

## **Отзыв**

официального оппонента на диссертационную работу Забровской Анны Владленовны «Эпизоотологический анализ распространения антибиоткорезистентных 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.** Согласно результатам многочисленных научных исследований, при масштабном и зачастую нерациональном применении антимикробных препаратов в ветеринарии, происходит увеличение количества антибиоткорезистентных микроорганизмов, выделенных от сельскохозяйственных животных и из продукции животноводства.

Классы антимикробных препаратов, используемых в ветеринарии, в большинстве те же, что и в медицине, поэтому повышается риск возникновения и распространения резистентных микроорганизмов, в том числе общих для человека и животных, что является важной народно-хозяйственной проблемой. Исходя из этого, диссертационное исследование Забровской А.В., посвященное антибиоткорезистентности, контролю за распространением резистентных штаммов микроорганизмов у сельскохозяйственных животных и снижением уровня резистентности, является актуальным.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационном исследовании**

Научные положения, выводы и предложения, изложенные в диссертационном исследовании, являются обоснованными. Четко сформулированы цель и задачи исследований. Широкий спектр современных микробиологических, молекулярно-генетических и эпизоотологических методов, использованных автором в работе, соответствует поставленным задачам. На основе данных, полученных автором, была комплексно проанализирована, обобщена и систематизирована значительная по объему информация о чувствительности к антимикробным препаратам микроорганизмов, выделенных от животных, что позволило решить задачи, отражающие цель исследования.

Фактический материал сведен в таблицы, результаты работы проанализированы и обобщены. Статистический анализ проведен путем построения динамических рядов с помощью программы Microsoft Excel 2007. Для каждой линии тренда на графиках указаны уравнение и величина достоверности аппроксимации ( $R^2$ ). Уровень значимости вычисляли с помощью on-line калькулятора [biometrosa.ru](http://biometrosa.ru)

Выводы и практические предложения автора отражают результаты всех разделов исследований, аргументированы большим фактическим материалом и грамотно сформулированы.

### **Рекомендации по использованию результатов исследований**

Полученные данные по распространению антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов, а также алгоритм исследования биологического и патологического материала, полученного от сельскохозяйственных животных и из продукции животноводства могут быть использованы ветеринарными специалистами при выявлении этиологического фактора инфекционных болезней.

Научно обоснованные автором принципы микробиологического мониторинга устойчивости к антимикробным препаратам штаммов актуальных видов микроорганизмов, выделяемых от сельскохозяйственных животных и из продукции животного происхождения, могут быть использованы при дальнейшем изучении чувствительности актуальных микроорганизмов – возбудителей инфекционных заболеваний сельскохозяйственных животных.

Автором показано, что картографический анализ распространения устойчивых к антимикробным препаратам штаммов является важным инструментом многофакторного эпизоотологического анализа распространения устойчивых штаммов, на основании которого можно разработать комплекс мероприятий по предотвращению возникновения и распространения устойчивых к антимикробным препаратам штаммов микроорганизмов – возбудителей инфекционных болезней животных в масштабах животноводческого предприятия, что существенно улучшит эффективность лечебных мероприятий при развитии инфекционных болезней животных.

Препарат «Аргумистин®», эффективность которого доказана при лечении телят с болезнями желудочно-кишечного тракта, является перспективным антимикробным препаратом, применение которого в качестве альтернативы антибиотикотерапии при инфекционных болезнях животных нуждается в дальнейшей разработке.

Полирезистентные штаммы *Salmonella* Typhimurium и *Escherichia coli* серологических групп O18, O26, O103 и O137, 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 вакцинных, а также в качестве референтных при изучении механизмов устойчивости к антимикробным препаратам.

**Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению диссертационной работы**

Диссертационная работа Забровской А.В. оформлена в соответствии с требованиями, предъявляемым к докторским диссертациям, изложенным в соответствующих нормативных документах. Научный материал полностью отражает поставленные цель и задачи. Разделы работы логически связаны (введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты исследований, обсуждение результатов, заключение, список использованной литературы, приложение).

Материалы диссертационной работы изложены на 323 страницах компьютерного текста, включая введение, обзор литературы, собственные исследования (материалы и методы, результаты, обсуждение), заключение, список сокращений, список литературы, приложение. Библиографический перечень включает в себя 318 источников научной литературы, в том числе 72 отечественных и 246 зарубежных авторов. 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, описывает методологию исследования, степень разработанности проблемы, положения, выносимые на защиту, сведения об апробации работы.

В обзоре литературы автор анализирует современное представление о резистентности микроорганизмов к антимикробным препаратам, приводит сведения об обнаружении штаммов *Salmonella* и условно патогенных микроорганизмов у сельскохозяйственных животных, в продукции животноводства и кормах, чувствительности к антимикробным препаратам вышеназванных штаммов. Подробно изложены принципы мониторинга антибиотикорезистентности, действующие в разных странах, мероприятия по предотвращению возникновения резистентных штаммов и их распространению.

В разделе 2.1 приведены материалы и методы исследований, схемы проведения экспериментов.

Раздел 2.2.1 посвящен эпизоотологическому анализу выделения штаммов *Salmonella* от животных, из продукции животноводства и из кормов на территории Северо-Западного ФО в 2006 – 2016 гг. Автором было установлено, что значительная доля штаммов сальмонелл, выделенных от больных, вынужденно убитых и павших животных (44,5%), принадлежала к серологическим вариантам, занимающим ведущее положение в этиологической структуре сальмонеллезов, как животных, так и человека: *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* и *S. Infantis*.

В разделе 2.2.2 приведены результаты исследования чувствительности к антимикробным препаратам микроорганизмов – возбудителей инфекционных болезней, выделенных от животных, из продукции животноводства и кормов на территории Северо-Западного ФО. В результате анализа многолетних данных по изучению чувствительности микроорганизмов к антибиотикам было выявлено, что штаммы *Salmonella* сероваров *S. Enteritidis*, *S. Infantis* и *S.*

*Typhimurium* имели специфические особенности чувствительности к антимикробным препаратам, выражающиеся в различном соотношении чувствительных и устойчивых (в том числе полирезистентных) штаммов: 61,4% штаммов *S. Enteritidis* были чувствительными, 78,3% штаммов *S. Infantis* были резистентными, 79,7% штаммов *S. Typhimurium* – полирезистентными. Соотношение чувствительных и устойчивых достоверно различалось у штаммов *Salmonella*, выделенных от свиней и из продукции свиноводства; у штаммов, выделенных от птиц, крупного рогатого скота и продукции, полученных от животных данных видов, это соотношение статистически достоверных различий не имело.

Раздел 2.2.4 посвящен визуализации результатов исследования чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам с помощью географической информационной программы QGis.

В разделе 2.2.5 изложен анализ профилей резистентности и выявленных генетических детерминант механизмов устойчивости микроорганизмов – возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных к антимикробным препаратам. С помощью молекулярно-генетических методов у резистентных штаммов *S. Enteritidis* и *S. Infantis* обнаружены точечные мутации в гене *gyrA*, обуславливающие устойчивость к фторхинолонам. Было установлено, что фенотипическая устойчивость штаммов *Salmonella* и условно патогенных микроорганизмов к цефалоспорином расширенного спектра ассоциирована с наличием генов *bla*<sub>CTX-M</sub>, *bla*<sub>CTX-M group 1</sub>, *bla*<sub>CTX-M group 9</sub>, *bla*<sub>CMY</sub>, *bla*<sub>TEM</sub>, кодирующих продукцию β-лактамаз расширенного спектра.

Раздел 2.2.6. посвящен предлагаемым автором принципам мониторинга чувствительности к антимикробным препаратам микроорганизмов – возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных и мероприятиям, направленные на предотвращение возникновения и распространения устойчивых штаммов микроорганизмов. Доказана необходимость постоянного мониторинга мониторинг чувствительности к антимикробным препаратам с анализом тенденций изменения количества устойчивых штаммов.

В разделах 2.2.7 и 2.2.8 приведены результаты эпизоотологического обследования ЗАО «Предпортовый» и применения противомикробного препарата на основе наночастиц серебра «Аргумистин®» как 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.

В разделе «Обсуждение результатов» диссертант проанализировал полученные результаты и сопоставил их с данными отечественной и зарубежной литературы, в разделе «Заключение» сформулированы выводы и рекомендации производству.

Выводы сформулированы на основании полученных результатов, достаточно аргументированы и объективны, полностью отражают цель и задачи, поставленные в данной работе.

**Достоверность и новизна исследований, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе.**

Результатом работы соискателя является выявление особенностей серотипового состава *Salmonella enterica*, анализ устойчивости к антимикробным препаратам штаммов *Salmonella* и условно патогенных микроорганизмов, выделенных от разных видов сельскохозяйственных животных (крупный рогатый скот, свиньи домашняя птица), из продуктов животного происхождения и кормов на территории Северо-Западного ФО РФ в течение 14 лет, в том числе с использованием картографического анализа; научно обоснованы принципы микробиологического мониторинга устойчивости к антимикробным препаратам штаммов актуальных видов микроорганизмов, выделяемых от сельскохозяйственных животных и из продукции животного происхождения, предложен комплекс мероприятий по предотвращению возникновения и распространения устойчивых к антимикробным препаратам штаммов микроорганизмов – возбудителей инфекционных болезней животных. В качестве альтернативы антибиотикотерапии при болезнях желудочно-кишечного тракта телят бактериальной этиологии обосновано и внедрено в производство применение препарата «Аргумистин®».

На основании анализа многолетних данных по выделению 1731 штаммов *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*, *S. Typhimurium*, имеющих большое эпизоотологическое значение и широко распространенных у людей.

Выявлено различие в соотношении чувствительных и устойчивых (в том числе полирезистентных) штаммов у *Salmonella* сероваров *S. Enteritidis*, *S. Infantis*, *S. Typhimurium*, а также у штаммов *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 (*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 различных территориях Северо-Западного ФО РФ показал, что удельный вес резистентных микроорганизмов среди исследованных штаммов условно патогенных микроорганизмов достоверно выше, чем у *Salmonella*;

Впервые определены генетические детерминанты устойчивости к

хинолонам (несинонимические точечные мутации в гене *gyrA*) и  $\beta$ -лактамным антибиотикам расширенного спектра (*bla*<sub>CTX-M</sub>, *bla*<sub>CTX-M group 1</sub>, *bla*<sub>CTX-M group 9</sub>, *bla*<sub>CMY</sub>, *bla*<sub>TEM</sub>) у штаммов *Salmonella* и условно патогенных микроорганизмов, выделенных от продуктивных животных и из продукции животноводства на территории Ленинградской области.

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

Факт личного участия диссертанта не вызывает сомнений. Забровская Анна Владленовна детально проанализировала научную литературу, посвященную проблеме устойчивости микроорганизмов к антимикробным препаратам, что позволило сформулировать цель и задачи исследования, подобрать необходимые методики исследования и анализа полученных данных, проанализировать результаты, сформулировать выводы и дать предложения производству. Материалы диссертационного исследования прошли апробацию на международных и всероссийских научно-практических конференциях.

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

#### **Степень завершенности и качество оформления диссертационной работы**

Проведенные А.В.Забровской анализ и интерпретация результатов свидетельствуют о том, что сформулированная в работе цель достигнута, а поставленные задачи в целом решены. Материал подан последовательно, логично и аргументировано. Разделы работы связаны по смыслу, научные положения, выносимые на защиту, выводы и рекомендации, изложенные в диссертационной работе, представляют собой законченное научное исследование. Каждая глава посвящена отдельным этапам исследования и заканчивается кратким подведением итогов. Работа аккуратно оформлена, проиллюстрирована таблицами, рисунками. Автореферат соответствует тексту диссертационной работы и дает возможность вынести заключение о характере научных результатов и их достоверности.

#### **Замечания, вопросы и пожелания**

В диссертационной работе имеются отдельные опечатки, стилистически неудачные выражения, которые не снижают научную и практическую значимость работы, а потому не могут отразиться на ее положительной оценке в целом.

1. Насколько адекватны МУК 2004 года и клинические рекомендации 2015 года для оценки результатов определения чувствительности диско-диффузионным методом для штаммов, выделенных от животных?

2. Как Вы видите практическое использование картографического анализа?
3. По каким критериям для анализа устойчивости к антибиотикам были выбраны сальмонеллы и условно патогенные микроорганизмы?
4. По данным эпизоотологического обследования ЗАО «Предпортовый» в хозяйстве проводится вакцинация от колибактериоза. Почему, по Вашему мнению, у телят была выделена энтерогеморрагическая *E.coli*?

### **Заключение**

Диссертационное исследование Забровской А.В. является законченной научно-квалификационной работой, выполненной автором самостоятельно на высоком научном уровне. В работе изложены научные результаты, позволяющие классифицировать их как научно обоснованные разработки, имеющие существенное значение в области ветеринарной микробиологии.

Учитывая актуальность выполненных исследований, научную новизну и практическую значимость полученных результатов, диссертационная работа «Эпизоотологический анализ распространения антибиотикорезистентных штаммов возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных в Северо-Западном федеральном округе Российской Федерации», соответствует требованиям п.п. 9-14 «Положение о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Минобрнауки РФ, предъявляемым к кандидатским и 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 кафедры инфекционной  
и инвазионной патологии  
ФГБОУ ВО «Белгородский  
государственный аграрный  
университет им. В.Я.Горина»

 Коваленко Анатолий Михайлович

Адрес: 308503, Белгородская область, Белгородский район, п. Майский,  
ул.Вавилова 1, БелГАУ им. В. Я. Горина  
Тел. 8(4722)39-22-31  
Факс 8(4722)39-22-31  
E-mail: [Mycobacteria@rambler.ru](mailto:Mycobacteria@rambler.ru)  
Сайт организации: <http://www.bsaa.edu.ru/>

Подпись Коваленко А.М. заверяю:

