

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

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

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора ветеринарных наук Плешаковой В.И. на диссертационную работу Макавчик Светланы Анатольевны на тему: «Бактериальные болезни крупного рогатого скота, вызванные полирезистентными микроорганизмами (диагностика, лечение и профилактика)», представленную в диссертационный совет Д 220.059.03 при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук по специальностям 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология и 06.02.03 - ветеринарная фармакология с токсикологией.

Актуальность темы диссертационной работы

В последние десятилетия проблема устойчивости бактерий к антибиотикам стала стремительно растущей глобальной проблемой, как в гуманной медицине, так и в животноводческой отрасли. К сожалению, зачастую неправильное и не обоснованное применение антибиотиков привели к формированию и распространению устойчивости к этим препаратам, с которой связаны снижение эффективности лечения и, следовательно, тяжелое и длительное течение бактериальных заболеваний у животных, что сопровождается существенным экономическим ущербом сельскохозяйственным предприятиям. Респираторные и желудочно-кишечные болезни молодняка крупного рогатого скота создают напряженную эпизоотическую обстановку в хозяйствах, представляют постоянную угрозу для здоровья имеющегося поголовья.

В последние десятилетия в лабораторную практику были внедрены новые более чувствительные методы диагностики, активно продолжается пополняться арсенал профилактических биопрепаратов. Тем не менее, несмотря на достигнутые успехи в обеспечении благополучия животноводства нашей страны, проблема стабилизации эпизоотической ситуации в промышленных комплексах сохраняется, в том числе за счет увеличения количества полирезистентных микроорганизмов.

С учетом вышесказанного, проблема совершенствования микробиологической диагностики, лечения и профилактики бактериальных инфекций крупного рогатого скота, вызванных полирезистентными микроорганизмами является весьма актуальной.

Научная новизна диссертационной работы

Автором впервые на региональном уровне выделен патогенный и полирезистентный эмерджентный микроорганизм *Stenotrophomonas maltophilia* от крупного рогатого скота с респираторной патологией.

Также установлен феномен появления свойств полирезистентности к антибактериальным препаратам, гипермукоидности и гипервирулентности у *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* (регистрационный номер ВКШМ-Б-288М, ФГБУ «ВГНКИ»). В результате проведения микробиологического мониторинга получены новые сведения о распространении возбудителей с атипичными биологическими свойствами и с множественной лекарственной резистентностью (гипервирулентных *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, продуцирующих β -лактамазы расширенного спектра (БЛРС) и др.).

Установлены закономерности циркуляции урогенитальных микоплазм *Mycoplasma bovis*, как этиологически важных атипичных возбудителей в респираторной патологии телят (атипичных бронхопневмоний, ринитов, кератоконъюнктивитов) и контагиозных маститных инфекциях животных в хозяйствах Северо-Западного ФО РФ.

Диссертантом разработаны и усовершенствованы алгоритмы диагностики, лечения и профилактики оппортунистических инфекций крупного рогатого скота. Впервые апробированы методологические подходы к созданию диагностических панелей для молекулярно-генетического выявления УПМ в скрининговых исследованиях. Выделенный штамм *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* использован для разработки способа инактивации возбудителя кампилобактериоза крупного рогатого скота и способа получения гидроокись алюминиевой масляной теовакцины против кампилобактериоза.

Соискателем обоснована эффективность и целесообразность MALDI-TOF-MS анализа и молекулярно-генетических технологий (ПЦР, секвенирование) в системе микробиологического мониторинга у животных с инфекционной патологией бактериальной этиологии.

Проведенные Макавчик С.А. фармако-токсикологические исследования и клинические испытания препарата Азициклин дают возможность разработки и применения эффективных схем лечебных мероприятий в животноводческих хозяйствах.

Кроме того, научная новизна проведенных диссертантом исследований подтверждена рядом патентов РФ, а именно:

- патент на способ инактивации возбудителя кампилобактериоза крупного рогатого скота № 2642249, зарегистрированный в Государственном реестре РФ 24 января 2018г.;

- патент на способ получения гидроокись алюминиевой масляной тео-вакцины против кампилобактериоза № 2644654, зарегистрированный в Государственном реестре РФ 13 февраля 2018г.);

- патент на штамм *Klebsiella pneumoniae subsp.pneumoniae*, обладающий способностью к биопленкообразованию № 2733144, зарегистрированный в Государственном реестре РФ 29.09.2020.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключений, сформулированных в диссертации

Научные положения, выводы и предложения в диссертационном исследовании, обоснованы. Цель и задачи исследований сформулированы четко. Методы, использованные автором в работе, адекватны поставленным задачам и отвечают современному научно-методическому уровню исследований. Основные положения диссертационной работы вытекают из результатов, полученных автором, которые опубликованы в статьях и апробированы на научно-практических конференциях.

Интерпретация полученных данных базируется на современных, высокоточных методах исследования и качественной статистической обработке,

что также обуславливает высокую степень обоснованности научных положений, выводов и предложений.

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

Достоверность исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность подтверждается использованием репрезентативной выборки объектов исследования; которая соответствует цели и задачам данной научно-квалификационной работы. За время проведения исследования применены современные лабораторные методы диагностики.

Цифровой материал сведен в таблицы, результаты исследований проанализированы и обобщены. Биометрический анализ проведен с использованием метода вариационной статистики и применением критерия погрешности по Стьюденту, по программе MS Excel, AMRcloud платформы.

По материалам диссертационных исследований опубликовано 35 научных работ, в том числе 24 в изданиях, включенных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ в перечень российских рецензируемых научных журналов для опубликования основных научных результатов диссертации, одна статья в журнале из международных баз данных Web of Science Core Collection, получено 3 патента РФ. Результаты исследования и основные положения диссертации представлены и обсуждены на научно-практических мероприятиях различного уровня.

Рекомендации по использованию результатов исследований

Результаты исследований вносят значительный вклад в ветеринарную микробиологию и фармакологию, дают дополнительную информацию о распространении полирезистентных микроорганизмов среди животных.

Проведенный бактериологический мониторинг позволил выявить микроорганизмы с атипичными биологическими свойствами (мукоидным фенотипом, механизмами резистентности к антимикробным препаратам).

Оптимизированы микробиологические алгоритмы диагностики, лечения и профилактики оппортунистических инфекций крупного рогатого скота. Впервые апробированы методологические подходы к созданию диагностических панелей для молекулярно-генетического выявления УПМ для скрининговых исследований.

Соискатель преодолела диагностические сложности выявления микоплазм на бесклеточных питательных средах, предложив разработанную схему микробиологического исследования данного вида микроорганизмов. Результаты бактериологического исследования подтверждались с применением ПЦР на всех этапах индикации и идентификации выделенных культур *M. bovis*.

Обоснована целесообразность использования MALDI-TOF-MS анализа и молекулярно-генетических (ПЦР, секвенирование) технологий в системе микробиологического мониторинга у животных с инфекционной патологией бактериальной этиологии.

Полученные данные по спектру выделенных микроорганизмов и их полирезистентности загружены в таблицы Excel в платформу AMRcloud для последующего комплексного анализа и систематизации (Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии, МАКМАХ), которая позволяет анализировать и визуализировать данные о чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам.

В рутинную практику ветеринарных лабораторий предложены и внедрены методы контроля за механизмами антибиотикорезистентности с целью рациональной фармакотерапии.

Данные клинических и доклинических исследований Азициклина использованы для дальнейших разработок, создания новых форм и модификаций антибактериальных препаратов.

Результаты диссертационной работы используются в учебном процессе ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной

медицины»; ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный политехнический университет Петра Великого»; ФГБОУ ВО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья».

Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению диссертационной работы

При оформлении диссертационной работы автором полностью соблюдены существующие требования, предъявляемые к архитектонике подобных работ. Разделы отражают последовательную и логическую связь.

Диссертационная работа изложена на 370 страницах компьютерного текста. Работа иллюстрирована 44 таблицами и 63 рисунками. Список литературы включает 396 источников, в том числе 191 иностранных авторов.

В разделе «Введение» автором сформулирована актуальность темы, обозначена цель исследований с вытекающими задачами, отражена новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Положения, вынесенные на защиту, отражают основное содержание работы.

В главе 1 «Обзор литературы» проведен анализ литературных данных по вопросам изучения, распространения, профилактики полирезистентных микроорганизмов и лабораторные методы их исследований. Изучены публикации, посвященные существующим средствам и способам лечения животных.

Глава 2 «Собственные исследования» изложена на 148 страницах и разбита на подразделы. В разделе «Материалы и методы исследования» описаны современные методы лабораторной диагностики бактериальных болезней крупного рогатого скота. Подробно изложены методы проведения бактериологических и молекулярно-генетических исследований. Описаны фармако-токсикологические методы, использованные в работе для проведения доклинических и клинических исследований, изучение безвредности и эффективности действия препаратов на организм лабораторных животных и телят.

В разделе 2.2.1. представлены результаты выделения и идентификации изолятов микроорганизмов с атипичными биологическими свойствами

бактериологическими методами. Представлена фенотипическая характеристика грамположительных, грамотрицательных и труднокультивируемых микроорганизмов.

В разделе 2.2.2. и 2.2.3. обосновано применение протеометрических методов с применением MALDI-TOF-MS анализа и молекулярно-генетических методов для идентификации и дифференциации микроорганизмов, изолированных от животных. Предложены методологические подходы по созданию диагностических панелей для молекулярно-генетического выявления условно-патогенных микроорганизмов в производственных условиях.

В разделе 2.2.4 автором в ходе мониторинговых исследований выявлен видовой спектр микроорганизмов с применением полифазного лабораторного метода. Установлены приоритетные микроорганизмы, выделенные из органов репродукции крупного рогатого скота, при инфекционных маститах коров, и телят с респираторной патологией.

Выполненный объем исследований позволил диссертанту разработать алгоритм лабораторной диагностики инфекционных болезней с учетом атипичных, труднокультивируемых микроорганизмов с применением инновационных технологий.

В разделе 2.2.5 изложены микробиологические основы рациональной фармакотерапии животных. Представлены результаты определения антибиотикорезистентности микроорганизмов, лабораторный контроль механизмов резистентности.

В работе имеется раздел 2.2.6 «Фармако-токсикологические испытания комбинированного препарата Азициклин», в котором проанализированы результаты доклинических исследований.

В разделе 2.2.7 «Терапевтическая эффективность применения препарата Азициклина при бактериальных болезнях телят», проанализированы результаты клинических исследований.

Результаты исследований дают возможность диссертанту разработать комплекс лечебно-профилактических мероприятий по борьбе с бактериальными инфекциями крупного рогатого скота в хозяйствах Северо-Западного ФО РФ.

В главе «Обсуждение результатов исследований» проанализированы полученные результаты и сопоставлены с новейшими данными отечественных и зарубежных ученых.

Завершается диссертационная работа заключением, рекомендациями, анализом перспективы дальнейшей разработки темы. Выводы отражают исследования диссертанта, сформулированы на основании полученных результатов, достаточно аргументированы и объективны.

Приложения включают патенты, нормативно-техническую документацию, а также акты испытаний и внедрения в производство.

Оценка завершенности и качества оформления диссертационной работы

Проведенные С.А. Макавчик анализ и интерпретация результатов исследований, свидетельствуют о том, что сформулированная в работе цель достигнута, а поставленные задачи выполнены. Научные положения, выводы и рекомендации, изложенные в диссертации, представляют собой законченное научное исследование. Каждая глава посвящена отдельным этапам исследования и заканчивается кратким подведением итогов. Работа аккуратно оформлена, проиллюстрирована таблицами и рисунками. Автореферат соответствует тексту диссертации и дает возможность вынести заключение о характере научных результатов и их достоверности. К достоинствам работы также можно отнести качества изложения материала, который подан последовательно, логично и аргументировано.

Несмотря на положительную оценку диссертационной работы, имеется ряд замечаний и вопросов.

1. Почему ранжирование, экстраполирование и выборочное репортирование являются основой рационального антимикробного лечения животных?
2. Какие нормативные документы использовали в работе при определении маркерных препаратов и природной резистентности бактерий к антимикробным препаратам (АМП)?
3. Какие механизмы антибиотикорезистентности микроорганизмов выявлены в ходе вашей работы?

4. Известно, что антибиотические препараты зачастую оказывают супрессивное действие на иммунную систему организма. Почему автор не изучила влияние препарата Азициклина на основные показатели неспецифической резистентности экспериментальных животных?
5. С чем связано, что при сравнении классических микробиологических и современных протеомных и молекулярно-генетических методов, автор не изучал основные их диагностические характеристики, в частности: чувствительность, специфичность и информативность получаемых результатов.
6. Для чего важно проводить точную видовую идентификацию микроорганизмов с применением полифазного лабораторного метода?

В диссертационной работе содержатся отдельные опечатки, которые не снижают научную и практическую значимость работы, не могут отразиться на общей положительной оценке.

Заключение

Диссертационная работа Макавчик Светланы Анатольевны на тему: «Бактериальные болезни крупного рогатого скота, вызванные полирезистентными микроорганизмами (диагностика, лечение и профилактика)» выполнена на достаточном экспериментальном и производственном материале. Исполнителем проведены и обобщены значительные по объему и новизне исследования, полученные результаты имеют научное и прикладное значение. Диссертация соответствует паспортам специальностей 06.02.02 Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология и 06.02.03 Ветеринарная фармакология с токсикологией. Диссертация является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится комплексное решение научной проблемы по усовершенствованию диагностики, терапии и профилактике, бактериальных болезней крупного рогатого скота, вызванных полирезистентными микроорганизмами. Диссертационное исследование имеет значение для развития знаний в области ветеринарных наук, что соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации.

Федерации, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор, Макавчик Светлана Анатольевна, заслуживает присуждения ученой степени доктора ветеринарных наук по специальностям: 06.02.02 Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология и 06.02.03 Ветеринарная фармакология с токсикологией.

31.08.2021 г.

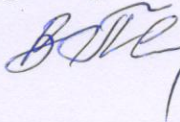
Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой ветеринарной микробиологии,
инфекционных и инвазионных болезней

факультета ветеринарной медицины

доктор ветеринарных наук, профессор,

ФГБОУ ВО Омский ГАУ


 Плешакова Валентина Ивановна

Подпись В.И. Плешаковой удостоверяю

Проректор по научной работе

ФГБОУ ВО Омский ГАУ



 Новиков Юрий Иванович

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный ветеринарный университет имени П.А. Столыпина» (ФГБОУ ВО Омский ГАУ)

644008 г. Омск-8, ул. Институтская площадь, 1

ФГБОУ ВО Омский ГАУ

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