

Утверждаю
Ректор ФГБОУ ВО
Санкт-Петербургская ГАВМ
академик РАН, профессор
А.А.Стекольников
«12» марта 2020 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины на диссертацию Орловой Светланы Тихоновны **«Усовершенствование методов обнаружения микоплазм у собак и кошек»**, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

Актуальность темы.

В отношении роли микоплазм в инфекционной патологии собак и кошек до настоящего времени у специалистов нет полного понимания. Одна из причин этого в том, что большинство микоплазм причисляют к комменсалам (нормальным обитателям слизистых оболочек). Другая - сложности их выделения, культивирования и типирования из-за высокой требовательности этих микроорганизмов в ходе лабораторных исследований. Основными методическими приемами работы с этими микроорганизмами в настоящее время являются микробиологический (культуральный) и молекулярно-генетический (применение ПЦР), каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки.

В связи с этим актуальным в исследовании микоплазм является комбинированное использование данных методов, что приобретает популярность в микробиологических исследованиях, особенно со сложно культивируемыми возбудителями болезней, о чем автор убедительно показал во введении своей работы.

С учетом вышеизложенного соискатель поставила перед собой логичную цель – разработку комплексного метода выявления микоплазм в образцах биоматериала от собак и кошек путём сочетания бактериологических и молекулярно-генетических методов. Основные задачи поставленные соискателем

для реализации этой цели в процессе серьезных и многоплановых исследований были успешно решены.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Теоретическая значимость работы заключается в том, что усовершенствована микробиологическая техника работы с микоплазмами изолируемыми от собак и кошек виде разработанного комплексного метода обнаружения микоплазм, который объединяет культуральный и ПЦР-метод, в доступные для лабораторного исследования образцов биоматериала условия, которые могут быть успешно использованы как в научно-исследовательских, так и в практических целях.

Разработан надежный метод изоляции, с использованием ряда энергетических добавок, обеспечивающий оптимальные условия для роста микоплазм разных родов и видов с подавлением контаминации посторонней микрофлорой и показана корреляция его чувствительности с методом ПЦР. Впервые предложен способ деконтаминации культур микоплазм непосредственно в процессе клонирования и возможность сокращения условий клонирования культур в процессе дальнейшего секвенирования. Оптимизированы условия хранения изолятов микоплазм при умеренно отрицательных температурах.

Научно-теоретическая разработка вылилась в подаче заявки на патент РФ на изобретение «Набор сред для визуального выявления представителей класса Mollicutes в образцах с конъюнктивы и из респираторного тракта собак и кошек, способ изоляции и культивирования микоплазм, ахлеплазм и уреаплазм от собак и кошек».

Практическая значимость работы заключается в том, что от собак и кошек в норме и при патологиях изолированы, клонированы, накоплены, идентифицированы биохимическими и молекулярно-генетическими методами микоплазмы 8 видов (*M. arginini*, *M. canis*, *M. felis*, *M. gateae*, *M. edwardii*, *M. maculosum*, *M. sputans*, *Ureaplasma felinum*), которые могут быть успешно

использованы для проведения дальнейших теоретических и практических исследований.

На основании результатов исследований разработаны и утверждены Научно-методическим советом при ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины – МВА имени К.И. Скрябина Методические рекомендации «Пробоотбор и культивирование микоплазм, обитающих на конъюнктиве и слизистых оболочках верхнего респираторного тракта собак и кошек. Сравнительный анализ чувствительности бактериологического метода и метода ПЦР».

Результаты исследований используются при проведении занятий по дисциплинам «микробиология», «эпизоотология и инфекционные болезни», «болезни мелких домашних животных», а также в рамках программ повышения квалификации ветеринарных специалистов.

Достоверность проведенных исследований не вызывает сомнений. Она подтверждается сопоставимостью параллельных микробиологических и молекулярно-генетических исследований, использованием современных, в том числе усовершенствованных методик и достаточном экспериментальном материале. Положения, выносимые на защиту, полностью обоснованы проведенными исследованиями.

На основании проведенной работы сформированы выводы и даны практические предложения, что позволяет в совокупности с представленными материалами дать конкретные рекомендации по использованию результатов исследований. По результатам диссертации опубликовано 8 научных статей, из них 7 – в журналах, рекомендованных ВАК для публикаций материалов диссертаций. Материалы доложены на научных конференциях различного уровня. Изданы Методические рекомендации «Пробоотбор и культивирование микоплазм, обитающих на конъюнктиве и слизистых оболочках верхнего респираторного тракта собак и кошек. Сравнительный анализ чувствительности бактериологического метода и метода ПЦР» (2019). Подана Заявка на патент

«Набор сред для визуального выявления представителей класса Mollicutes в образцах с конъюнктивы и из респираторного тракта собак и кошек, способ изоляции и культивирования микоплазм, ахлеплазм и уреаплазм от собак и кошек».

Диссертация изложена на 142 страницах машинописного текста и состоит из традиционных разделов: введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, списка используемой литературы, содержащего 246 источников отечественных и зарубежных авторов, приложений. Работа содержит 12 таблиц, и 19 рисунков.

Делая аналитический разбор диссертационной работы наряду с общей положительной оценкой, считаем необходимым сделать некоторые замечания и пожелания в целом не влияющие на общую положительную оценку диссертационной работы.

1. Вами предложено 9 вариантов питательной среды, различающихся по плотности или содержанию энергетических добавок. По каким культурально-биохимическим свойствам можно дифференцировать представителей рода *Mycoplasma* от рода *Ureaplasma*.
2. Позволяют ли предложенные питательные среды провести видовую идентификацию возбудителей?
3. Вы произвели модификацию среды для взятия образцов биоматериала посредством введения в её состав современных бактерицидных антибиотиков амоксиклава и/или цефепима. Можно ли использовать стандартные транспортные среды Amies или Stuart, а антибиотики применять в процессе пробоподготовки?
4. Позволяют ли предложенные питательные среды провести видовую идентификацию возбудителей из биологического материала полученного от других видов животных?
5. Вопрос для дискуссии. Он касается терминологии. Вы пишете твердые питательные среды. Именно так и пишется в учебниках для медицинских ВУЗов.

Но еще Роберт Адольфович Цион указывал медицинским специалистам на не правильность такой формулировки. Питательные среды могут быть плотными, а твердыми – это другие материалы.

Заключение.

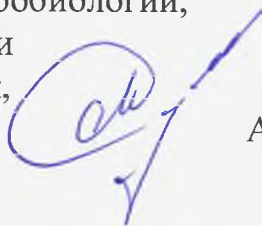
Диссертация Орловой Светланы Тихоновны является завершенной научно-квалификационной работой. В ней даны ответы на поставленные перед исследователем задачи.

Основные положения диссертации отражены в автореферате. Выводы и практические предложения вытекают из результатов работы, текст диссертации и автореферата соответствуют. По материалам диссертационной работы опубликовано 8 научных работ, из них 7 – в рецензированных научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

По своей актуальности, научной новизне, теоретичности и практической значимости, объему проведенных исследований и достоверности результатов диссертация соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология, а ее автор Орлова Светлана Тихоновна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук.

Отзыв рассмотрен и одобрен на заседании кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» «11» марта 2020 г. протокол № 8

Заведующий кафедрой микробиологии,
вирусологии и иммунологии
Доктор биологических наук,
профессор



Александр Александрович Сухинин

196084, Россия, г.Санкт-Петербург,
Ул.Черниговская, 5;
Телефон (812) 388-36-31;
E-mail: secretary@spbgavm.ru

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования “Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины” (ФГБОУ ВО СПбГАВМ).

Почтовый адрес: 196084, г.Санкт-Петербург, Ул.Черниговская, 5;
Телефон учреждения (факс): (812) 388-36-31;
E-mail: secretary@spbgavm.ru

«12» марта 2020г.

Подпись Сухина А.А. удостоверяю:

Ученый секретарь
ФГБОУ ВО СПбГАВМ



Надежда Алексеевна Гаврилова