

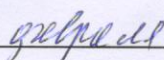
МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ П.А.СТОЛЫПИНА»
(ФГБОУ ВО Омский ГАУ)

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

«Утверждаю»

Ректор ФГБОУ ВО Омский ГАУ

 О.В. Шумакова

"19"  2019 г.



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

Актуальность темы исследования.

Проблема резистентности болезнетворных бактерий является одной из самых актуальных в инфекционной патологии человека и животных. Процесс формирования устойчивости всего живого к неблагоприятным факторам внешней среды является биологическим законом. В ветеринарной практике широкое применение получили β -лактамы антибиотики, обладающие широким спектром действия, высоким коэффициентом пенетрации. Однако бесконтрольное применение антибиотиков привело к развитию резистентности многих микроорганизмов к данной группе препаратов. Особую тревогу вызывает способность грамотрицательных микроорганизмов продуцировать β -лактамазы расширенного спектра. Круг условно патогенных микроорганизмов, обладающих множественной устойчивостью к антибиотикам, быстро расширяется.

Борьба с патогенными микроорганизмами вынуждает фармакологов постоянно расширять спектр антибиотиков и создавать новые классы антимикробных препаратов.

Одним из факторов, влияющих на повышение резистентности бактерий, является необоснованное применение антибактериальных препаратов особенно в животноводстве. Применение антибиотиков в этой области не всегда оправдано. К тому же определение чувствительности микроорганизма к антибактериальному препарату в большинстве случаев не осуществляется, либо проводится с опозданием. Как показывают эпизоотологические наблюдения, наиболее частым местом обитания

патогенных и условно-патогенных микроорганизмов является желудочно-кишечный тракт, в котором в условиях снижения адгезивности чувствительных микроорганизмов под влиянием АМП, устойчивые бактерии сохраняют способность его быстрой колонизации. Сюда следует добавить, что процессы внутривидового и межвидового взаимодействия между микроорганизмами приводят к формированию и распространению устойчивых штаммов.

Используемые в ветеринарии антибиотики в основном те же, что и в медицине, поэтому повышается риск возникновения и распространения резистентных микроорганизмов, в том числе общих для человека и животных. В этой связи, контроль за распространением резистентных штаммов микроорганизмов требует комплексного подхода, включающего мониторинг чувствительности и изучение механизмов резистентности к АМП, выделяемых от продуктивных животных, что необходимо для разработки системы мероприятий по снижению резистентности как в масштабах отдельного хозяйства, так и на региональном уровне.

Диссертант в своей работе избрала одну из важных ключевых позиций решения поднятой проблемы, а именно выявить закономерности распространения антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов, выделенных от животных и из продукции животноводства и разработать принципы микробиологического мониторинга лекарственной устойчивости микроорганизмов.

Научная новизна диссертационной работы. Значительный перечень задач, поставленных на разрешение соискателем, позволил с привлечением современных методов исследования не только впервые определить доминирующую роль отдельных микроорганизмов, имеющих большое эпизоотологическое значение и широко распространенных у людей, но и выявить различие в соотношении чувствительных и устойчивых штаммов патогенных и условно-патогенных бактерий, выделенных от разных видов животных и птицы. В результате было установлено, что удельный вес резистентных микроорганизмов среди исследованных штаммов УПМ достоверно выше, чем у патогенных (*Salmonella*). Впервые определены генетические детерминанты устойчивости к хинолонам и β -лактамам антибиотикам расширенного спектра у штаммов *Salmonella* и УПМ, выделенных от продуктивных животных и продукции животноводства на территории Ленинградской области.

Важным элементом новизны является также установление возможности использования геоинформационных программ для эпизоотологического анализа распространения антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов у сельскохозяйственных животных. Впервые с использованием картографического анализа выявлены особенности распространения антибиотикорезистентных штаммов *Salmonella* на территории 18 районов Ленинградской области.

Значимость для науки и практики, полученных автором результатов.

Выполненная на высоком методическом уровне диссертационная работа позволила автору глубоко проанализировать антигенные свойства патогенных штаммов *Salmonella* и установить доминирующее, значение отдельных сероваров выделенных от разных видов сельскохозяйственных животных, продуктов животного происхождения и кормов. Проанализирована их устойчивость к АМП в сравнении со штаммами условно патогенных микроорганизмов, выделенных от больных, вынужденно убитых и павших сельскохозяйственных животных, из продуктов животного происхождения и кормов на территории Северо-Западного ФО Российской Федерации.

В качестве альтернативы антибиотикотерапии при болезнях желудочно-кишечного тракта телят бактериальной этиологии обосновано и внедрено в производство применение ветеринарного препарата «Аргумистин®», разработанного на основе мирамистина, обогащенного наночастицами серебра. Согласно литературным данным, этот препарат обладает антибактериальной, противовирусной и иммуномодулирующей активностью, малотоксичен и может быть рекомендован в качестве альтернативного средства при лечении инфекционных болезней сельскохозяйственных животных.

На основании результатов проведенных исследований и с учетом рекомендаций ВОЗ научно обоснованы принципы микробиологического мониторинга устойчивости к антимикробным препаратам штаммов актуальных видов микроорганизмов, выделяемых от сельскохозяйственных животных и из продукции животного происхождения. Соискателем предложен комплекс мероприятий по предотвращению возникновения и распространения устойчивых к антимикробным препаратам штаммов микроорганизмов – возбудителей инфекционных болезней животных.

Результаты исследований соискателя позволили разработать и утвердить методические рекомендации:

- «Особенности идентификации сальмонелл и их дифференциация от сходных по биологическим свойствам микроорганизмов» (Санкт-Петербург, 2008);
- «Применение противомикробных препаратов на основе наночастиц серебра для лечения телят с болезнями желудочно-кишечного тракта» (Санкт-Петербург, 2016г.);
- «Особенности идентификации и определения чувствительности к антимикробным препаратам бактерий рода *Salmonella*» (Санкт-Петербург, 2016 г.);
- «Резистентность микроорганизмов к антимикробным препаратам и мероприятия, направленные на предотвращение возникновения и распространения устойчивых штаммов» (Санкт-Петербург, 2018.);

Большой объем работы с использованием значительного количества животных, микроорганизмов, современных методов и методик исследования при изучении выделенных культур микроорганизмов позволили диссертанту

создать достаточно убедительную доказательную базу теоретической и практической значимости выполненной работы.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, их достоверность.

По содержанию и изложению докторская диссертация Забровской В.А. соответствует избранному направлению.

Обоснованность направления исследований соискателя определяется прежде всего тем, что не только на территории, избранной автором для исследования, но и в целом по стране давно назрела необходимость усовершенствования контроля за распространением резистентных штаммов микроорганизмов, включающего комплексный мониторинг за их чувствительностью и механизмами резистентности к АМП.

В первую очередь это касается выявления закономерности распространения антибиотико-резистентных штаммов микроорганизмов, выделенных от животных и из продукции животноводства и разработки принципов микробиологического мониторинга их лекарственной устойчивости.

Высокий уровень методических и методологических подходов с использованием комплекса современных методов исследований, используемых в микробиологии в оптимальном сочетании, позволили диссертанту реализовать сформулированные цель и задачи, сделать достоверные выводы и дать практические предложения, которые логически вытекают из содержания диссертации. Не вызывают сомнения достаточность объемов исследования, их качество.

Диссертационная работа Забровской В.А. доложена и обсуждена на научно-практических конференциях профессорско-преподавательского состава ФГБОУ ВО СПбГАВМ (г. Санкт-Петербург, 2015, 2016, 2017 и 2018 гг.), ее результаты вошли в материалы научно-практической конференции «Болезни птиц в промышленном птицеводстве (г. Санкт-Петербург, 2007г.), научной конференции «Хлопинские чтения» (г. Санкт-Петербург, 2008, 2011 гг.), международных конференций (Санкт-Петербург, 2008, 2009, 2010, 2012, 2014, 2015, 2016; Москва. 2010, 2017 гг.), VIII Nordic-Baltic Congress on Infectious Diseases (2009), Всероссийской научной конференции «Проблемы современной эпидемиологии. (2009 г.), Третьего съезда военных врачей медико-профилактического профиля Вооруженных Сил РФ (г. Санкт-Петербург, 2010 г).

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации.

Полученные исследователем данные могут быть включены в нормативные документы республиканского уровня, использованы в животноводстве при разработке планов противоэпизоотических мероприятий.

Автор диссертации Забровская А.В. впервые выявила закономерности распространения антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов, выделенных от животных и из продукции животноводства на территории

Северо-Западного федерального округа Российской Федерации и разработала принципы микробиологического мониторинга лекарственной устойчивости микроорганизмов. Изучила в производственных условиях эффективность антимикробного препарата на основе наночастиц серебра для лечения желудочно-кишечных болезней бактериальной этиологии у сельскохозяйственных животных.

Депонированные полирезистентный штамм *Salmonella* Typhimurium и энтерогеморрагический штамм *Escherichia coli*, а также вирулентный полирезистентный штамм *Klebsiella pneumoniae* были рекомендованы в качестве вакцинных и референтных, и легли в основу 4-х методических рекомендаций при изучении механизмов устойчивости к антимикробным препаратам.

Структура и объем диссертации.

Материалы, представленной на отзыв диссертации изложены на 323 страницах и включают введение, обзор литературы, собственные исследования, результаты исследований, обсуждение результатов, заключение, список сокращений. Список литературы включает 318 источников, из которых 72 отечественных и 246 иностранных авторов. В приложении располагаются: таблицы, иллюстрирующие серологические варианты и количество штаммов *Salmonella*, изученных на чувствительность к АМП за период с 2006 по 2015 гг., а так же таблицы с результатами применения «Аргумистина®» при энтерите телят; справки о депонировании во Всероссийской государственной коллекции штаммов микроорганизмов, используемых в ветеринарии и животноводстве ФГБУ «ВГНКИ» выделенных штаммов: *Salmonella* (регистрационный номер ВКШМ-Б-287М); *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* (регистрационный номер ВКШМ-Б-288М); *Escherichia coli* (серотип 018, регистрационный номер ВКШМ-М-283М); *Escherichia coli* (серотип 0137, регистрационный номер ВКШМ-Б-286М); *Escherichia coli* (серотип 0103, регистрационный номер ВКШМ-Б-285М); *Escherichia coli* (серотип 026, регистрационный номер ВКШМ-Б-284М), которые могут быть использованы в качестве производственных при изготовлении биологических препаратов с целью применения в ветеринарии.

Диссертационная работа содержит 52 рисунка, 34 таблицы и 5 фотографий. Во введении обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, определены основные направления реализации цели и раскрыта степень разработанности темы исследования, обоснована научная новизна, теоретическая и практическая значимость проведенных исследований, описана методология и методы исследования, представлены положения, выносимые на защиту, а так же апробация результатов НИР.

В аналитическом обзоре литературы подробно исследовано состояние актуальной проблемы устойчивости микроорганизмов к АМП. Дана оценка применению АМП при лечении животных на возникновение резистентности к препаратам, применяемым в медицине. Подробно описаны методы определения и критерии оценки чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам, а так же механизмы резистентности

микроорганизмов к АМП разных классов. Приведены профили резистентности устойчивых к антимикробным препаратам штаммов, выделенных от животных, из продуктов питания и кормов, которые позволяют изучить пути распространения устойчивых штаммов среди продуктивных животных и по технологической цепочке производства продуктов питания животного происхождения. Дана характеристика системам мониторинга устойчивости различных микроорганизмов к АМП существующих в разных странах. В итоге соискатель приходит к заключению, что необходима комплексная система мероприятий по предотвращению возникновения и распространения устойчивых штаммов микроорганизмов на основе мониторинга резистентности и данных по применению АМП в животноводстве с перспективой использования препаратов альтернативных антибиотикам.

В разделе собственных исследований приведены данные по выделению штаммов *Salmonella* от животных, из продукции животноводства и из кормов на территории Северо-Западного федерального округа за период с 2006 по 2016 гг. Всего было выделено 1731 штамм *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, принадлежащих к 71 серовару (в разрезе разных видов животных). Соискателем изучена чувствительность 482 штаммов *Salmonella* к антимикробным препаратам различных фармакологических групп. Установлено, что 39% штаммов были чувствительны ко всем АМП, а доля устойчивых составила 61%, при этом доля полирезистентных штаммов насчитывала 32,4%, а экстремальнорезистентных – 0,6%. При определении чувствительности к АМП штаммов УПМ было установлено, что значительная часть исследованных микроорганизмов (68,8%) была устойчива к АМП 1-7 фармакологических групп.

Тревогу вызывает факт обнаружения полирезистентных штаммов *E. coli* в продуктах животноводства, а так же полирезистентной УПМ из секрета молочных желез. Забровская Анна Владленовна отмечает, что контаминированные такими микроорганизмами продукты являются потенциальным источником не только УПМ, но и генетических детерминант резистентности к широкому спектру АМП.

При выделении и идентификации культур микроорганизмов автор использовала значительное количество биотопов что позволяло составить цельное представление о контаминации различных отделов организма, молочных и мясных продуктов

Существенным разделом собственных исследований является серологическая идентификация штаммов и определение чувствительности к антимикробным препаратам с последующей интерпретацией и анализом результатов. Особой оценки заслуживают молекулярно-генетические исследования с выделением микробной ДНК с последующим проведением ПЦР. Существенный раздел занимают исследования по определению вирулентности выделенных культур для лабораторных животных,

В отдельной главе приведены данные по выявлению временных и пространственных тенденций формирования и распространения резистентных штаммов на территории Ленинградской области (рис. 39-51).

Соискателем изучено бактерицидное действие препарата Аргумистин® как в лабораторных условиях, так и в условиях производства на телятах с клиническими признаками заболевания желудочно-кишечного тракта. Эффект, полученный в результате лечебных мероприятий с применением Аргумистина®, позволяет рекомендовать препарат, как альтернативу антимикробной терапии для лечения инфекционных болезней продуктивных животных. а также по изучению бактерицидного действия препарата Аргумистин® и его применения для лечения телят, больных диареей. Заслуживает особого внимания картографический анализ на основе сформированной базы данных, включающая в себя результаты изучения чувствительности к АМП штаммов *Salmonella*, выделенных на территории Ленинградской области с 2004 по 2016 гг. от больных, павших и вынужденно убитых продуктивных животных, из продукции животноводства и кормов. В представленных таблицах и иллюстрациях наглядно показаны серологические варианты *Salmonella*, наиболее часто выделяемые от разных больных, вынужденно убитых и павших животных и птиц. Также проведен анализ микрофлоры выделенной из кормов растительного происхождения и дрожжей. Отмечено наибольшее разнообразие сероваров *Salmonella*, принадлежащих к 35 серологическим вариантам.

В разделе Обсуждение результатов дана оценка применения антимикробных препаратов в ветеринарии, приведшей к селекции резистентных штаммов микроорганизмов - возбудителей инфекционных болезней, в том числе общих для человека и животных. Особенно это касается возбудителей зоонозных инфекций, таких, как *Salmonella* и энтерогеморрагических штаммов *Escherichia coli*, вызывающих тяжелые инфекционные болезни у людей. По данным соискателя, на территории СЗФО значительную часть среди выделенных от крупного рогатого составляли штаммы сероваров S.Dublin (удельный вес 83,1% от общего количества штаммов, обнаруженных у крупного рогатого скота) и S.Typhimurium (9,7%). Серотиповой пейзаж *Salmonella*, обнаруженных в продукции молочного и мясного скотоводства, весьма разнообразен и представлен 18 серологическими вариантами *Salmonella*. Характерно, что результаты, полученные автором при изучении чувствительности к АМП штаммов *Salmonella*, выделенных от сельскохозяйственных животных и из продукции животноводства на территории Северо-Западного ФО РФ, в основном сопоставимы с данными мониторинга резистентности штаммов *Salmonella*, проводимого в странах Евросоюза и США.

Оценивая в целом положительно данную работу, хотелось бы получить ответы на ряд вопросов.

1. С чем связаны резкие колебания в различные годы удельного веса чувствительных штаммов *Salmonella*?
2. С какими факторами связана замена в течение десятилетий ведущего серовара *Salmonella* на другой?
3. Чем обоснованы выбранный регламент и концентрация Аргумистина® для лечения телят?

Перечисленные вопросы не умаляют достоинство и достоверность результатов диссертационной работы.

Заключение.

Диссертация А.В. Забровской на тему: «Эпизоотологический анализ распространения антибиотико-резистентных штаммов возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных в Северо-Западном федеральном округе Российской Федерации», представленная на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук, является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на актуальную тему, достоверность результатов которой не вызывает сомнений. Собственные материалы исследований дали возможность автору сделать обоснованные выводы и практические предложения.

Работа диссертанта является значительным вкладом в решение проблемы, обусловленной риском возникновения и распространения антибиотикорезистентности микроорганизмов, в том числе общих для человека и животных, приводящих к необходимости постоянного надзора за их устойчивостью к антимикробным препаратам.

Считаем, что диссертационная работа соответствует п.9 Положения ВАК РФ «О порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к докторским диссертациям, а ее 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.

Диссертационная работа и отзыв на нее рассмотрены и одобрены на расширенном заседании сотрудников кафедры ветеринарной микробиологии инфекционных и инвазионных болезней ФГБОУ ВО Омский ГАУ (протокол № 8 от 13 февраля 2019 года).

Д-р ветеринар. наук профессор,
Зав. кафедрой ветеринарной микробиологии
инфекционных и инвазионных болезней
ФГБОУ ВО Омский ГАУ

Плешакова Валентина Ивановна

Д-р ветеринар. наук профессор,
профессор кафедры ветеринарной микробиологии
инфекционных и инвазионных болезней
ФГБОУ ВО Омский ГАУ

Новицкий Алексей Алексеевич

644008, г. Омск-8, Институтская площадь, 1, ФГБОУ ВО Омский ГАУ
Тел. 8 (3812) 25-05-19, E-mail: vi.pleshakova@omgau.org



Подпись: Плешакова Валентина Ивановна
Новицкий Алексей Алексеевич
20 18 г.