

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 исследования

Развитие технологий секвенирования за последние десятилетия открыло новые перспективы в изучении возбудителей инфекционных заболеваний животных, позволяя проводить сравнительный геномный анализ, выявлять генетически обусловленную резистентность, изучать эволюцию, филогенетические взаимоотношения патогенных микроорганизмов, важных для прояснения детальных молекулярно-генетических характеристик патогенов, значительно сократив стоимость и время для диагностики и идентификации этиологических агентов различных инфекций сельскохозяйственных животных. Также современные платформы секвенирования позволяют проводить метагеномный анализ биоматериала, полученного от больного животного, открывая тем самым возможность выявления полного спектра патогенов, присутствующих в тестируемом образце. Это способствует выявлению новых возбудителей, потенциально вовлеченных в инфекционные процессы у животных сельскохозяйственного назначения. Применение указанных технологий является ключевым фактором в мероприятиях, направленных как на борьбу, так и на профилактику инфекционных болезней животных.

Исходя из этого, диссертационное исследование Зайцева С.С., посвященное изучению возбудителей abortогенных инфекций сельскохозяйственных животных с применением методов молекулярно-генетического анализа, на моделях 3-х штаммов *C. psittaci* (Rostinovo-70, АМК-16 и ВL-84), изолированных от мелкого рогатого скота с инфекционными абортами, и условно-патогенного штамма *E. hormaechei*

subsp. xiangfangensis, потенциально ассоциированного с воспалением органов репродуктивной системы у крупного рогатого скота и случаями инфекционных аборт, несомненно, актуально.

Научная новизна, обоснованность и достоверность полученных положений и выводов

Диссертационная работа Зайцева С.С. содержит ряд новых научных положений. Впервые проведено полногеномное секвенирование трех штаммов патогенных микроорганизмов вида *C. psittaci*, циркулирующих на территории РФ с 1970 по 2016 годы и вызвавших вспышки инфекционных аборт у сельскохозяйственных, в том числе, пушных зверей. Обнаружено, что указанные возбудители обладали новым генотипом, обозначенным в диссертационном исследовании как генотип «G». Показано, что данный генотип ранее не был идентифицирован у представителей хламидий вида *C. psittaci*. На основе MLST была определена принадлежность штаммов к сиквенс-типу ST28. Показано близкое филогенетическое родство изучаемых микроорганизмов относительно штамма *C. psittaci* GR9, изолированного на территории Германии от утки в 1960 г. В геномах указанных штаммов обнаружен участок потенциальной гомологичной рекомбинации с представителями вида *C. abortus*.

С применением метагеномного анализа в биоматериале от крупного рогатого скота с признаками воспаления органов репродуктивной системы и анамнестическими абортами, идентифицировано доминирующее количество ДНК условно-патогенного микроорганизма, принадлежащего к роду *Enterobacter*. На основе секвенирования и последующей сборки генома методом *de novo*, показана принадлежность микроорганизма к виду *E. hormaechei subsp. xiangfangensis*, обозначенного автором как Saratov_2019, ранее идентифицированного в биоматериале от крупного рогатого скота. Продемонстрировано, что указанный штамм содержал 11 генов резистентности, наличие 9 из которых коррелировало с фенотипической

устойчивостью к 8 классам противомикробных препаратов. Установлена принадлежность данного штамма к новому сиквенс-типу ST1416.

Все полученные автором результаты сопоставимы с исследованиями в указанной области, на основании чего можно судить о новизне и приоритетности материалов диссертации.

Достоверность полученных результатов в исследовании Зайцева С.С. и сделанных на их основе выводов не вызывает сомнений. Применение молекулярно-генетических методов анализа позволяет наиболее полно охарактеризовать геномы возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных. Результаты, представленные в диссертационном исследовании, обеспечивают доказательность положений, выносимых на защиту.

В целом диссертацию Зайцева С.С. следует оценить как работу с обоснованными выводами, которые вытекают из анализа представленных материалов собственных исследований и анализа литературных данных.

Общая оценка работы

Диссертация Зайцева С.С. имеет традиционную структуру, изложена на 188 страницах компьютерного текста, иллюстрирована достаточным количеством рисунков и таблиц (22 рис., 21 таб.). В главе «Обзор литературы» проанализированы 228 научных работ, подробно раскрывающих состояние проблемы инфекционных заболеваний животных, приведены данные об изучаемых возбудителях, а также описаны современные методы и подходы, касающиеся молекулярно-генетического анализа основных геномных характеристик патогенов сельскохозяйственных животных. Проведенный автором анализ свидетельствует о его компетентности в изучаемой области, аргументирует цель работы и позволяет оценить степень новизны результатов. Важно отметить большой объем диссертационного исследования и новизну полученного материала, а также внутреннее единство диссертации.

Материалы диссертации были представлены на: VIII Международной школе молодых учёных по молекулярной генетике «Принципы организации и

функционирования живых систем» (Звенигород, 2018), 44-ом конгрессе FEBS «From molecules to living systems» (Краков, 2019), Научно-практической конференции «Генетика, селекция и биотехнология животных: на пути к совершенству» с международным участием, приуроченной к 80-летию института ВНИИГРЖ (Пушкино, 2020), IX Международной школе молодых ученых по молекулярной генетике «Геномика 21 века – от исследования геномов к генетическим технологиям» (Звенигород, 2021), Международной научно-практической конференции «Фундаментальные научные исследования и их прикладные аспекты в биотехнологиях и сельском хозяйстве» (в рамках заседания Всероссийского координационного совета по зернофуражным культурам) FSRAABA 2021 (Тюмень, 2021), Ежегодной Всероссийской научной школе-семинаре «Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине - 2021» (Саратов, 2021), FEMS Conference on Microbiology (Белград, 2022).

По теме диссертации опубликовано 9 работ, из них 1 статья в журналах, рекомендованных ВАК РФ, и 3 статьи в журналах, индексируемых в международных базах данных WoS и Scopus.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации. Выводы диссертации соответствуют поставленным задачам и согласуются с основными результатами проведенного исследования.

Замечания и вопросы

Несмотря на высокую оценку работы необходимо выделить ряд вопросов:

1. Проведенный в рамках настоящей диссертационной работы филогенетический анализ штаммов *C. psittaci* продемонстрировал, что изучаемые штаммы обладали наибольшей гомологией с референтным штаммом *C. psittaci* GR9. Указывает ли это на то, что штаммы Rostinovo-70, АМК-16 и BL-84 эволюционно произошли от штамма GR9?

2. В диссертационной работе указано, что новый генотип «G», определённый у исследуемых штаммов на основе последовательности гена

ompA, имел идентичные однонуклеотидные замены, как и у штамма *S. abortus* CG1. По вашему мнению, указанный штамм все-таки ближе к виду *S. abortus* или к *S. psittaci*? И почему?

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
Забережный Алексей Дмитриевич
доктор биологических наук по специальности 03.00.06 – Вирусология.
Профессор, член-корреспондент РАН
Директор
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности»
Контактный телефон: +7 (495) 785-8425
e-mail: zaberezhny@mail.ru
141142, Московская область, городской округ Лосино-Петровский, пос. Биокомбината, стр. 17, к.1

Подпись Забережного А.Д. заверяю:
ученый секретарь ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности»
кандидат сельскохозяйственных наук

07.04.2023₂

Маркова Е.В.

