

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Ломакина Артёма Андреевича «Разработка методов лабораторной диагностики инфекций, вызываемых бактериями *Aeromonas hydrophila*», представленной в диссертационный совет 35.2.035.01 при ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова» на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных

Актуальность исследования. Аквакультура обеспечивает мир качественным белком. В 2020 году произведено 122,6 млн тонн продукции на 281,5 млрд долларов. Бактерии *Aeromonas hydrophila* вызывают аэромоноз у рыб, проявляющийся поражениями кожи, язвами и другими симптомами. В России аэромоноз встречается эпизодически, чаще в Московской, Оренбургской, Кировской и других областях. Для диагностики этого заболевания используются «Методические указания ...» (1986), в которых изложены методологические приемы не позволяющие достоверно идентифицировать *A. hydrophila*. Разработка современных методов лабораторной диагностики инфекций *A. hydrophila* является актуальной задачей.

Степень разработанности темы. Для идентификации бактерий *Aeromonas*, включая *A. hydrophila*, используются фенотипические, серологические и молекулярные методы. Однако автоматизированные системы, такие как API-20E и Vitek2, ограничены в применении. Методы полногеномного секвенирования и детекции генов вирулентности (*act*, *aer*, *hlyA*, *ast*) применяются для идентификации *A. hydrophila*. Однако, некоторые гены обнаруживаются и у других видов микроорганизмов, что приводит к недостоверным результатам. Из-за ограничений методов, полевые изоляты *Aeromonas* могут быть ошибочно идентифицированы. В связи с этим необходимо разработать комплексную тест-систему, сочетающую бактериологические и молекулярно-генетические характеристики для мониторинговых исследований.

Цель исследований. Ломакин А.А. поставил перед собой цель разработать и протестировать комплексную систему для выделения и идентификации бактерий *Aeromonas hydrophila*, основанную на бактериологических и молекулярно-генетических методах. Данная цель носит практический характер, так как применение научной разработки на практике позволит сократить время детекции и идентификации возбудителя аэромоноза рыб.

Научная новизна. В результате работы автора при использовании разработанной тест-системы сформирована коллекция из 15 полевых изолятов: 10 идентифицированы как *A. hydrophila*, 5 - как *Aeromonas* spp. по участкам генов 16S рРНК и *gyrB*. Разработаны и оптимизированы праймерные системы для ПЦР-идентификации *A. hydrophila*, включая ПЦР-РВ по гену *zipA*. Впервые в России создана методика детекции ДНК бактерий *A.*

hydrophila с методом LAMP. Молекулярно-генетически охарактеризованы 10 изолятов *A. hydrophila* с анализом генов вирулентности. Изучено генетическое родство эталонных штаммов *Aeromonas* и полевых изолятов *A. hydrophila* методами ERIC и BOX-элементов.

Степень достоверности. Степень достоверности подтверждается значительным объемом использованного литературного и фактического материала, а также современными подходами и методами исследования.

Личный вклад автора. Автор самостоятельно подготовил диссертацию, которая является результатом его научной деятельности. В процессе работы были поставлены цель и задачи исследования. Также были изучены существующие научные работы по данной теме и освоены современные методы исследования. Была проведена экспериментальная часть работы, результаты которой были тщательно проанализированы и интерпретированы. Полученные результаты были опубликованы в научных статьях.

Публикации автора. В рамках исследования автор подготовил 8 научных работ, из которых 3 были опубликованы в журналах, включённых в перечень ВАК РФ, рекомендованный для публикации результатов научных исследований.

Предложения производству. Для практического применения результатов научных исследований разработаны и утверждены в соответствующем порядке две инструкции: «Методические указания по применению набора реагентов для выявления и идентификации ДНК *Aeromonas hydrophila* методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме «реального времени» и «Методические указания по применению набора реагентов для выявления *Aeromonas hydrophila* методом LAMP (петлевой изотермической амплификации)». Результаты используются в учебном процессе ФГБОУ ВО Ульяновский государственный аграрный университет имени П. А. Столыпина.

На основании вышеизложенного, можно сделать вывод, что в диссертационной работе Ломакина Артёма Андреевича на тему «Разработка методов лабораторной диагностики инфекций, вызываемых бактериями *Aeromonas hydrophila*» поставленная цель была достигнута: разработана комплексная тест-система для выявления и идентификации бактерий *Aeromonas hydrophila*; которая была протестирована на 91 образце. Выделены 15 полевых изолятов, включая *A. hydrophila*, у которых определено наличие генов *gyrB*, *16s rRNA*, *hlyA*, *aerA*, *ast*, *alt*, *fla*, *lip*, *ela*. Анализ ERIC и BOX-элементов показал различия у штаммов *Aeromonas* spp., выделенных из разных объектов ветеринарно-санитарного надзора.

Таким образом, диссертационная работа на тему «Разработка методов лабораторной диагностики инфекций, вызываемых бактериями *Aeromonas hydrophila*» является законченной научно-квалификационной работой, которая по актуальности, новизне, теоретической и практической значимости соответствует требованиям Постановления Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 «О порядке присуждения ученых степеней» (с изменениями

From



Подпись Красноперовой Ю.Ю.
Заверяю: Селевский
Начальник отдела кадров
ФГБОУ ВО УлГТУ им. И.Н. Ульянова