

ОТЗЫВ

официального рецензента на диссертационную работу

Байменова Бахита Муратовича на тему «Идентификация *Staphylococcus aureus* и генетических маркеров устойчивости к антибактериальным препаратам в пищевых продуктах методом мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР)», представленную на соискание степени доктора философии по образовательной программе 8D09102 - Ветеринарная санитария.

№ п/п	Критерии	Соответствие критериям (подчеркнуть один из вариантов ответа)	Обоснование позиции официального рецензента (замечания выделить курсивом)
1.	Тема диссертации (на дату ее утверждения) соответствует направлениям развития и/или государственному программ	1.1 Соответствие приоритетным направлениям развития науки или государственным программам: 1) диссертация выполнена в рамках проекта или целевой программы, финансируемого(ой) из государственного бюджета (указать название и номер проекта или программы); 2) диссертация выполнена в рамках другой государственной программы (указать название программы); 3) диссертация соответствует приоритетному направлению развития науки, утвержденному Высшей научно-технической комиссией при Правительстве Республики Казахстан (указать направление).	Диссертационная работа выполнена в рамках научно-технических программ: - МОН РК BR24992785-OT-24 «Организация и проведение комплексных исследований по обеспечению устойчивого развития агропромышленного комплекса Костанайской области с созданием научно-исследовательского технологического центра». По бюджетной программе 217 «Развитие науки», подпрограмма 101 «Программно-целевое финансирование субъектов научной и/или научно-технической деятельности», приоритет «Устойчивое развитие агропромышленного комплекса». - МСХ РК BR10764944 «Разработка методов аналитического контроля и проведения мониторинга безопасности пищевой продукции» финансируемой МСХ в рамках бюджетной программы 267 «Повышение доступности знаний и научных исследований», подпрограмма 101 «Программно-целевое финансирование научных исследований и мероприятий», проект «Разработка мультиплексной ПЦР в реальном времени для выявления <i>Staphylococcus aureus</i> и <i>Sterptococcus agalactiae</i> в молочной продукции и определение локусов антибиотикорезистентности».
2.	Важность для науки	Работа вносит/не вносит существенный вклад в науку, а ее важность хорошо раскрыта/не раскрыта.	Результаты, полученные в ходе выполнения настоящей диссертационной работы, представляют собой значимый вклад в область молекулярно-генетических исследований <i>S. aureus</i>. Получены новые данные об уровне антибиотикорезистентности и генетическом потенциале устойчивости штаммов <i>S. aureus</i>, выделенных из продуктов животного происхождения, циркулирующих на территории Костанайской области. Разработана мультиплексная полимеразная цепная реакция в реальном времени для экспресс-идентификации <i>S. aureus</i> с одновременным определением генов устойчивости (<i>blaZ</i>, <i>ermC</i> и <i>tetK</i>) к антимикробным препаратам. Актуальность и практическая значимость выполненной работы обоснованы и подтверждены полученными результатами.
3.	Принцип самостоятельности	Уровень самостоятельности:	Диссертантом самостоятельно выполнены:

		1) высокий; 2) средний; 3) низкий; 4) самостоятельность нет.	- анализ зарубежной и отечественной литературы по теме исследования; - полный комплекс молекулярно-генетических исследований; - статистическая обработка полученных данных.	- анализ зарубежной и отечественной литературы по теме исследования; - полный комплекс молекулярно-генетических исследований; - статистическая обработка полученных данных.
4.	Принцип единства внутреннего	4.1 Обоснование актуальности диссертации: 1) обоснована; 2) частично обоснована; 3) не обоснована.	Работа посвящена актуальной теме мониторинга распространенности и антибиотикорезистентности возбудителей инфекционных заболеваний животных, в частности <i>S. aureus</i>. В 2015 году на 68-й сессии Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) был принят Глобальный план действий по борьбе с устойчивостью к противомикробным препаратам. ВОЗ призвала международных, региональных и национальных партнеров реализовать соответствующие меры для внесения вклада в решение задач, обозначенных в этом масштабном плане. <i>S. aureus</i> - широко распространенный патоген в животноводстве, представляющий угрозу для здоровья животных и безопасности продукции. Эффективным и высокочувствительным методом выявления данного патогена и определения его генов устойчивости является полимеразная цепная реакция (ПЦР), которая рекомендована для проведения мониторинга в соответствии с международными стандартами, включая рекомендации Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (FAO).	Содержание диссертации полностью соответствует её теме. Все разделы и подразделы обзора литературы и собственных исследований всесторонне раскрывают исследуемую проблему. Диссертация состоит из введения, трёх разделов, заключения, выводов, списка литературы и приложений. Во введении обоснована актуальность исследования, сформулированы цель и задачи работы, определены научная новизна и практическая значимость, а также изложены основные положения, выносимые на защиту. Первый раздел посвящён подробному анализу научной литературы, описывающей методы и результаты молекулярно-генетических исследований, направленных на всестороннее изучение биологии <i>Staphylococcus aureus</i>. Во втором разделе представлены методы исследования, включая дизайн праймеров и флуоресцентно-меченых зондов, разработку протокола ПЦР и создание рекомбинантного положительного контрольного образца. Третий раздел посвящён определению специфичности, чувствительности и диагностической эффективности разработанной мультиплексной ПЦР.
		4.2 Содержание диссертации отражает тему диссертации: 1) отражает; 2) частично отражает; 3) не отражает.	Содержание диссертации полностью соответствует её теме. Все разделы и подразделы обзора литературы и собственных исследований всесторонне раскрывают исследуемую проблему. Диссертация состоит из введения, трёх разделов, заключения, выводов, списка литературы и приложений. Во введении обоснована актуальность исследования, сформулированы цель и задачи работы, определены научная новизна и практическая значимость, а также изложены основные положения, выносимые на защиту. Первый раздел посвящён подробному анализу научной литературы, описывающей методы и результаты молекулярно-генетических исследований, направленных на всестороннее изучение биологии <i>Staphylococcus aureus</i>. Во втором разделе представлены методы исследования, включая дизайн праймеров и флуоресцентно-меченых зондов, разработку протокола ПЦР и создание рекомбинантного положительного контрольного образца. Третий раздел посвящён определению специфичности, чувствительности и диагностической эффективности разработанной мультиплексной ПЦР.	Содержание диссертации полностью соответствует её теме. Все разделы и подразделы обзора литературы и собственных исследований всесторонне раскрывают исследуемую проблему. Диссертация состоит из введения, трёх разделов, заключения, выводов, списка литературы и приложений. Во введении обоснована актуальность исследования, сформулированы цель и задачи работы, определены научная новизна и практическая значимость, а также изложены основные положения, выносимые на защиту. Первый раздел посвящён подробному анализу научной литературы, описывающей методы и результаты молекулярно-генетических исследований, направленных на всестороннее изучение биологии <i>Staphylococcus aureus</i>. Во втором разделе представлены методы исследования, включая дизайн праймеров и флуоресцентно-меченых зондов, разработку протокола ПЦР и создание рекомбинантного положительного контрольного образца. Третий раздел посвящён определению специфичности, чувствительности и диагностической эффективности разработанной мультиплексной ПЦР.
		4.3. Цель и задачи соответствуют теме диссертации:	Цель диссертации сформулирована с учётом ожидаемого итогового	Цель диссертации сформулирована с учётом ожидаемого итогового

	1) соответствуют; 2) частично соответствуют; 3) не соответствуют.	результата исследования и направлена на решение ключевой научной проблемы. Для её достижения определён комплекс взаимосвязанных задач, которые структурируют работу и охватывают все основные этапы исследования. Выполнение поставленных задач обеспечивает систематический подход к достижению цели, позволяя последовательно раскрыть исследуемую тему и достичь научных и практических результатов.
	4.4 Все разделы и положения диссертации логически взаимосвязаны; 1) полностью взаимосвязаны; 2) взаимосвязь частичная; 3) взаимосвязь отсутствует.	Все разделы диссертации логично взаимосвязаны и аргументированы. Работа представляет собой завершённый научный труд, в котором поставленные цель и задачи исследования последовательно реализованы через теоретические и методологические решения, направленные на разработку мультиплексной ПЦР.
	4.5 Предложенные автором новые решения (принципы, методы) аргументированы и оценены по сравнению с известными решениями: 1) критический анализ есть; 2) анализ частичный; 3) анализ представляет собой не собственные мнения, а цитаты других авторов; 4) анализ отсутствует.	Все проведённые исследования и полученные результаты подкреплены критическим анализом, включающим оценку применённой методологии и достоверности научных данных.
5.		Научные результаты и положения являются полностью новыми и получены в ходе собственных исследований. Впервые разработана мультиплексная ПЦР в реальном времени для идентификации <i>S. aureus</i> с одновременным определением генов устойчивости к антимикробным препаратам. Научно обоснована и экспериментально подтверждена эффективность данного метода для исследования пищевых продуктов и биологического материала животного происхождения.
	Принцип научной новизны	Сформулированные в диссертационной работе выводы являются полностью новыми и основаны на результатах собственных исследований. Выводы основаны на всестороннем анализе полученных результатов исследований.
		Технологические результаты, полученные в ходе выполнения диссертационной работы достигнуты благодаря применению новейших молекулярно-генетических методов, которые применяются в мировой исследовательской практике на сегодняшний день.
6.	Обоснованность основных выводов	Все научные положения, выводы и заключения обоснованы, исходя из строгого соблюдения методического подхода, доказательности

либо достаточно хорошо обоснованы (для qualitative research и направлений подготовки по искусству и гуманитарным наукам).	полученных результатов и обоснованности выводов.
Необходимо ответить на следующие вопросы по каждому положению в оглавлении: 7.1 Доказано ли положение? 1) доказано; 2) скорее доказано; 3) скорее не доказано; 4) не доказано; 5) в текущей формулировке проверить доказанность положения невозможно.	7.1 Основные положения, выносимые на защиту: 1. Распространённость штаммов <i>S. aureus</i>, выделенных из продуктов животного происхождения, устойчивых к антибактериальным препаратам, циркулирующих на территории Костанайской области. Положение доказано проведенными исследованиями: всего из 1680 проб продуктов животного происхождения выделено и идентифицировано 87 (5,1%) штаммов <i>S. aureus</i>, в том числе из 1585 образцов молока выделено 82 (5,1%) штамма <i>S. aureus</i> что говорит о достаточно широкой распространенности данного патогена, особенно в молоке коров. Изучена антибиотикорезистентность всех выделенных штаммов: наибольшее количество изолятов <i>S. aureus</i> проявили высокую чувствительность к группе β – лактамных антибиотиков – до 100%, тетрациклинов и фторхинолонов – до 95,4%, макролидов – до 60,92%. 2. Разработка мультиплексной ПЦР для идентификации <i>S. aureus</i> и генетических маркеров устойчивости (blaZ, ermC и tetK) к антибактериальным препаратам в пищевых продуктах животного происхождения. Положение доказано: разработана мультиплексная ПЦР для идентификации <i>S. aureus</i> и генетических маркеров устойчивости (blaZ, ermC и tetK) к антибактериальным препаратам. 3. Идентификация <i>S. aureus</i> и генетических маркеров устойчивости (blaZ, ermC и tetK) к антибактериальным препаратам в пищевых продуктах животного происхождения с применением разработанной мультиплексной полимеразной цепной реакции в реальном времени. Положение доказано: с применением разработанной ПЦР-RV идентифицированы 87 штаммов <i>S. aureus</i> и их генетические маркеры устойчивости (blaZ, ermC и tetK).
Основные положения, выносимые на защиту	7.2 Является ли тривиальным? 1) да; 2) нет; 3) в текущей формулировке проверить тривиальность положения невозможно.
7.3 Является ли новым? 1) да; 2) нет; 3) в текущей формулировке проверить новизну положения невозможно.	7.3 Основные положения являются новыми.

8.	Принцип достоверности. Достоверность источников и предоставляемой информации	7.4 Уровень для применения: 1) узкий; 2) средний ; 3) широкий; 4) в текущей формулировке проверить уровень применения положения невозможно. 7.5 Доказано ли в статье? 1) да; 2) нет; 3) в текущей формулировке проверить доказанность положения в статье невозможно.	7.4 Уровень для применения оценивается как средний , так как область применения разработанной мультитиплексной ПЦР являются исследовательские центры, ветеринарные и медицинские лаборатории.
		8.1 Выбор методологии - обнован или методология достаточно подробно описана: 1) да; 2) нет.	Методы бактериологического и молекулярно-генетического анализа, использованные в данной работе, являются основополагающими для выделения и идентификации изолятов <i>S. aureus</i> и разработки мультитиплексной ПЦР.
		8.2 Результаты диссертационной работы получены с использованием современных методов научных исследований и методик обработки и интерпретации данных с применением компьютерных технологий: 1) да; 2) нет.	Результаты диссертационной работы получены с использованием современных молекулярно-генетических методов исследований. Поиск генов-мишеней осуществляли в базе данных NCBI. Для филогенетического анализа использовали программу MEGA 11, для оценки свойств праймеров - IDT OligoAnalyzer Tool, для анализа нуклеотидных последовательностей - NCBI BLAST, для дизайна праймеров - NCBI Primer-BLAST.
		8.3 Теоретические выводы, модели, выявленные взаимосвязи и закономерности доказаны и подтверждены экспериментальным исследованием (для направлений подготовки по педагогическим наукам результаты доказаны на основе педагогического эксперимента): 1) да; 2) нет.	Сформулированные выводы и выявленные закономерности, полученные в результате теоретического анализа, нашли подтверждение в ходе экспериментальных исследований, что свидетельствует об их научной обоснованности, достоверности и практической значимости.
		8.4 Важные утверждения подтверждены /частично подтверждены/не подтверждены ссылками на актуальную и достоверную научную литературу.	Ключевые положения диссертации рассматриваются в сравнительном аспекте с опорой на актуальные и достоверные литературные источники. В частности, полученные данные по антибиотикорезистентности <i>S. aureus</i> , показатели специфичности по гену <i>hns</i> , а также порог чувствительности разработанной ПЦР-реакции согласуются с результатами аналогичных исследований, что подтверждает их надёжность и научную состоятельность.
		8.5 Использованные источники литературы достаточно /не достаточно для литературного обзора.	В работе использовано 412 источников литературы, из которых более 50 % опубликованы за последние пять лет, при этом 408 источников — из англоязычных научных публикаций. Таким образом, объём и

		актуальность использованной литературы являюся достаточными для всестороннего и современного литературного обзора.
9	Принцип практической ценности	Диссертация обладает теоретическим значением, поскольку в ходе работы был накоплен значительный объём данных о распространении и антибиотикорезистентности <i>S. aureus</i> в продуктах животного происхождения. Кроме того, нуклеотидные последовательности гена 16S рРНК восьми штаммов <i>S. aureus</i> были секвенированы и размещены в открытом доступе в базе данных GenBank (NCBI), что расширяет научную базу для дальнейших исследований в данной области. (№ PR845836.1; PR845837.1; PR845838.1; PR845839.1; PR845840.1; PR845841.1; PR845842.1; PR845843.1). На основании проведенных исследований разработаны и предложены: - набор на основе мультиметрической ПЦР-РВ для одновременной детекции штаммов <i>S. aureus</i> и генетических маркеров резистентности (blaZ, ermC и tetK) к антибактериальным препаратам; - нормативно-техническая документация СО 034-2023 «Набор для выявления <i>Staphylococcus aureus</i> и <i>Streptococcus agalactiae</i> в молочной продукции»; - практические рекомендации «Лабораторная диагностика и идентификация возбудителей стафилококкозов, сальмонеллез и эшерихиозов» для специалистов диагностических лабораторий, преподавателей, студентов; - получен патент РК на полезную модель. Предложения для практики являются полностью новыми: впервые разработана мультиметрическая полимеразная цепная реакция в реальном времени для экспресс-идентификации <i>S. aureus</i> с одновременным определением генов устойчивости (blaZ, ermC и tetK) к антибактериальным препаратам. Разработан пакет нормативно-технической документации: стандарт организации, инструкция по изготовлению и контролю, наставление по применению набора для выявления <i>Staphylococcus aureus</i> и <i>Streptococcus agalactiae</i> в молочной продукции.
9.1	Диссертация имеет теоретическое значение:	
1) да;		
2) нет.		
9.2	Диссертация имеет практическое значение и существует высокая вероятность применения полученных результатов на практике:	
1) да;		
2) нет.		
9.3	Предложения для практики являются новыми:	
1) полностью новые;		
2) частично новые (новыми являются 25-75%);		
3) не новые (новыми являются менее 25%).		
10.	Качество написания и оформления	Качество академического письма: 1) высокое; 2) среднее; 3) ниже среднего; 4) низкое. Качество академического письма высокое. Материал изложен четко, ясно, логически последовательно. Диссертационная работа оформлена в соответствии с требованиями.
11.	Замечания к диссертации	1. Положения, выносимые на защиту: п.1 предлагаю привести в следующей редакции «Распространённость и устойчивость к антибактериальным препаратам штаммов <i>Staphylococcus aureus</i> из продуктов животного происхождения в Костанайской области»

12.	научный уровень статей докторанта по теме исследования (в случае защиты диссертации в форме серии статей официальные рецензенты комментируют научный уровень каждой статьи докторанта по теме исследования)	Научный уровень статей докторанта по теме исследования высокий. Это подтверждается публикацией 11 статей, в том числе в журнале, входящем в международную базу данных Scopus (процентиль 80).
13.	Решение официального рецензента (согласно пункту 28 настоящего Типового положения)	На основании вышеизложенного заключаю, что диссертационная работа по теме «Идентификация <i>Starphylodossis angus</i> и генетических маркеров устойчивости к антибактериальным препаратам в пищевых продуктах методом мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР)» выполнена в полном объеме, является завершенной научно-исследовательской работой выполненной самостоятельно. Работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание степени доктора философии (PhD), а ее автор Байменов Бахит Муратович заслуживает присвоения степени доктора философии (PhD), по образовательной программе 8D09102 - Ветеринарная санитария.

Решение: на основании вышеизложенного, ходатайствуя перед Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования МНВО РК:

1) о присуждении соискателю Байменову Бахиту Муратовичу степени доктора философии по образовательной программе 8D09102 - ветеринарная санитария.

Официальный рецензент:

кандидат ветеринарных наук,
ассоциированный профессор,
главный научный сотрудник
лаборатории прикладной генетики НЦБ

Куйбагаров М. А.



Подпись, заверенная по месту работы