

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Орловой Светланы Тихоновны на тему: «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

Микоплазменная инфекция долгие годы привлекает пристальное внимание ветеринарных врачей. Регулярно появляющиеся в периодической печати статьи и обзоры свидетельствуют о том, что для большинства видов животных, так же как и для человека, в этой области остается много неясных или даже спорных вопросов. Известны способы изоляции и культивирования микоплазм животных на искусственных питательных средах. Большинство питательных сред содержит 3 базовых компонента: питательную основу (мясные отвары или ферментативные перевары животных тканей), сыворотку крови, а также дрожжевой экстракт. Кроме них среды обычно включают небольшие количества разнообразных добавок.

**Научная новизна исследований.** Разработана надежная методика изоляции, обеспечивающая оптимальные условия для роста микоплазм разных родов и видов. Её ключевым элементом является посев каждого образца на набор из 5 вариантов среды. Установлено, что «подрачивание» микоплазм перед проведением посева в среде для взятия образцов биоматериала, содержащей современные бактерицидные антибиотики амоксиклав и/или цефепим, повышает селективность методики. Показано, что дополнение полученной методики избирательным ПЦР-анализом для подтверждения наличия или отсутствия роста микоплазм на отдельных вариантах среды (в сомнительных случаях) повышает её чувствительность. Впервые предложен способ деконтаминации культур микоплазм в процессе клонирования. С использованием метода ПЦР показано, что однократного клонирования бывает достаточно для разделения микоплазм разных видов и их дальнейшей идентификации посредством секвенирования. С помощью молекулярно-генетических методов установлено, что рост «ферментирующих» и «неферментирующих» видов микоплазм на той или иной среде определяется в большей степени её рН, чем содержащейся в среде энергетической добавкой. Установлено, что при хранении в условиях умеренно отрицательных температур ( $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) часть жизнеспособных клеток

микоплазм, выделенных от собак и кошек, сохраняется значительно дольше 12 месяцев. Из респираторного тракта собак и кошек, а также из глаз кошек изолированы, клонированы, идентифицированы молекулярно-генетическими методами и частично биохимически охарактеризованы микоплазмы видов *Mycoplasma arginini*, *M. canis*, *M. felis*, *M. gateae*, *M. edwardii*, *M. maculosum*, *M. spumans*, *Ureaplasma felinum*. Полученную коллекцию можно использовать для проведения дальнейших микробиологических и молекулярно-генетических исследований.

**Теоретическая и практическая значимость** представлена усовершенствованной микробиологической методикой работы с микоплазмами и разработанный комплексный метод выявления микоплазм собак и кошек, который объединяет бактериологический посев и ПЦР-анализ, создание доступных условий для лабораторного исследования образцов биоматериала от собак и кошек на наличие микоплазм с научными или прикладными целями, которые могут успешно применяться в исследовательских и диагностических ветеринарных лабораториях. В настоящее время разработанные подходы применяются при исследовании поступающего биологического материала, а также при выполнении научно-исследовательской работы в ФГБУ «ВГНКИ». На основании результатов исследований разработаны и утверждены Научно-методическим советом при ФГБОУ ВО «МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина» (11.12.2018) 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». Подана заявка 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» (номер заявки 2019110925, дата поступления 11.04.2019). Результаты используются при проведении занятий по дисциплинам «микробиология», «эпизоотология и инфекционные болезни», а также в рамках программ повышения квалификации ветеринарных специалистов.

**По результатам диссертационной работы** опубликовано 8 научных статей, из них 7 – в журналах, рекомендованных ВАК РФ; изданы 1 методические рекомендации; подана 1 заявка на патент РФ на изобретение.

Диссертационная работа Орловой Светланы Тихоновны на тему: «Усовершенствование методов обнаружения микоплазм у собак и кошек», является завершенной научно-квалификационной работой.

По актуальности, объему проведенных исследований, научной новизне, теоретической и практической значимости соответствует требованиям Положения ВАК Российской Федерации п.9, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Заведующий кафедрой инфекционных болезней  
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный  
аграрный университет»  
доктор ветеринарных наук, доцент

П.Н. Щербаков

доктор ветеринарных наук, доцент кафедры  
инфекционных болезней ФГБОУ ВО  
«Южно-Уральский государственный  
аграрный университет»

Т.Н. Шнякина

подписи заверяю:

М.П.

Почтовый адрес: 457100, Российская Федерация,  
Челябинская область, г.Троицк, ул. Гагарина, д. 13  
ФГБОУ ВО Южно-Уральский ГАУ  
E-mail: [kinfbugavm@inbox.ru](mailto:kinfbugavm@inbox.ru) Телефон: 8(35163) 2-37-88

