

**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
П.А.СТОЛЫПИНА»
(ФГБОУ ВО Омский ГАУ)**

644008, г. Омск-8, ул. Институтская площадь, 1, тел. (3812) 65-11-46, факс 65-17-35

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора ветеринарных наук, профессора Плешаковой Валентины Ивановны на диссертацию Прасоловой Ольги Владимировны на тему: «Биологические характеристики представителей нормобиоты и патогенной микрофлоры, выделенных от сельскохозяйственных животных», представленную к защите в диссертационный совет 35.2.034.01 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук по специальности 4.2.3 Инфекционные болезни и иммунология животных.

Актуальность темы. Развитие животноводства и птицеводства в России невозможно без обеспечения эпизоотического благополучия по инфекционным болезням, в том числе бактериальной этиологии. Проблема профилактики инфекционных болезней сложна и многогранна на современном этапе, когда развитие животноводства осуществляется на основе специализации, концентрации и создания промышленных комплексов.

В основу актуальности данной работы положено выполнение Федерального Закона «О биологической безопасности в Российской Федерации» от 30.12.2020 № 492 с указанием основных биологических опасностей, связанных, в том числе, с изменением свойств патогенов, создание патогенов с помощью генной инженерии. Закон регламентирует обязательное депонирование всех штаммов микроорганизмов, используемых при производстве биопрепаратов, формирование государственных коллекций, как патогенных микроорганизмов, так и пригодных для приготовления диагностических препаратов, тест-систем.

Эпизоотическое благополучие во всём мире по многим инфекциям пока контролируется благодаря массовой иммунизации. Учёные нашей страны ведут глубокие

исследования биологической природы возбудителей на уровне генов в целях повышения качества биопрепаратов.

Применение вакцин, созданных с помощью современных методов генной инженерии с заданными свойствами, создаёт перспективы в поддержании эпизоотического преимущества животноводства в стране.

В промышленном птицеводстве значительное распространение получили бактериальные патогены, вызывающие респираторную патологию, диагностика которых затруднена до настоящего времени. Важным направлением в ветеринарии в последние годы стал масштабный мониторинг распространения антимикробной резистентности, в том числе на основе современных молекулярно-генетических методов.

Изучение генетического разнообразия кишечной микробиоты - ценный инструмент при разработке кормовых добавок и лекарственных препаратов, нормализующих энтеробиоценоз. Сравнение свойств выделенных изолятов со свойствами штаммов из международных репозиторий предполагает осуществлять процедуру импортозамещения.

В связи с вышеуказанным, цель научных исследований Ольги Владимировны весьма актуальна, так как направлена на обеспечение стойкого благополучия по инфекционным болезням животных.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Диссертантам сформулирована чёткая цель исследования, которой соответствуют задачи и содержание диссертационной работы. Решение поставленных задач проводилось на современном доказательном уровне. Использование комплексного подхода при изучении биологических свойств возбудителей инфекционных болезней позволило разработать алгоритмы дифференциации штаммов, входящих в состав биопрепаратов, диагностических тест-систем.

Научная новизна. Впервые осуществлен комплексный биоинформатический анализ геномов 6 вакцинных и диагностических штаммов *V. abortus*, полногеномные последовательности которых размещены в международной открытой базе «Национальный центр биотехнологической информации». Разработаны методики на основе ПЦР-РВ для идентификации генетического материала *O. rhinotracheale* и *A. paragallinarum*, обладающие высокой чувствительностью и специфичностью. Впервые исследованы биологические свойства диких штаммов сальмонелл, выделенных в различных регионах РФ. Выделенные изоляты депонированы во «Всероссийской государственной коллекции штаммов микроорганизмов, используемых в ветеринарии и

животноводстве» *Salmonella enterica* ВКШМ-Б-850, *Salmonella infantis* ВКШМ-Б-896М. Штаммы использованы при разработке методик на основе ПЦР-РВ для идентификации генетических детерминант, характеризующих устойчивость бактерий к тетрациклинам — (патент № 2794156, 2023), аминогликозидам — (патент № 2816522, 2024) и системы праймеров и зонда для детекции бактерий семейства Enterococcaceae (патент № 2824466, 2024). Осуществлен мониторинг распространения детерминант резистентности, полученные данные систематизированы и переведены в формат базы данных (свидетельство о регистрации № 2024622488, 2024). Выделен и охарактеризован штамм бактерий *Campylobacter jejuni* ВКШМ-Б897М (патент № 2796348, 2023), рекомендованный в качестве референтного при определении чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Выделен и охарактеризован штамм бактерий *Escherichia coli* ВКШМ-Б-891М (патент № 2797383, 2023) для определения бактерицидного эффекта антимикробных препаратов, применяемых в ветеринарии. Получены справки о депонировании выделенных штаммов микроорганизмов с присвоением коллекционного каталожного номера. Качественные и количественные исследования таксономического состава микробиома толстого кишечника молодняка птицы яичного направления в период роста, при использовании и отмене антибиотика с помощью метагеномного секвенирования, систематизированы, переведены в формат баз данных и рекомендованы для формирования перечня фонда государственной коллекции нормальной микрофлоры сельскохозяйственных животных.

Практическая значимость и реализация результатов работы. Полученные результаты легли в основу разработки Положения о «Всероссийской государственной коллекции штаммов микроорганизмов, используемых в ветеринарии и животноводстве» и «Правил депонирования и выдачи штаммов микроорганизмов Всероссийской государственной коллекции штаммов микроорганизмов, используемых в ветеринарии и животноводстве, федерального государственного Центра качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов». Отдельные положения легли в основу проекта Федерального закона от 30.12.2020 № 492-ФЗ «О биобезопасности», постановления Правительства РФ «Об утверждении Порядка создания, пополнения, ведения и использования коллекций патогенных микроорганизмов и вирусов», а также постановления «Об утверждении Правил формирования, сохранения и развития государственной коллекции представителей нормальной микрофлоры человека, сельскохозяйственных животных и растений, а также криогенных банков образцов природных нормальных микробиоценозов. Результаты исследования являются основой

для совершенствования лабораторной диагностики бруцеллеза животных и позволят снизить риски, связанные с распространением этой инфекции на территории РФ, а также улучшить контроль за качеством и безопасностью противобруцеллезных иммунобиологических препаратов. Применение диагностических тестов для обнаружения ДНК *A. paragallinarum* и *O. rhinotracheale*, с использованием ПЦР-РВ улучшит дифференциальную диагностику респираторных болезней у кур и индеек. Полирезистентные штаммы сальмонелл использованы в качестве положительных контролей для создания методик с целью идентификации генетических детерминант резистентности. Соискателем разработаны, валидированы, утверждены и внедрены в практику в виде готовых тест-систем наборы реагентов для идентификации генетических детерминант устойчивости к аминогликозидам и тетрациклинам.

Степень достоверности и апробация работы. Достоверность представленных результатов подтверждается большим объемом экспериментального материала, репрезентативной выборкой анализируемых данных и их статистической обработкой. Выводы, сформулированные в работе, основаны на анализе современной научной литературы, экспериментальных данных, обработке полученных результатов с помощью методов вариационной статистики и метрологической экспертизой разработанных методик.

Основные результаты исследований обсуждены и одобрены на: заседаниях Ученого совета ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (2019, 2020, 2021, 2022, 2023, 2024); научно-технического совета Россельхознадзора (Москва, 2019, 2020, 2021, 2022, 2023, 2024), 31st International congress of Antimicrobial Chemotherapy and 4th Gulf Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, (Dubai, 2019), международной научной конференции «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны», (Санкт-Петербург, 2021), Международной научно-практической конференции Молекулярная диагностика (Москва, 2021); XIII Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского (Санкт-Петербург, 2021); национальной научно-практической конференции «Актуальные вопросы биологии, биотехнологии, ветеринарии, зоотехнии, товароведения и переработки сырья животного и растительного происхождения» (Москва, 2021); Международной научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные аспекты микробиологии в науке и образовании» (Рязань, 2022); Международной научно-практической конференции «Экономически и социально значимые инфекции сельскохозяйственных животных:

меры профилактики и борьбы» (Москва, 2022); Международной научно-практической конференции молодых ученых «Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов» (Лосино-Петровский, 2022); IV International Scientific Conference «Microbiota of humans and animals» (St. Petersburg, 2022); Всероссийской научной конференции «Генетические ресурсы микроорганизмов как основа создания средств диагностики и профилактики болезней животных, обеспечение безопасности продовольствия и охрана объектов культурного наследия» (Санкт-Петербург, 2022); II Международной молодежной конференции «Генетические и радиационные технологии в сельском хозяйстве» (Обнинск, 2023); II Международной научно-практической конференции «Социально значимые инфекции сельскохозяйственных животных: меры профилактики и борьбы» (Ереван, 2023); II Всероссийской научной конференции «Биологические ресурсы и цифровизация» (Москва, 2023); Международном конгрессе МАКМАХ по антимикробной химиотерапии и клинической микробиологии (Москва, 2019, 2022–2024); Выездном заседании бюро отделения сельскохозяйственных наук РАН (Дубровицы, 2024).

Оценка содержания, завершенность работы и качества её содержания.

Представленная диссертационная работа оформлена по общепринятому плану в виде одного тома. Титульный лист соответствует установленным требованиям. Диссертация содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, материал и методы исследования, результаты собственных исследований и их обсуждение, заключение, рекомендации по использованию полученных результатов, список сокращений и условных обозначений, список литературы, приложения. Общий объём диссертационной работы составляет 286 страниц компьютерного текста, включает 71 таблицу, 52 рисунка. Список литературы включает 252 источника, в том числе 52 отечественных и 200 иностранных авторов. Основные научные результаты диссертации опубликованы в 39 печатных работах, 7 из которых опубликованы в изданиях, входящих в базы данных Scopus / Web of Sains (4-Q1), 7 статей - в журналах, включённых ВАК в перечень рецензируемых научных журналов при Министерстве образования и науки Российской Федерации, получено 10 патентов Российской Федерации на изобретения.

Во «Введении» соискатель мотивированно обосновывает актуальность темы исследования, логично формулирует цель, задачи, описывает степень разработанности проблемы, обобщает основные положения, выносимые на защиту, формулирует научную новизну, практическую значимость и реализацию работы. Кроме того, в указанной главе автор представляет сведения об апробации.

В главе «Обзор литературы» автор раскрывает вопросы формирования коллекций микроорганизмов, как в международном, так и в историческом аспектах. В России наибольшее значение имеют государственные организации, которые являются современными биоресурсными центрами, обеспечивающими хранение, комплексное изучение, с использованием современных методов, штаммов и пополнение за счёт национального и/или международного депонирования.

Формирование, сохранение и развитие национальной коллекции патогенных микроорганизмов является основной задачей государственной политики в области обеспечения химической и биологической безопасности.

Количество исследований по разработке вакцин, профилактирующих инфекционные болезни во всём мире увеличилось, но только 23% представляют собой традиционные инаktivированные или аттенуированные, а основная часть разработок сопровождается с использованием генетически модифицированных организмов.

Значительное внимание соискателя уделено изучению мер специфической профилактики бруцеллёза с подробным описанием биологических свойств микроорганизмов на уровне достижений в области молекулярно-генетических методов. Проведён анализ штаммов *Brucella*, используемых для специфической профилактики бруцеллёза крупного и мелкого рогатого скота на территории Российской Федерации (*B. abortus* 19, *B. melitensis* REV 1).

В отдельном разделе описаны биологические свойства и систематика возбудителей бактериальных болезней птиц (*A. paragallinarum* и *O. rhinotracheale*), причиняющих серьёзный экономический ущерб птицеводству. Диагностика инфекции затруднена, так как в России отсутствуют валидированные и одобренные диагностические ПЦР-тесты для выявления ДНК возбудителей в клиническом материале, а потребность в них неоспорима. Идентификация патогенов, циркулирующих в стаде, с помощью ПЦР может послужить основанием для выбора стратегии вакцинации, но серьёзным препятствием является генетический полиморфизм бактерий. Соискателем проведён анализ публикаций по разработке тестов на основе ПЦР с учётом их чувствительности.

В разделе 2.5. описана эпизоотическая обстановка по сальмонеллёзам в РФ и методы субтипирования сальмонелл. На территории страны используется более 30 вакцин против сальмонеллёза животных, большинство из них инаktivированные, изготовленные на основе производственных штаммов *S. choleraesuis* 370, *S. typhimurium* 371 и *S. dublin* 373, селекционированных в ФГБУ «ВГНКИ». В настоящее время разработаны методы молекулярного серотипирования, основанные на оценке генетических маркеров. Анализ научных публикаций позволил автору предположить возможность применения CRISPR

технологии для серотипирования сальмонелл.

В главе 3 «Собственные исследования» автор подробно описывает используемые материалы и методы исследований. Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» в соответствии с тематическими планами научно-исследовательских работ «Ветеринарный мониторинг резистентности бактерий к антимикробным средствам» и «Диагностика состояния нормальной микробиоты желудочно-кишечного тракта сельскохозяйственной птицы под воздействием антимикробных и пробиотических препаратов для разработки и осуществления мер по ее сохранению или восстановлению».

Полногеномное секвенирование штаммов *V. abortus*, выполнено в рамках гранта Министерства науки и образования на базе ФГБУ «ВГНКИ» и БРЦ ВКПМ НИЦ КИ ГосНИИ генетика. Разработка методик на основе ПЦР-РВ для идентификации ДНК *A. paragallinarum* и *O. rhinotracheale* и исследование биологических свойств штаммов сальмонелл выполнены в рамках гранта «Создание комплекса средств защиты против экономически и социально значимых болезней животных на основе отобранных методами геномного секвенирования производственных штаммов микроорганизмов».

Штаммы *V. abortus* были получены из государственной коллекции Россельхознадзора ФГБУ «ВГНКИ». Для построения филогенетического древа выбраны геномы вакцинных штаммов и полевых изолятов бруцелл из базы данных NCBI ($n=29$). Для проверки специфичности разработанных методик идентификации *O. rhinotracheale* и *A. paragallinarum* использовали штаммы, предоставленные «Всероссийской государственной коллекцией микроорганизмов, используемых в ветеринарии и животноводстве», ФГБУ ВГНКИ ($n=25$). При подборе олигонуклеотидов использовали последовательности 45 изолятов *A. paragallinarum*. Для разработки методики идентификации ДНК возбудителя орнитобактериоза использовали 16 последовательностей изолятов *O. rhinotracheale*. Для исследования биологических свойств штаммов *Salmonella* применяли классические бактериологические методы. В работе использовали коллекционные штаммы *Salmonella* ($n=34$) и полевые изоляты ($n=24$). С целью оценки наличия генетических детерминант резистентности осуществлен отбор 263 образцов от клинически здоровых животных и с объектов их содержания. Пробы были отобраны на животноводческих и птицеводческих комплексах в шести федеральных округах РФ: Северо-Кавказском, Дальневосточном, Сибирском, Северо-Западном, Приволжском, Уральском и Центральном.

Для анализа резистентности изоляты *E. faecalis* и *E. faecium* были протестированы на устойчивость к 12 антимикробным препаратам из 11 классов с использованием метода микроразведений в бульоне.

Для выбора праймеров и оценки их качества был использован онлайн-ресурс «PrimerQuest Tool» (IDT), PCR Primer Stats, Oligo Analysis Tool. Специфичность праймеров оценивали на онлайн-ресурсе «Primer-Blast». С целью выявления генов резистентности к аминогликозидам были проанализированы данные из базы Pathogen Detection (NCBI)], которая содержит информацию из разных стран об изолятах, выделенных из различных источников. Полногеномное и таргетное секвенирование проводили на системе MiSeq (Illumina) согласно стандартной операционной процедуре. Для биоинформатического анализа данных полногеномного секвенирования и сборки геномов использовали собственные программы. Поиск генов антибиотикорезистентности проводили при помощи онлайн-сервиса ResFinder 4.1.

В главе 3.2. представлены результаты исследований, а именно молекулярно-генетические особенности штаммов *B. abortus*, используемых с целью производства средств специфической профилактики бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота. Всего было осуществлено полногеномное секвенирование шести штаммов *Brucella abortus*, результаты которого были использованы для построения филогенетического дерева с применением дополнительно геномов вакцинных штаммов и полевых изолятов из базы данных NCBI. Следует отметить, что вакцинный штамм 104М, переданный в Китай 60 лет назад, приобрел более 60 уникальных SNP по сравнению с российским коллекционным штаммом.

Полученные данные полногеномных последовательностей всех штаммов *B. abortus* являются предпосылкой для совершенствования диагностики бруцеллеза животных, а также позволят снизить риски, связанные с распространением инфекции на территории РФ, улучшить контроль за качеством и безопасностью противобруцеллезных иммунобиологических препаратов.

В разделе 3.2.2. соискателем отражены данные биоинформатического анализа изолятов *O. rhinotracheale* и *A. paragallinarum*. Изученный штамм *O. rhinotracheale* OR-21 является аналогом штаммов из мировых репозиториях, может быть использован как с целью производства средств специфической профилактики орнитобактериоза птиц, так и для совершенствования средств диагностики болезни. Соискателем осуществлена разработка и валидация методик идентификации ДНК *O. rhinotracheale* и *A. paragallinarum*.

В результате проведенных исследований по изучению биологических свойств и генетических характеристик *A. paragallinarum* и *O. rhinotracheale*, выделенных на

территории РФ, разработаны экспресс методики идентификации возбудителей орнитобактериоза и инфекционного ринита птиц на основе ПЦР-РВ.

В разделе 3.2.3. Ольгой Владимировной приведены результаты исследования биологических свойств и генетических характеристик коллекционных и полевых штаммов сальмонелл, поступивших во Всероссийскую коллекцию штаммов микроорганизмов, используемых в ветеринарии и животноводстве ФГБУ «ВГНКИ» (1939–1980 гг.).

Для изучения вирулентности штаммов сальмонелл отобраны *S. enteritidis*, *S. infantis*, *S. typhimurium*, *S. dublin*, *S. choleraesuis*. Высокая вирулентность выявлена у производственных штаммов сальмонелл и у штаммов, принадлежащих к серовару *S. enteritidis*. Наиболее низкой вирулентностью обладали коллекционные и эпизоотические штаммы серовара *S. infantis*. Соискателем изучена иммуногенность штаммов сальмонелл. При этом, наиболее высокой иммуногенностью обладают производственные штаммы *S. typhimurium* № 371, *S. dublin* № 373 и *S. choleraesuis* № 370. Их иммуногенность была в 10–20 раз выше, чем у коллекционных и полевых штаммов соответствующих сероваров сальмонелл. Среди сальмонелл сероваров *S. enteritidis* и *S. infantis* высокоиммуногенных штаммов, перспективных для использования в качестве производственных, не обнаружено. По мнению автора, это связано с высокой нестабильностью и диссоциацией культур исследованных штаммов этих сероваров.

По результатам полногеномного секвенирования полевых штаммов сальмонелл получено два патента:

1. Штамм бактерий *Salmonella enterica* (ser. *Infantis*) в качестве контрольного штамма для фенотипических и молекулярных исследований в диагностике сальмонеллеза (2021). Штамм бактерий *S. enterica* депонирован во «Всероссийской коллекции штаммов микроорганизмов, используемых в ветеринарии и животноводстве» в качестве контрольного штамма, необходимого для обеспечения диагностики сальмонеллеза, ассоциированного с антибиотикорезистентностью.
2. Штамм бактерий *Salmonella infantis*, используемый в качестве положительного контроля для молекулярно-генетических, а также микробиологических исследований, связанных с определением чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (2022).

Штамм *S. infantis* под номером ВКШМ-Б-896М, обладает множественной устойчивостью к антимикробным препаратам.

В изоляте выявлены мобильные элементы для горизонтального переноса генов резистентности к аминогликозидам, сульфаниламидам, триметприму.

Соискателем осуществлено изучение биологических свойств как производственных штаммов микроорганизмов для изготовления вакцин с целью профилактики сальмонеллеза животных, так и полевых изолятов. Полученные данные являются предпосылкой для совершенствования диагностики сальмонеллёза животных, особенно при наличии у возбудителя резистентности к антимикробным средствам.

Соискателем разработан способ обнаружения генов устойчивости к аминогликозидам из группы бактерий животного происхождения методом ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» (2024). Разработан набор олигонуклеотидов для выявления генов устойчивости к тетрациклинам у бактерий методом ПЦР с детекцией в режиме реального времени (2023). Разработанная методика подходит для выявления генов резистентности к тетрациклинам (*tetA*, *tetM* и *tetO*) у грамотрицательных и грамположительных бактерий методом ПЦР с детекцией в режиме реального времени.

В результате проведенных исследований соискателем разработана и валидирована система олигонуклеотидов для идентификации представителей семейства *Enterococcaceae*. Результаты исследований по идентификации генов резистентности в рамках ветеринарного мониторинга систематизированы в виде базы данных, свидетельство о государственной регистрации № 2024622488 РФ.

Результаты нашли отражение в выводе диссертации, где описано наличие детерминант антимикробной резистентности к основным классам антибиотиков в полученных образцах ДНК. 95 % образцов ($n=249$), протестированных на наличие генетических маркеров резистентности, показало наличие генов, связанных с устойчивостью по меньшей мере к двум классам антибиотиков широкого спектра действия.

С помощью разработанных методик выявлены и идентифицированы маркеры резистентности, присутствующие в микробиоме образцов материала от клинически здоровых животных и объектах окружающей среды в животноводческих и птицеводческих хозяйствах.

Соискателем проведен мониторинг внутривидового разнообразия нормальной микрофлоры толстого кишечника птицы с использованием классической бактериологии и молекулярно-генетических методов. В рамках этого раздела соискатель провёл сравнение биологического разнообразия просветной и мукозной микрофлоры на уровне типов, классов, порядка, семейств, родов. Применение метода метагеномного секвенирования дополняет знания биологического разнообразия кишечной микробиоты.

Соискатель провёла метагеномный анализ таксономического состава микробиома толстого кишечника птиц при использовании и отмене антибиотика. В результате было

выявлено влияние антибиотика на популяционный уровень энтерококков, которое сохранялось с 8-го дня (начало применения препарата) и до 8-го дня после его отмены. Также было зафиксировано негативное снижение популяционного уровня *E. coli* и только после отмены антибиотика отмечено его медленное восстановление. В табл. 68 (с. 166-176) представлены профили метаболических путей у цыплят опытной и контрольной групп. Зафиксировано два пика смещения метаболических путей метагеномного сообщества слепых отростков кишечника цыплят под воздействием энрофлоксацина.

Соискателем сформировано 755 образцов нормальных микробиоценозов и выделено 174 штамма микроорганизмов.

Перспективным, по нашему мнению, является патентование штамма бактерий *Campylobacter jejuni* для микробиологических исследований, связанных с определением чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (2023). Данный штамм выделен из фекалий крупного рогатого скота, депонирован во «Всероссийскую коллекцию штаммов микроорганизмов, используемых в ветеринарии и животноводстве» (ВКШМ-Б-897М).

Так же запатентован полирезистентный штамм *Escherichia coli* для определения бактерицидного действия антибактериальных препаратов в ветеринарии (2023). Штамм *Escherichia coli*, имеет фенотипическую устойчивость к 11 антимикробным препаратам. Результаты исследований были подвергнуты статистической обработке с использованием методов параметрического и непараметрического анализа.

В главе 4 «Обсуждение» автор в дискуссионной форме с отечественными и зарубежными авторами обсуждает результаты собственных исследований, при этом убедительно показывая эффективность и актуальность решаемых задач по созданию и разработке способов диагностики и профилактики бактериальных болезней сельскохозяйственных животных и птиц.

Заключение рецензируемой работы изложено в форме выводов по основным положениям диссертации. Выводы сформулированы логично и вытекают из содержания диссертационной работы.

Содержание автореферата в полной мере отражает основные положения диссертационной работы. Диссертация и автореферат соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения учёных степеней» (от 24.09.2013. № 842).

Подчёркивая высокую теоретическую и практическую значимость, а также актуальность работы при её рассмотрении считаем необходимым задать ряд вопросов, а именно:

1. В разделе 2.2.1. (стр. 32) указываете, что в РФ используются живые вакцины из штаммов *B. abortus* 19, 82 и 75/79-AB, с чем связано отсутствие в Ваших исследованиях штамма *B. abortus* 19?
2. На стр. 92 во втором абзаце указываете, что были выявленыделеции фрагментов генов у некоторых штаммов *B. abortus*, уточните к каким видам указанные делеции относятся к терминальным или интерстициальным?
3. Уточните, на основании каких результатов исследования (раздел 3.2.1.3) делаете вывод, что полученные данные могут улучшить контроль за качеством и безопасностью противобруцеллезных иммунологических препаратов?
4. Раздел 3.2.9. (стр. 138) исследовано большое количество штаммов *E. faecalis* и *E. faecium*, исследование проведено с интерпретацией в соответствии с тремя вариантами (EUCAST / ECOFF / CLSI). Чем это обусловлено?
5. В разделе 3.2.9. при исследовании чувствительности к АМП *E. faecalis* и *E. faecium* на стр. 147 Вы пишете об одновременной устойчивости к 5 классам для изолятов от домашней птицы: > 60% от индеек..... Чем можно объяснить такой высокий % резистентности?
6. Какие гены в качестве эталонных использовали при проведении нормализации данных ПЦР-РВ для экспресс методики идентификации возбудителей орнитоза и инфекционного ринита птиц?
7. С чем связано, что при определении статистических показателей тест-системы на основе ПЦР-РВ не учитывали важный показатель, а именно к-критерий (индекс каппа Коэна)?

Замечания: на стр. 179, в табл. 70 допущена опечатка; на стр. 82 не указана доза заражения, а только 10^3 - 10^7 м.к.

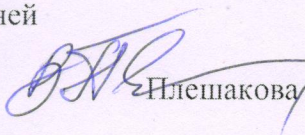
Заключение. Диссертационная работа Прасоловой Ольги Владимировны на тему: «Биологические характеристики представителей нормобиоты и патогенной микрофлоры, выделенных от сельскохозяйственных животных» выполнена автором самостоятельно на достаточно высоком методическом уровне, с использованием большого экспериментального материала и с применением классических и современных методов исследования, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится комплексное решение научной проблемы по усовершенствованию диагностики и профилактики ряда бактериальных болезней сельскохозяйственных животных и птиц.

Считаю, что по актуальности, теоретической и практической значимости, а также объёму проведённых исследований, представленная диссертация в полной мере соответствует требованиям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г.), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора ветеринарных наук по специальности 4.2.3 Инфекционные болезни и иммунология животных.

17.04.2025г.

Официальный оппонент:

Доктор ветеринарных наук, профессор, профессор
кафедры ветеринарной микробиологии,
инфекционных и инвазионных болезней
ФГБОУ ВО Омский ГАУ

 Плешакова Валентина Ивановна

Подпись В.И. Плешаковой удостоверяю

Ученый секретарь Ученого совета

ФГБОУ ВО Омский ГАУ

 Дмитриева Нелли Алексеевна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина»

(ФГБОУ ВО Омский ГАУ)
644008 г. Омск-8, ул. Индустриальная площадь, 1

ФГБОУ ВО Омский ГАУ

Тел. 8(3812) 25-05-19 , E.-mail: vi.pleshakova@omgau.org

