

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Зайцева Сергея Сергеевича на тему: «Изучение возбудителей abortогенных инфекций сельскохозяйственных животных с применением методов молекулярно-генетического анализа», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных

Актуальность темы диссертационного исследования

Инфекционные болезни (ИБ) сельскохозяйственных животных (СХЖ) являются серьезной проблемой на территории большинства стран и континентов, вызывая колоссальные экономические потери в сельском хозяйстве. Важно, что некоторые патогенные микроорганизмы – возбудители ИБ СХЖ, способны вызывать хронические воспаления урогенитального тракта, инфекционные аборт, в некоторых случаях приводить к развитию бесплодия продуктивных животных, что наносит ощутимый урон сфере животноводства. Также немаловажным фактором является индикация у животных различных условно-патогенных микроорганизмов, вызывающих инфекционные процессы и обладающих устойчивостью к различным классам антибиотиков, что значительно затрудняет своевременную этиотропную терапию ИБ СХЖ.

Одним из ключевых факторов в борьбе с ИБ СХЖ является детальное изучение инфекционных агентов. Получение знаний о генетических особенностях необходимо для своевременной индикации и идентификации этиологического фактора ИБ, разработки успешной терапии и расследования возникающих вспышек заразных болезней СХЖ с целью определения рисков дальнейшего их распространения. Современные молекулярно-генетические методы позволяют в полной мере получить информацию о генетических особенностях возбудителей ИБ, в частности ассоциированных с инфекционными абортами у продуктивных СХЖ и пушных зверей.

В связи с этим диссертационное исследование Зайцева С.С., посвященное изучению возбудителей ИБ СХЖ, ассоциированных с инфекционными абортами и воспалительными процессами органов репродуктивной системы, является актуальным и соответствует паспорту специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных.

Значимость полученных автором диссертационной работы результатов для развития науки

Представленные в работе данные вносят весомый вклад в изучение геномных особенностей возбудителей ИБ, ассоциированных со случаями аборт у СХЖ, включая пушных зверей. Полученные результаты могут быть использованы для целей эпизоотологического анализа, в молекулярной эпидемиологии при расследовании новых вспышек хламидийной инфекции на территории РФ и во всем мире и анализа генетических последовательностей патогенных микроорганизмов, что, в перспективе, позволит совершенствовать диагностические и профилактические мероприятия, в частности, при разработке тест-систем или конструировании вакцин нового поколения. Обнаружение штамма *E. hormaechei subsp. xiangfangensis*, изолированного от крупного рогатого скота (КРС), существенно расширяет список потенциальных этиологических факторов при возникновении случаев воспалительных процессов репродуктивной системы у продуктивных животных, включая случаи инфекционных аборт. Также немаловажным является факт обнаружения у штамма *E. hormaechei subsp. xiangfangensis* множественной лекарственной устойчивости, что в свою очередь расширяет знания о возбудителях ИБ и способствует реализации стратегии борьбы с появлением и распространением резистентных штаммов.

Новизна исследования и полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертационной работе

В результате секвенирования, биоинформатической обработки данных и последующей сборки методом *de novo*, впервые были получены полные последовательности хромосом и плазмид трех штаммов *C. psittaci* (Rostinovo-70, АМК-16 и ВЛ-84), а также контиги штамма *E. hormaechei subsp. xiangfangensis* Saratov_2019, изолированных на территории РФ от СХЖ, включая пушных зверей. Полученные последовательности были аннотированы и депонированы в международные базы данных. Анализ таргетных участков генома хламидийных штаммов выявил наличие единичных нуклеотидных замен в гене *ompA*, ранее не идентифицированных у представителей данного вида патогенов, что привело к образованию нового генотипа «G». Молекулярное типирование на основе семи генов «домашнего хозяйства» продемонстрировало принадлежность исследуемых патогенов к сиквенс-типу ST28, ранее ассоциированному только со штаммами хламидий, изолированных от птиц и человека, но не от СХЖ. Также в геномах указанных штаммов обнаружен участок из 20 кодирующих последовательностей, обладающих высокой гомологией с видом *C. abortus*, что было ассоциировано с процессом потенциальной гомологичной рекомбинации с представителями указанного вида.

Метагеномный анализ и последующее полногеномное секвенирование ДНК штамма, изолированного из биоматериала от КРС, показало принадлежность потенциального возбудителя инфекционного заболевания к виду *E. hormaechei subsp. xiangfangensis*. До настоящего диссертационного исследования указанные возбудители ассоциировались в основном со случаями возникновения нозокомиальных инфекции и только в единичных случаях выступали в роли этиологического агента инфекционных заболеваний репродуктивной системы СХЖ. Наряду с этим, обнаруженный штамм обладал 11-ю генами резистентности, 9 из которых коррелировали с

фенотипической резистентностью к 8 классам противомикробных препаратов. Продемонстрировано, что штамм *E. hormaechei* subsp. *xiangfangensis* обладал новым сиквенс-типом ST1416.

Обоснованность научных положений, выводов и заключений

Обоснованность научных положений, выводов и заключений не вызывает сомнений и подтверждается обоснованным выбором цели и задач исследования, достаточным объемом экспериментального материала. Автором грамотно спланирован дизайн исследования, ясно и четко сформулированы критерии выбора используемых инструментов и обоснован выбор методов исследования.

Результаты диссертационного исследования полностью отражены в 22 рисунках и 21 таблице, позволяющих ориентироваться в представленных данных. Выводы и научные положения логично вытекают из результатов собственных исследований, которые отвечают на поставленные задачи диссертационной работы.

Достоверность научных положений, результатов и выводов

Достоверность полученных результатов, представленных в диссертационной работе, подтверждается корректным применением инструментов обработки данных, анализ результатов проведен с использованием актуальных и современных биоинформатических инструментов и подходов. Также достоверность данных подтверждена апробацией материалов исследования на Российских и международных конференциях высокого ранга и печатными работами в журналах, индексируемых в международных базах данных WoS и Scopus.

Раздел «Обзор литературы» в полной мере раскрывает современное состояние проблемы, систематизируя накопленные знания в области

диссертационного исследования, в частности, в полной мере освящая ключевые аспекты применения современных методов и инструментов молекулярно-генетического анализа возбудителей инфекционных заболеваний животных, используемых в работе.

В разделе «Собственные исследования» подробно приводится список всех используемых материалов, современных молекулярно-генетических и биоинформатических инструментов с указанием параметров и подходов, используемых при анализе данных.

Раздел «Результаты исследований и их обсуждение» разделен на два подраздела, первый из которых посвящен обработке и подготовке данных секвенирования, полученных с двух платформ секвенирования, сборке геномов методом *de novo* и последующего детального анализа сгенерированных хромосом и плазмид трех штаммов *C. psittaci* (Rostinovo-70, BL-84 и АМК-16), включающих моно- и мультилокусное типирование, филогенетическое исследование и сравнение геномов исследуемых штаммов с референтным штаммом. Второй подраздел посвящён использованию метагеномного анализа для изучения биоматериала, выявлению и последующей молекулярно-генетической характеристике штамма *E. hormaechei subsp. xiangfangensis* Saratov_2019, являющегося потенциальным возбудителем инфекционного аборта и ассоциированного с воспалительным процессом органов репродуктивной системы у КРС. Для подтверждения генетически детерминированной резистентности, указанный штамм был протестирован диско-диффузионным тестом, что позволило установить резистентность к 8-и классам противомикробных препаратов.

Соответствие автореферата основным положениям диссертационного исследования

Содержание автореферата диссертационной работы автора в полной мере отражает сущность диссертационной работы. Цель, задачи, положения,

выносимые на защиту, заключение и выводы, приведенные в автореферате, соответствуют таковым в диссертационной работе.

Подтверждение опубликованных основных результатов диссертационного исследования в научной печати

Основное содержание диссертационной работы отражено в 9 публикациях, из которых 1 статья опубликована в журнале, рекомендованном ВАК РФ, и 3 статьи - в изданиях, индексируемых в международных базах данных (WoS, Scopus). Результаты диссертационного исследования прошли широкую апробацию на профильных международных научно-практических конференциях. Содержание диссертации полностью отражено в текстах опубликованных работ, а тема диссертационной работы полностью соответствует научной специальности диссертационной работы Зайцева С.С.

Оценка содержания диссертационного исследования, его завершенность в целом, замечания по оформлению

Диссертационная работа Зайцева С.С. выполнена по традиционному плану и состоит из: введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, заключения, списка цитируемой литературы (представленного 288 источниками литературы, из которых 207 иностранных и 21 отечественных).

На основе анализа доступной литературы автором была четко определена актуальность проблемы и на ее основе сформулирована цель исследования. Для реализации поставленной цели было определено 4 задачи, на которые даны ответы в 5-и выводах. Экспериментальные данные, полученные автором, представлены в главе "Результаты собственных исследований". Полученные результаты визуализированы в рисунках и

систематизированы по таблицам, что значительно облегчает восприятие материала.

В заключение диссертации обобщены литературные данные и сопоставимые с ними результаты, полученные в настоящем исследовании. В конце исследования кратко представлены перспективы дальнейшей разработки темы и практические предложения. Выводы согласуются с задачами исследования и положениями, выносимыми на защиту, и отражают суть проведенных исследований, являясь логическим завершением работы.

Оценивая положительно представленную к защите диссертационную работу Зайцева Сергея Сергеевича, отмечая ее завершенность, внутреннее единство и научный вклад, к автору имеются следующие вопросы:

1. С чем был связан выбор панели антибиотиков при тестировании диско-диффузионным методом штамма *E. hormaechei subsp. xiangfangensis* Saratov_2019 для определения его фенотипической активности?

2. Почему для монолокусного типирования возбудителей хламидиоза вы использовали ген *ompA*, а не какой-либо иной?

3. Для типирования хламидийных штаммов была использована схема типирования на основе «семи генов домашнего» хозяйства. В связи с чем была выбрана указанная схема и отличается ли она от типирования для *E. hormaechei subsp. xiangfangensis*?

Заключение

По актуальности избранной темы, степени обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверности и новизне диссертационное исследование Зайцева Сергея Сергеевича на тему: «Изучение возбудителей abortогенных инфекций сельскохозяйственных животных с применением методов молекулярно-генетического анализа», соответствует критериям п. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением

Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемым к кандидатской диссертациям, а ее автор, Зайцев Сергей Сергеевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных.

Официальный оппонент

Богданов Ильгизар Исмаилович

кандидат ветеринарных наук по специальности 16.00.03 - Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология, доцент

Первый проректор - проректор по научной работе и цифровой трансформации

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина»

432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, дом 1.

Контактный телефон: +7(8422)559549

e-mail: nir-ulgau@yandex.ru

Подпись Богданова И.И. заверяю:

