


**«УТВЕРЖДАЮ»**

Ректор ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э.Баумана», доктор ветеринарных наук, профессор



 Р.Х. Равилов  
« 18 » 11 2020 г.

**ОТЗЫВ**

ведущей организации на диссертацию Насибуллина Ильдара Равильевича «Индикация и идентификация *Aeromonas hydrophila* с использованием биопрепарата на основе специфического бактериофага», представленной к публичной защите в диссертационный совет Д 220.061.07 на базе ФГБУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.02–ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

**Актуальность проблемы.** Бактерии рода *Aeromonas* широко распространены в биосфере. Их активно выделяют из речной и морской воды сточных вод, гидробионтов, продуктов питания, домашних животных, птиц, почвы, беспозвоночных, насекомых, растений. Данный микроорганизм обладает широким набором факторов вирулентности обеспечивающих его патогенность и способен вызывать опасные заболевания, как у человека, так и у животных. Активно размножаясь при низких температурах и вызывая порчу продуктов, бактерии *A. hydrophila* являются возбудителями пищевой инфекции. Вызываемый данной бактерией аэромоноз рыб приводит к массовой гибели рыб и наносит тем самым экономический ущерб рыбноводческим хозяйствам стран. Выделение и идентификацию бактерии *A. hydrophila* проводят бактериологическим методом с использованием целого ряда сред и тест–систем, что требует значительных затрат средств и времени. Использование ПЦР в лабораториях эффективно, но из-за сложности методики и дороговизны оборудования является недоступным для большинства исследователей. В связи с этим диссертационная работа Насибуллина Ильдара Равильевича посвященная созданию биопрепарата на основе специфического бактериофага для индикации и идентификации бактерий *Aeromonas hydrophila* представляет значительный интерес и является актуальной.

**Научная новизна.** Новизна исследований состоит в том, что автором впервые разработана комплексная схема выделения и идентификации *Aeromonas hydrophila*, с использованием биопрепарата на основе специфического бактериофага. Выделены, изучены и селекционированы бактериофаги специфичные к *Aeromonas hydrophila*, разработан биопрепарат для индикации *Aeromonas hydrophila*, определены оптимальные

технологические параметры создания и хранения данного биопрепарата, апробирована схема постановки реакции нарастания титра фага для индикации *Aeromonas hydrophila*. Проведено полногеномное секвенирование бактериофага для определения наличия потенциальных генетических локусов патогенности, биоинформационный (протеомный) анализ данных секвенирования бактериофага F43-УГСХА. Определены филогенетическое положение бактериофага F43-УГСХА в группе аннотированных в системе NCBI. Разработана схема молекулярно-генетической индикации с использованием ПЦР автономных генетических элементов hly в геномах бактериофагов активных в отношении *Aeromonas hydrophila*.

**Научно-практическая значимость работы.** Разработанная автором схема идентификации *Aeromonas hydrophila* с использованием биопрепарата на основе специфического бактериофага сокращает время исследования до 36–38 часов по сравнению с бактериологическим методом. Схема ускоренной индикации *Aeromonas hydrophila* методом РНФ с использованием биопрепарата на основе специфического бактериофага позволяет идентифицировать штаммы *Aeromonas hydrophila* в минимальной концентрации  $10^3$  м.к./мл за 19–24 часа. Молекулярно-генетические исследования подтверждают оригинальность, вирулентную природу и отсутствие локусов патогенности в биопрепарате на основе специфического бактериофага *Aeromonas hydrophila*.

По материалам диссертации разработана нормативно-техническая документация: «Методические рекомендации по изготовлению и контролю бактериофага F43-УГСХА», «Методические рекомендации по ускоренной индикации бактерий *Aeromonas hydrophila* методом реакции нарастания титра фага в объектах санитарного надзора», «Методические рекомендации по индикации и идентификации бактерий *Aeromonas hydrophila* из объектов внешней среды с помощью биопрепарата F43-УГСХА» (протокол № 3 от 29.09.2020 года). Штаммы полученных бактериофагов вошли в музейную коллекцию вирусных и бактериальных штаммов кафедры МВЭиВСЭ УлГАУ и используются в научно-исследовательской работе кафедры.

Материалы диссертационной работы используются в учебном процессе при чтении лекций, для практических занятий студентов, работы аспирантов на кафедре микробиологии, эпизоотологии, вирусологии и ветеринарно-санитарной экспертизе ФГБОУ ВО Ульяновского государственного аграрного университета имени П.А. Столыпина.

**Апробация работы.** Основные положения диссертационной работы доложены, обсуждены и получили одобрение на: Международных научно-практических конференциях Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии им. П. А. Столыпина (Ульяновск, 2005, 2006, 2008, 2009, 2011, 2013, 2014); Международной научно-практической конференции «Биотехнология. Вода и пищевые продукты» (Москва, 2008); Международной научно-практической конференции Курганской ГСХА (Курган, 2013); Международной научно-практической конференции «Бактериофаги: Теоретические и практические аспекты применения в

медицине, ветеринарии и пищевой промышленности» (Ульяновск, 2013), Международной научной конференции «Достижения молодых ученых в ветеринарную практику» (Владимир, 2016).

### **Оценка содержания диссертации, степень обоснованности научных положений, выводов, рекомендаций**

Диссертационная работа состоит из введения, двух глав: обзора специальной литературы, собственных исследований, состоящих из объектов и методов исследований, обсуждения результатов; а также заключения, выводов, практических предложений, списка использованных литературных источников, приложений. Диссертация изложена на 176 страницах компьютерного текста, включает 34 таблицы, 23 рисунка. Список литературных источников содержит 121 отечественных и 130 зарубежных авторов.

В «Введении» обоснованы актуальность и степень разработанности темы; определены цель и задачи исследований; отмечены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы; объект и предмет исследования; методология и методы исследований; отражена степень достоверности и апробация результатов исследований; приведены основные положения, выносимые на защиту.

В «Обзоре литературы» представлен подробный анализ отечественной и зарубежной литературы по вопросу современного состояния таксономии бактерий рода *Aeromonas*, распространенности данных бактерий, дана характеристика основных факторов патогенности. Обозначены основные методы выделения и идентификации *Aeromonas hydrophila*. Приведены данные о выделении бактериофагов, активных в отношении *Aeromonas hydrophila*. Обзорная глава написана на основании большого числа отечественных и зарубежных авторов.

В главе «Материалы и методы» представлено подробное изложение использованных в работе методов исследования (микробиологические, биотехнологические, молекулярно-генетические) и общая схема научных исследований по теме работы.

В главе «Результаты собственных исследований» автор подробно описывает методы и результаты проведенных экспериментов, которые логически выстроены в соответствии с целью и задачами диссертационной работы. Выделяются и изучаются бактерии вида *Aeromonas hydrophila*. Следующим этапом является выделение и изучение бактериофагов специфичных по отношению к *Aeromonas hydrophila*. В результате большой и кропотливой работы разработан биопрепарат для индикации и идентификации *Aeromonas hydrophila*. Изучены его биологические и молекулярно-генетические свойства, определены его биотехнологические параметры для его применения и хранения. На основании полученных данных разработана схема ускоренной индикации *Aeromonas hydrophila* в объектах ветеринарного надзора.

В «Заключении» подведены итоги исследования. Выводы соответствуют основным положениям, выносимым автором работы на защиту и подтверждены результатами исследований.

В «Практических предложениях» отражены рекомендации по применению результатов исследования и намечены перспективы использования лабораторной серии бактериофагов в лабораторной и производственной практике.

#### **Соответствие автореферата основным положениям диссертации**

Содержание автореферата соответствует диссертации и в достаточной степени отражает ее структуру, содержит ее основные положения

#### **Подтверждение опубликованных научных результатов**

По материалам работы опубликовано 15 научных работ, из них 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

#### **Замечания по работе и дискуссионные вопросы**

В заключение диссертации обобщены результаты проведенных исследований, представлены выводы и практические рекомендации. Все они основаны на достоверном фактическом материале, подвергнутом адекватной статистической обработке, и вытекают из представленных в работе данных. Выводы соответствуют поставленным задачам и положениями, выносимым на защиту, отражают суть проведенных исследований и являются логическим завершением работы.

Несмотря на положительную оценку работы, к автору возникли некоторые вопросы и замечания:

1. Выделенные изоляты бактериофагов бактерий *Aeromonas hydrophila* из водоемов были ли депонированы в ВГНК, согласно СП 1.2036-95?
2. По какой методике проводили отбор проб с объектов ветеринарного надзора для индикации возбудителя *Aeromonas hydrophila*.
3. Проводили ли изучение устойчивости выделенных и испытанных бактериофагов для индикации возбудителя *Aeromonas hydrophila*.
4. Применяются ли для экспресс-индикации возбудителя иммунохимические методы (ИФА, МФА, РИА и др.).

Высказанные замечания не носят принципиального характера и не снижают общей положительной оценки и научно-практической ценности диссертационного исследования.

#### **Заключение**

По актуальности избранной темы, степени обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверности и новизне диссертационное исследование Насибуллина Ильдара Равильевича «Индикация и идентификация *Aeromonas hydrophila* с использованием биопрепарата на основе специфического бактериофага», соответствует критериям п. 9 «Положение о порядке присуждения ученых степеней», предъявляемых к кандидатской диссертациям, а ее автор, Насибуллин Ильдар Равильевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.02 - ветеринарная

микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Диссертационная работа, автореферат и отзыв на нее рассмотрены и одобрены на заседании кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, протокол № 7 от 17.11.2020 года.

Галиуллин Альберт Камилович,  
доктор ветеринарных наук по специальности  
16.00.03(ныне-06.02.02)- ветеринарная микробиология, вирусология,  
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология,  
заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии  
и иммунологии федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования «Казанская  
государственная академия ветеринарной медицины имени  
Н.Э.Баумана».

Почтовый адрес организации: 420029, г. Казань, Сибирский тракт, 35.

Контактный телефон: 8 (843) 273 96 17.

e-mail: albert-954@mail.ru

Подпись Галиуллина А.К. заверяю:

Ученый секретарь Ученого совета

ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ,

кандидат вет.наук

17 ноября 2020 года



Н.В.Николаев