулер әзірленген майларды кешенді қолдану ауру жануарлардың ағзасындағы метаболикалық процестердің биокоррекциясы мен бионормализациясына ықпал ететіні анықтады, бұл гематологиялық көрсеткіштердің сандық мәндерінің, жалпы ақуыздың және оның фракциялық құрамының, β -лизиннің, лизоцимнің, лактоферриннің, қан сарысуындағы бактерицидтік белсенділіктің сенімді жоғарылауымен көрінеді. Аралас сызбаны қолданғаннан кейін емдеу басталғаннан бастап 10-шы тәулікке дейін 33,3% қалпына келді, ал ауру жануарлардың негізгі бөлігінің толық қалпына келуі 11-16 тәулік ішінде (66,7%) болды.

Диссертацияда тұжырымдалған әрбір қорытындының дәлелдігі мен дұрыстығы күмән тудырмайды, өйткені жұмыс зерттеу әдістемесіне сәйкес орындалады. Жоғарыда келтірілген тұжырымдар диссертацияда баяндалған материалдардан туындайды.

Зерттелген материалдың көлемі жеткілікті және диссертантқа зерттеуге қойылған барлық міндеттерді шешуге мүмкіндік берді.

Автор келесі ғылыми нәтижелер алды:

1. Ірі қара малдың жұқпалы кератоконъюнктивитінің қоздырғыштарын анықтау үшін нақты уақыт режимінде мультиплексті полимеразды-тізбекті реакция (ПТР) әзірленді және сыналды;

2. «Нақты уақыт режимінде мультиплексті полимеразды тізбекті реакция әдісімен *Moraxella bovoculli*, *Moraxella ovis* және *Moraxella bovis* ДНК анықтау үшін «НУ-Моракселла-ПТР» реагенттер жиынтығы» нормативтік техникалық құжаттама әзірленді және бекітілді;

3. Scopus 48 және 58 базасында CiteScore бойынша процентилі бар рецензияланған ғылыми басылымдарда екі мақала жарияланды;

4. Пайдалы модельге үш патент;

5. Рецензияланатын шетелдік бір мақала және ҒЖБССҚЕК ұсынған отандық басылымдардағы үш мақала, сондай-ақ Ресей, Грузия және Қазақстанның халықаралық ғылыми-практикалық конференцияларының материалдарындағы мақалалар.

Ғылыми жұмыс жеткілікті құзыретті түрде баяндалған және ірі қара малдың індетті кератоконъюнктивитінің қоздырғыштарын анықтау үшін нақты уақыт режимінде мультиплексті полимеразды-тізбекті реакциясын және ірі қара малдың ІКК емдеуге арналған «КерКон» фитомазі емдік препаратын әзірлеуге бағытталған жұмыстың мәнін толық ашады.

Жоғарыда аталғандардың негізінде, «8D09101 - «Ветеринариялық медицина» білім беру бағдарламасы бойынша философия докторы (PhD) ғылыми дәрежесін алу үшін ұсынылған Боранбаева Карлыгаш Ерболатовнаның «Ірі қара малдың індетті кератоконъюнктивитінің қоздырғыштарын анықтауға арналған нақты уақыттағы мультиплексті полимеразды-тізбекті реакциясын құрастыру» тақырындағы диссертациялық жұмысы ұсынылатын докторлық диссертацияларға сәйкес келеді, ал оның авторы Боранбаева Карлыгаш Ерболатовна философия докторы дәрежесін алуға лайықты.

Шетелдік ғылыми кеңесші,

БҒЗВИ «ТРБФО» ФМБҒМ

жануарлардың бактериялық патологиялар

лабораториясының меңгерушісі, б.ғ.д.

/қолы/

Г.Н. Спиридонов

«Токсикологиялық, радиациялық және биологиялық қауіпсіздік федералдық орталығы» ФМБҒМ (БҒЗВИ «ТРБФО-ФМБҒМ»)

Ұйымның индексі бар пошталық мекенжайы: 420075, Казань қ., Ғылыми қалашық-2;

Байланыс телефоны: (843)239-53-37;

e-mail: spiridonovkzn57@gmail.com

БҒЗВИ «ТРБФО-ФМБҒМ», Казань қ. ғылыми хатшысы куәландырамын,
б.ғ.к. Зайнулин Л.И., 15.11.2023 ж.

/Ресей Федерациясының Ауыл шаруашылық Министрлігі
«Токсикологиялық, радиациялық және биологиялық қауіпсіздік федералдық орталығы» ФМБҒМ (БҒЗВИ «ТРБФО-ФМБҒМ»)/