

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Зайцева Сергея Сергеевича «Изучение возбудителей абортотенных инфекций сельскохозяйственных животных с применением методов молекулярно-генетического анализа» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.2.3 Инфекционные болезни и иммунология животных

На сегодняшний день выделяют большую группу микроорганизмов, ответственных за развитие инфекционных абортов животных. Фенотипические свойства и особенности биологии большинства из них уже хорошо изучены и описаны в литературе, однако изучение геномной структуры стало доступно относительно недавно. Благодаря таргетному секвенированию, представление о геномной структуре многих инфекционных агентов существенно расширилось, были выполнены сложнейшие эксперименты по сборке геномов на основе этой технологии. Однако в большинстве своем из-за высокой дороговизны и сложности выполнения, такие эксперименты были строго лимитированными. Активное изучение бактериальных патогенов на основе полных геномов началось сравнительно недавно. С появлением NGS секвенирования второго поколения в 2005 г. стало возможным получение большого объема данных, а появившееся в 2014 г. секвенирование третьего поколения Oxford Nanopore позволило значительно расширить эти возможности. Применение обеих технологий, как в диагностике, так и для детальной характеристики бактериальных или вирусных патогенов позволили не только удешевить такие исследования, но и значительно уменьшить трудозатраты и сложность их выполнения. На сегодняшний день детальная генетическая характеристика патогенных и условно-патогенных бактерий стала намного доступнее, что существенно расширяет возможности изучения как эволюционных связей между микроорганизмами, так и позволяя детально характеризовать их на генетическом уровне, выявляя антибиотикорезистентные свойства, факторы вирулентности и т. д.

В связи с вышеизложенным, целью исследования диссертационной работы явилось изучение возбудителей абортотенных инфекций сельскохозяйственных животных (СХЖ) с использованием молекулярно-генетических методов на модели коллекционных штаммов *C. psittaci* и образцов ДНК из биоматериала крупного рогатого скота (КРС) с клиническими признаками воспаления урогенитального тракта и анамнестическими абортами, с последующим выявлением и характеристикой спектра генов резистентности с применением платформ NGS-2 и NGS-3.

Научная новизна работы. Впервые с применением платформ NGS-2 и NGS-3 и последующей сборкой полногеномных последовательностей методом *de novo* получены данные о детальных молекулярно-генетических характеристиках коллекционных штаммов *C. psittaci* Rostinovo-70, AMK-16 и BL-84 – возбудителей инфекционных абортов, изолированных во время вспышек хламидиоза у СХЖ на территории РФ. Приоритетными являются данные о выявлении у представителей *C. psittaci* нового генотипа «G». Впервые продемонстрирована принадлежность штаммов, изолированных от СХЖ и пушных зверей, к сиквенса-типу ST28. В ходе работы в хромосомах исследуемых штаммов *C. psittaci* (Rostinovo-70, AMK-16 и BL-84) выявлен уникальный участок из 20 кодирующих последовательностей (CDS), указывающий на потенциальную гомологичную рекомбинацию с представителями *C. abortus*.

Новыми являются данные, полученные в результате метагеномного анализа, об обнаружении в биоматериале КРС с ИБ органов репродуктивной системы ДНК представителя рода *Enterobacter*. Впервые с применением платформ NGS-2 и NGS-3 произведено секвенирование, сборка методом *de novo* и изучение молекулярно-генетических характеристик геномной последовательности потенциального возбудителя инфекционных болезней (ИБ) КРС – штамма *Enterobacter hormaechei subsp. xiangfangensis* Saratov_2019. Важным с точки зрения диагностики ИБ животных является обнаружение в биоматериале КРС с признаками воспаления урогенитального тракта и анамнестическими абортами указанного штамма, несущего не менее 9 генов, ассоциированных с проявлением фенотипической резистентности к 8 различным классам противомикробных препаратов, применяемых в ветеринарной практике.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты работы вносят значимый вклад в фундаментальные исследования возбудителей, вызывающих ИБ репродуктивной системы СХЖ, и обладают перспективой их практического использования в экспериментальной биологии, ветеринарии и сельском хозяйстве.

Полученные данные о ключевых молекулярно-генетических характеристиках расшифрованных геномов трех коллекционных штаммов *C. psittaci* - Rostinovo-70, АМК-16 и BL-84, изолированных во время вспышек хламидиоза от животных с инфекционными абортами в разных хозяйствах РФ, дополняют имеющиеся сведения об особенностях возбудителей, ассоциированных с ИБ репродуктивной системы СХЖ. Результаты моно- и мультилокусного типирования на основе полиморфизма гена *ompA* и 7 генов «домашнего хозяйства» (*gatA*, *oppA*, *hfiX*, *gitA*, *enoA*, *hemN* и *fumC*) об обнаружении принадлежности циркулирующих на территории РФ штаммов *C. psittaci* к новому генотипу «G» и сиквенс-типу 28 (ST28) расширяют современные научные представления о молекулярной эволюции хламидий. Указанные данные являются важными для совершенствования методов диагностики, дифференциации и типирования изолятов *C. psittaci*, а также молекулярной эпидемиологии возбудителей ИБ СХЖ. Приоритетные данные об уникальных особенностях указанных штаммов, в том числе, сведения об отсутствии в хромосомах генов резистентности и наличии участка гомологичной рекомбинации с представителями *C. abortus*, могут быть использованы при поиске новых диагностических молекулярных маркеров и конструировании эффективных профилактических препаратов нового поколения.

Данные, полученные с применением платформ NGS-2 и NGS-3, о детекции в биоматериале КРС с анамнестическими абортами ДНК штамма *E. hormaechei subsp. xiangfangensis* Saratov/2019 расширяют спектр потенциальных возбудителей инфекционного аборта СХЖ. Установленная принадлежность данного патогена к новому сиквенс-типу ST1416 является важной с точки зрения молекулярной эпидемиологии при мониторинге появления на территории РФ новых клональных линий возбудителей ИБ СХЖ. Выявление у указанного штамма генетически детерминированной множественной фенотипической лекарственной резистентности является перспективным для совершенствования контроля за появлением и распространением антибиотикорезистентных штаммов в секторе животноводства на территории РФ. Оригинальные расшифрованные нуклеотидные последовательности полных геномов штаммов *C. psittaci* (Rostinovo-70, BL-84 и АМК-16) и контигов штамма *E. hormaechei subsp. xiangfangensis* Saratov_2019 депонированы в мировые базы данных (NCBI GenBank, PubMLST) (Номера доступа: CP047320.1, CP041038.1, CP041039.1, CP047319.1, CP094377, PRJNA732817).

Автор провел большие по объему исследования, убедительные результаты которых представил в заключении. Заключение представляет анализ полученных данных в сопоставлении с материалами, имеющимися в литературе, а также включает в себя пять выводов и практические предложения, которые резюмируют выполненную Сергеем Сергеевичем работу и вытекают из результатов собственных исследований.

Достоверность и обоснованность выводов и рекомендаций достигнуты за счет правильного планирования экспериментов и интерпретации полученных результатов.

Основные результаты диссертационной работы опубликованы в девяти научных статьях, из которых одна – в рецензируемом научном издании, рекомендованном ВАК Минобрнауки России; три – в изданиях из международных баз данных.

Проведенные Зайцевым Сергеем Сергеевичем исследования, их анализ и интерпретация свидетельствуют о том, что сформулированная в работе цель достигнута, а поставленные задачи решены. Диссертация представляет собой законченную научно-квалификационную работу, результаты которой имеют важное научное и народнохозяйственное значение.

В целом диссертационная работа Зайцева С.С. «Изучение возбудителей abortогенных инфекций сельскохозяйственных животных с применением методов молекулярно-генетического анализа» по творческому подходу, новизне, достоверности и обоснованности научных положений и выводов, практической значимости отвечает требованиям пункта 9 «Положение о порядке присуждения учёных степеней» от 24 сентября 2013 г. № 842 (с изменениями на 26.01.2023 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор Сергей Сергеевич Зайцев достоин присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 4.2.3 Инфекционные болезни и иммунология животных.

Профессор кафедры
инфекционных болезней,
зооигиены и ветсанэкспертизы
ФГБОУ ВО Башкирский ГАУ,
д-р биол. наук, профессор

Андреева
Альфия Васильевна

Старший преподаватель кафедры
инфекционных болезней,
зооигиены и ветсанэкспертизы
ФГБОУ ВО Башкирский ГАУ,
канд. биол. наук

Алтынбеков
Олег Маратович

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет»
450001, Приволжский федеральный округ, Республика Башкортостан,
г. Уфа, ул. 50-летия Октября, 34.
Телефон: +7(347) 228-07-19, E-mail: bgau@ufanet.ru

ВЕРНО: 
ИНН 0278011005

