Отзыв

официального оппонента на диссертационную работу Забровской Анны Владленовны «Эпизоотологический анализ распространения антибиотикорезистентных штаммов возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных в Северо-Западном федеральном округе Российской Федерации», представленную к защите в диссертационный совет Д 220.059.03 при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Актуальность темы диссертационного исследования. В современных условиях ведения животноводства, при расширении экономических связей между животноводческими предприятиями, находящихся в различных регионах Российской Федерации и за рубежом, вопрос предотвращения распространения штаммов микроорганизмов – возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных приобретает особую актуальность.

В последние десятилетия происходит увеличение количества устойчивых к антибиотикам и дезинфектантам микроорганизмов, выделенных от сельскохозяйственных животных и из продукции животноводства. При использовании антимикробных препаратов устойчивые микроорганизмы имеют преимущество перед чувствительными, поэтому инфекции, вызываемые такими возбудителями, имеют тенденцию к широкому распространению среди поголовья. Лечение таких животных становится более сложным, мало результативным и весьма затратным Инфекционные болезни, вызванные устойчивыми к антибиотикам микроорганизмами, протекают тяжелее.

Продукция животноводства, полученная от животных, инфицированных устойчивыми к антимикробным средствам микроорганизмами, является потенциальным источником этих агентов для человека. Таким образом, распространение резисентных штаммов является важной народно-хозяйственной проблемой, касающейся не только лечения животных и биологической безопасности продуктов питания, но и благополучия населения нашей страны. Исходя из этого, тема диссертационной работы А.В. Забровской, является весьма актуальной.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе. Работа выполнена в период с 2004 по 2016г. в лаборатории кишечных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера и является составной частью НИР по теме «Совершенствование лабораторной диагностики бактериальных возбудителей диарейных заболеваний. Генетическое разнообразие факторов вирулентности, механизмов резистентности к антимикробным препаратам».

Цель работы четко сформулирована, задачи исследования являются ее логическим развитием. Использованные автором многочисленные методы исследования, включая не только классические бактериологические, но и современные молекулярно-генетические, картографические соответствуют решению поставленных задач.

Полученные результаты оформлены в виде таблиц и графиков, тщательно проанализированы и систематизированы. Значительный объем исследований позволил провести статистическую оценку и подтвердить достоверность заключений автора. Статистический анализ осуществлен построением динамических рядов с помощью программы Microsoft Exel 2007. Уровень значимости (p) вычисляли с помощью on-line калькулятора biometroca.ru

Научные положения, выводы и предложения, изложенные в диссертационном исследовании, являются обоснованными, отражают результаты всех разделов исследований, аргументированы большим фактическим материалом и грамотно сформулированы.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе. Научная новизна работы Забровской А.В. заключается в том, что на основании анализа многолетних данных по выделению 1731 штамма *Salmonella*, принадлежащих к 71 серовару, от сельскохозяйственных животных (крупный рогатый скот, свиньи, домашняя птица), из продуктов животного происхождения и кормов на территории Северо-Западного ФО РФ в 2006-2016 гг. впервые установлено доминирование сероваров *S. enteritidis*, *S. infantis* и *S. typhimurium*, имеющих большое эпизоотологическое значение и широкое распространение их среди людей.

Выявлено различие в соотношении чувствительных и устойчивых (в том числе полирезистентных) штаммов у сероваров вышеназванных видов *Salmonella*, выделенных от птицы, свиней, крупного рогатого скота и продукции, полученной от животных этих видов.

Сравнительный анализ чувствительности к антимикробным препаратам значительного количества штаммов *Salmonella* и условно патогенных микроорганизмов, таких как: *Escherichia coli, Enterobacter kobei, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca, Klebsiella ozenae, Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilis*, выделенных от продуктивных животных (крупный рогатый скот, домашняя птица) и из разных видов продукции животноводства на территории Северо-Западного ФО РФ показал, что удельный вес резистентных микроорганизмов среди исследованных штаммов условно патогенных микроорганизмов достоверно выше, чем у сальмонелл.

Впервые определены генетические детерминанты устойчивости к хинолонам и β-лактамным антибиотикам расширенного спектра у штаммов сальмонелл и условно патогенных микроорганизмов, выделенных от продуктивных животных и из продукции животноводства на территории Ленинградской области.

Показана возможность использования геоинформационных систем для эпизоотологического анализа распространения антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов у сельскохозяйственных животных.

Факт личного участия автора не вызывает сомнений. На основании тщательного анализа научной литературы по проблеме устойчивости микроорганизмов к антимикробным препаратам были сформулированы цель и задачи исследования. Для реализации цели и задач были выбраны методики исследования и анализа способы анализа полученных данных, которые позволили четко сформулировать выводы и дать предложения производству. Материалы диссертации прошли апробацию на международных и всероссийских научно-практических конференциях.

Результаты исследований, составляющих основу диссертационной работы, отражены в 35 научных работах, в том числе 13 опубликованы в изданиях, включенных ВАК Министерства образования и науки РФ в Перечень российских рецензируемых научных журналов для опубликования основных научных результатов диссертации, из них 2 статьи опубликованы в издании, размещенном на платформе Web of Science, двух аналитических обзорах, одной монографии, четырех Методических рекомендациях.

Рекомендации по использованию результатов исследований. В работе Забровской А.В. показана возможность эпизоотологического анализа распространения устойчивых к антибиотикам штаммов с помощью картографии, что можно экстраполировать на любой микроорганизм. Использование профиля антибиотикорезистентности в качестве метки также может быть полезно для ветеринарных врачей-эпизоотологов.

Принципы микробиологического мониторинга распространения штаммов микроорганизмов, устойчивых к антимикробным препаратам, могут быть полезны для ветеринарных специалистов, как на животноводческом предприятии, так и на региональном уровне при разработке мероприятий по предотвращению возникновения и распространения резистентных штаммов.

Препарат «Аргумистин®», использованный автором для лечения телят с болезнями желудочно-кишечного тракта, является эффективным и малотоксичным. Механизмы устойчивости микроорганизмов к данному препарату еще не выявлены, поэтому применения «Аргумистин®» для лечения инфекционных болезней является перспективным.

Представляется необходимым проведение дополнительных исследований бактерицидной активности данного препарата в отношении других возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных.

Полирезистентный штамм *S. typhimurium*, штаммы *E. coli* серологических групп O18, O26, O103 и O137, относящиеся к энтерогеморрагическим, а также вирулентный полирезистентный штамм *Klebsiella pneumoniae*, депонированные автором во «Всероссийской государственной коллекции штаммов микроорганизмов, используемых в ветеринарии и животноводстве», находящейся в федеральном государственном бюджетном учреждении «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»), могут быть использованы в качестве производственных при конструировании и изготовлении биопрепаратов, а также в качестве референтных при изучении механизмов устойчивости к антимикробным препаратам, использоваться специалистами ветеринарных лабораторий в сличительных опытах при индикации и идентификации возбудителей инфекционных болезней.

Соответствие диссертации, автореферата и публикаций критериям «Положение о присуждении ученых степеней». Диссертационная работа Забровской А.В. оформлена в соответствии с требованиями, предъявляемым ВАК к докторским диссертациям. Изложенный в работе материал полностью отражает поставленные цель и задачи. Автореферат оформлен методически верно. Выводы и практические предложения в автореферате и диссертации идентичны. Диссертация и автореферат соответствуют критериям «Положения о присуждении ученых степеней».

Оценка содержания, завершенность работы и качество оформления диссертации. Материал диссертационной работы изложен на 323 страницах компьютерного текста, и содержит следующие разделы:

введение, обзор литературы, собственные исследования (материалы и методы, результаты, обсуждение), заключение, список сокращений, список литературы, приложения. Текст работы иллюстрирован 52 рисунками, 5 фотографиями и содержит 34 таблицы.

Во введении диссертант обосновывает актуальность, формулирует цель и задачи исследования, обосновывает научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, методологию исследования, степень разработанности проблемы, положения, выносимые на защиту, сведения об апробации работы.

Обзор литературы обобщает научные данные по широкому спектру вопросов, которым посвящена данная работа. Проанализировано значительное количество источников литературы отечественных и зарубежных авторов, опубликованных, в основном, в последние 10 лет. Список использованной литературы состоит из 318 источников научной литературы, в том числе 72 отечественных и 246 зарубежных авторов.

В разделе «Материалы и методы» подробно описаны все использованные автором методики, схемы проведения экспериментов.

Раздел «Результаты исследований» автор начинает с эпизоотологического анализа выделения штаммов сальмонелл от животных, из продукции животноводства и из кормов на территории Северо-Западного ФО в 2006-16 гг. Обращает на себя внимание, что серотиповой состав штаммов сальмонелл, выделенных от продуктивных животных конкретного вида и из продукции животноводства, полученной от животных данного вида, существенно отличается.

Далее автор анализирует результаты исследования чувствительности к антимикробным препаратам микроорганизмов, выделенных от животных, из продукции животноводства и кормов на территории Северо-Западного ФО, проведенного с 2004 по 2016 гг. Отдельно были проанализированы штаммы сальмонелл и условно патогенных микроорганизмов, выделенных из различного биологического и патологического материала.

Для штаммов сальмонелл, выделенных в Ленинградской области. Автором была сформирована отдельная база данных, на основании которой проведена визуализация результатов исследования чувствительности к антимикробным препаратам с помощью географической информационной системы QGis (версия 2.18).

Отдельный подраздел посвящен изучению механизмов резистентности устойчивых микроорганизмов к препаратам группы хинолонов и цефалоспоринов расширенного спектра с помощью молекулярно-генетических методов. У штаммов S. Enteritidis и S. Infantis, устойчивых к

фторхинолонам, были обнаружены точечные мутации в гене *gyrA*. С помощью полимеразной цепной реакции со специфическими праймерами было установлено, что фенотипическая устойчивость штаммов сальмонелл и условно патогенных микроорганизмов к цефалоспоринам расширенного спектра была ассоциирована с наличием генов $bla_{\text{CTX-M}}$, $bla_{\text{CTX-M group 1}}$, $bla_{\text{CTX-M group 9}}$, bla_{CMY}, bla_{TEM}, кодирующих продукцию β-лактамаз расширенного спектра.

На основании рекомендаций ВОЗ и результатов собственных исследований автор предлагает систему мониторинга чувствительности к антимикробным препаратам микроорганизмов – возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных, а также мероприятия, направленные на предотвращение возникновения и распространения устойчивых штаммов микроорганизмов.

Разделы 2.2.7 и 2.2.8 посвящены результатам эпизоотологического обследования ЗАО «Предпортовый» и применению противомикробного препарата на основе наночастиц серебра «Аргумистин®» в качестве альтернативного средства антимикробной терапии животных при лечении телят с болезнями желудочно-кишечного тракта бактериальной этиологии, содержавшихся в данном хозяйстве. Доказана экономическая эффективность применения данного препарата, которая составляет 6,03 руб. на 1 рубль затрат.

Разделы работы связаны по смыслу, каждая глава посвящена отдельным этапам исследования и заканчивается кратким подведением итогов.

В разделе «Обсуждение результатов» диссертантом всесторонне проанализированы результаты собственных исследований в сопоставлении с данными отечественной и зарубежной литературы, проведен хронологический анализ 2004-16гг. с периодом 1983-1993гг, полученных автором в ходе выполнения кандидатской диссертации.

Представленные Забровской А.В. результаты исследований и их многосторонний анализ свидетельствуют о том, что сформулированная в работе цель достигнута, а поставленные задачи в целом решены. Материал изложен последовательно и логично.

В разделе «Заключение» на основании полученных результатов сформулированы выводы и рекомендации производству. Выводы четко сформулированы, достаточно аргументированы и объективны, полностью отражают цель и задачи, поставленные в данной работе.

Работа оформлена в соответствии с действующими нормативными документами, в достаточной степени проиллюстрирована таблицами, рисунками и фотографиями.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации. Автореферат включает в себя общую характеристику работы, основную часть, заключение, выводы, практические предложения, список опубликованных работ по теме диссертации. Выводы и практические предложения идентичны в автореферате и диссертации. Автореферат соответствует положениям диссертации и отражает основное её содержание.

Замечания, вопросы и пожелания. В целом оценивая диссертационную работу Забровской А.В. положительно, хотелось бы указать на ряд замечаний и получить ответы на возникшие вопросы:

1. Почему состав серотипов штаммов сальмонелл, выделенных от животных и из продукции животноводства, имеют столь существенные различия?
2. Чем может быть обусловлена разница долей чувствительных и устойчивых штаммов у сальмонелл и условно патогенных микроорганизмов?
3. Почему для определения бактерицидной активности препарата «Аргумистин®» не применяли метод серийных разведений?
4. Как Вы представляете себе комплекс мероприятий по предотвращению возникновения и распространения резистентных штаммов в рамках отдельного хозяйства?
5. В диссертационной работе содержатся отдельные опечатки, есть незначительные замечания к дизайну графиков.

Отмеченные замечания и недостатки не носят принципиального значения и не снижают общей положительной оценки диссертационной работы.

Заключение. Диссертация Забровской А.В. «Эпизоотологический анализ распространения антибиотикорезистентных штаммов возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных в Северо-Западном федеральном округе Российской Федерации» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной автором на высоком научном уровне. В работе изложены результаты, позволяющие классифицировать их как научно обоснованные разработки, имеющие существенное научное и практическое значение в области ветеринарной микробиологии.

Учитывая актуальность выполненных исследований, научную новизну и практическую значимость полученных результатов, диссертационная работа Забровской А.В., соответствует требованиям п. 9 «Положение о

порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской федерации № 842 от 24.09.2013 года, предъявляемым к докторским диссертациям, а её автор Забровская Анна Владленовна заслуживает присуждения ученой степени доктора ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Официальный оппонент:
доктор ветеринарных наук, профессор,
профессор кафедры эпизоотологии и паразитологии
ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ имени Н.Э. Баумана,
заслуженный деятель науки Республики Татарстан

Равилов Рустам Хаметович

Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э.Баумана», 420029, г. Казань, Сибирский тракт, 35.
Тел. 8(843)273-96-17, E-mail: rustam.ravilov@mail.ru
Сайт организации: http://kazanveterinary.ru

Подпись Равилова Р.Х.
ЗАВЕРЯЮ: Николаев Ю.В.
Ученый секретарь
федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана»
«26» 02 2019 г.