

## О Т З Ы В

официального оппонента о диссертационной работе **Яцентюк Светланы Петровны** на тему: «Биобезопасность спермопродукции бычков-производителей: Современное состояние и совершенствование методов контроля», представленную на соискание учёной степени доктора биологических наук в диссертационный совет 24.1.249.03 при ФГБНУ «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям: 4.2.2 – санитария, гигиена, экология, ветеринарно-санитарная экспертиза и биобезопасность и 4.2.3 – инфекционные болезни и иммунология животных».

### *Актуальность темы*

Современные тенденции интенсификации животноводства приводят к росту объема мировой торговли племенной продукцией, используемой для искусственного осеменения животных. При этом в разведении крупного рогатого скота все большую ценность приобретает достоверная информация об используемом племенном материале (семени или эмбрионов). В частности, вследствие использования в разведении криоконсервированной спермопродукции, загрязненной инфекционными агентами, хозяйство несет экономические потери как из-за снижения рождаемости, так и из-за необходимости корректировать деятельность, направленную на предупреждение болезней животных, их лечение, выпуск полноценных и безопасных в ветеринарном отношении продуктов животноводства.

В Положениях Доктрины продовольственной безопасности Российской Федерации, утвержденной Указом Президента РФ N 20 от 21 января 2020 г. отмечено, что совершенствование методологических и методических подходов в отношении сельскохозяйственной продукции является одним из основных направлений государственной политики, а развитие племенного животноводства и совершенствование технического регулирования и ветеринарного надзора являются национальными интересами государства в сфере продовольственной безопасности на долгосрочный период. Применение молекулярно - генетических методов активно используется в последнее

десятилетие для выявления хозяйственно - полезных признаков и подтверждения отсутствия генетических аномалий, при этом контролю загрязнения племенной продукции возбудителями инфекционных болезней животных уделяется недостаточно внимания.

Нужно отметить, что Российская Федерация в настоящее время является одним из крупнейших импортеров криоконсервированной спермы быков-производителей, а существующие ветеринарно-санитарные требования спермодоз крупного рогатого скота не позволяют в полной мере контролировать загрязненность племенной продукции бактериями и вирусами. Таким образом, вопрос совершенствования методов контроля биобезопасности такой продукции очень важен, а цель исследований С.П. Яцентюк – совершенствование средств и методов контроля биологической безопасности племенного материала, используемого для искусственного осеменения, для снижения риска распространения инфекционных заболеваний среди крупного рогатого скота – актуальна и своевременна.

Для реализации цели диссертации автором были выполнены следующие задачи:

- проведен анализ мер поддержания биобезопасности племенной продукции, используемой для искусственного осеменения;
- оценена встречаемость различных инфекционных агентов в отечественной и импортируемой спермопродукции с использованием молекулярно-генетических методов;
- разработаны собственные методики на основе ПЦР в «реальном времени» для выявления в спермопродукции и биологическом материале шести инфекционных агентов, включая несколько видов патогенных микоплазм;
- проведена оценка жизнеспособности нескольких инфекционных агентов выявляемых в криоконсервированной сперме быков, изучены их молекулярно-генетические характеристики;

- определен состав микробиома спермы быков и возможности использования метагеномных данных для оценки качества спермопродукции;
- сформулированы предложения по совершенствованию системы обеспечения биобезопасности спермопродукции.

### ***Новизна научных исследований, выводов и рекомендаций***

Анализ представленных автором диссертации материалов позволяет сделать вывод, что они содержат **научную новизну**.

Впервые изучена встречаемость сразу 25 инфекционных агентов в образцах криоконсервированной спермы быков-производителей и показаны случаи одновременной детекции генетического материала нескольких видов микоплазм в сперме быков. Также впервые проведены исследования изолятов возбудителя гистофилеза крупного рогатого скота, выделенных на территории Российской Федерации, в том числе из образцов импортированной спермопродукции, определены и охарактеризованы полные последовательности геномов *Histophilus somni*.

Впервые в России проведены метагеномные исследования образцов спермы быков из отечественных и иностранных племенных хозяйств, оценены индексы видового разнообразия, представленность типов, классов, отдельных родов и видов бактерий. Получены патенты Российской Федерации:

№ 2657609 на способ определения индекса фрагментации ДНК сперматозоидов у животных-производителей;

-№ 2752893 на набор олигонуклеотидов и способ идентификации и детекции ДНК бактерии *Histophilus somni* методом ПЦР в режиме реального времени;

-№2770204 на способ идентификации ДНК бактерии *Ureaplasma diversum* в сперме крупного рогатого скота методом ПЦР в режиме реального времени;

- № 2787048 на способ детекции ДНК вируса герпеса КРС 6 типа в биологическом материале крупного рогатого скота методом ПЦР в режиме реального времени.

## *Значимость для науки и производства полученных автором результатов*

Предложения, разработанные по результатам диссертационной работы, были использованы при подготовке Решения о Комплексе совместных действий государств-участников СНГ по обеспечению биологической безопасности генетического материала при воспроизводстве сельскохозяйственных животных на период до 2026 года, утвержденного Советом глав правительств Содружества Независимых Государств 20.05.2022.

По результатам проведенных исследований подготовлены и утверждены на заседании секции Зоотехния и ветеринария Отделения сельскохозяйственных наук РАН «Методика выявления и дифференциации *Mycoplasma bovis* и *Mycoplasma californicum* на основе ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации» и «Методические рекомендации по оздоровлению отечественных скотоводческих хозяйств, неблагополучных по инфекционным заболеваниям, вызванным антибиотикорезистентными штаммами бактерий (молекулярно-генетический метод выявления гистофилеза крупного рогатого скота и способ его лечения)».

Проведенные исследования были использованы при подготовке ГОСТ Р 70150-2022 «Тест-системы для диагностики болезней животных методом полимеразной цепной реакции Общие требования и методы испытаний».

Утвержден комплект технической документации на комплект нормативной документации (СТО и инструкция по применению) на тест-систему для идентификации и типирования изолятов возбудителя гемофилеза крупного рогатого скота *Histophilus somni* методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». Разработанная при проведении исследования методика переведена в формат набора реагентов, что является важным условием для внедрения результатов работы в широкую лабораторную практику.

Разработанные методики вошли в область деятельности испытательного центра ФГБУ «ВГНКИ», аккредитованного Федеральной службой по аккредитации (Росаккредитация) по стандарту ГОСТ ISO/IEC 17025-2019. Также материалы диссертационной работы используются при подготовке ветеринарных специалистов по образовательным программам высшего образования и дополнительным профессиональным программам.

### ***Оценка содержания работы***

Диссертационная работа выполнялась в период с 2016 по 2023 гг. на базе ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»).

*Обзор литературы* посвящен анализу рисков, связанных с распространением инфекционных агентов через сперму быков-производителей. В 11 подразделах, посвященных разным инфекционным агентам, выявляемым в сперме быков, приведена подробная информация о возбудителе, его влиянии на здоровье и фертильность животных, качество спермопродукции. Также в обзоре литературы приведена информация о требованиях, предъявляемых к спермопродукции в разных странах. Представлен анализ существующих молекулярно-генетических методик для детекции инфекционных агентов.

Проанализирован большой объем научной литературы, а также нормативные документы, устанавливающие требования к качеству и безопасности спермопродукции быков-производителей. В заключении подчеркивается, что при исследовании загрязненности спермы быков методом ПЦР отсутствует единый подход, а разработка и совершенствование методов на основе ПЦР в «реальном времени» является актуальной задачей.

Собственные исследования включают *Материалы и методы исследований, Результаты исследований* и их *Обсуждение*.

*Материалы и методы исследований* содержат описание объектов исследования, использованного оборудования, реактивов, препаратов и наборов реагентов, а также разделы, описывающие:

- микробиологические и вирусологические методы исследования;
- описание подбора праймеров и зондов для ПЦР;
- экстракцию нуклеиновых кислот и проведение ПЦР;
- получение контрольных образцов;
- секвенирование по Сенгеру и «нового поколения»;
- математические расчеты, биоинформативные ресурсы и программы, использованные при анализе результатов.

Материалы диссертационной работы изложены на 311 страницах компьютерного текста и содержат разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты собственных исследований и их обсуждение, заключение, рекомендации по использованию полученных результатов, список сокращений и условных обозначений, список литературы, приложения. Диссертация иллюстрирована 25 таблицами и 31 рисунком. Список литературы содержит 624 источника, в том числе 108 российских и 516 иностранных.

Результаты исследований и их обсуждение содержат разделы, включающие:

- анализ современного состояния контроля биобезопасности племенного материала;
- оценку возможности использования ПЦР-тест-систем для тестирования спермопродукции;
- скрининговое исследование спермы быков для выявления вирусных и бактериальных инфекционных агентов;
- описание разработки собственных методик на основе ПЦР для выявления нескольких видов микоплазм, герпес вируса КРС 6 типа, *Histophilus somni*;
- изучение свойств культур *Histophilus somni*, выделенных из различного биологического материала, генов устойчивости к антибиотикам и последовательностей полного генома *H. somni*;
- изучение жизнеспособности микоплазм;

- метагеномные исследования.

Далее в диссертации представлено Заключение, Рекомендации по использованию полученных результатов, Определения, обозначения и сокращения, Список литературы, Приложения.

Материалы диссертационной работы опубликованы в ведущих российских и международных изданиях. Автором по теме диссертации опубликовано 40 научных работ, в том числе 17 статей в журналах, рекомендуемых ВАК Министерства образования и науки РФ, 5 – в базе данных Scopus и Web of Science, материалы конференции, 4 патента РФ, а также методические рекомендации и методики.

Тема диссертации и результаты исследований доложены и обсуждены в разные годы на заседаниях Ученого совета ФГБУ «ВГНКИ», Секции ветеринарного надзора Научно-технического совета Россельхознадзора, на 14 научных мероприятиях

Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы, репрезентативность эмпирического материала не вызывает сомнений, автор принимал непосредственное участие во всех этапах выполнения диссертационной работы: выборе темы и цели исследований, проведении анализа научных источников информации, планирования задач исследований, в разработке методик, в формулировании выводов и рекомендаций, в апробации результатов исследований.

Диссертационная работа *Яцентюк Светланы Петровны* является актуальной завершённой научно-квалификационной работой, посвящённой проблеме биобезопасности спермопродукции быков-производителей и разработке современных методов ее контроля.

Работа выполнена на достаточно высоком методическом уровне, обладает научной новизной, теоретической и практической значимостью, написана профессиональным языком, оформлена грамотно в соответствии с необходимыми требованиями с высокой степенью обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Автореферат соответствует основным положениям диссертационной работы. Представленные выводы и практические предложения являются логичным завершением проведенных исследований, соответствуют поставленным задачам и являются доказательством достижения поставленной цели.

Материалы диссертационной работы *Яцентюк Светланы Петровны* на тему: «Биобезопасность спермопродукции быков-производителей: Современное состояние и совершенствование методов контроля» актуальны, обладают научной новизной, теоретической и практической значимостью. Исследования выполнены на высоком методическом уровне, их результаты вносят серьезный вклад в решение вопроса контроля качества и безопасности племенного материала для разведения крупного рогатого скота.

Оценивая положительно представленную к защите диссертационную работу, все же считаю необходимым сделать следующие вопросы и замечания:

1. В работе не указано, спермопродукция каких пород быков была использована при проведении исследований.
2. Проводилось ли сравнение разработанных методик с имеющимися зарубежными и отечественными методиками или тест-системами на основе ПЦР?
3. Что использовали в качестве положительных контрольных образцов при разработке методик?
4. В работе отмечено некоторое количество опечаток и стилистических неточностей.

Все указанные автору замечания не снижают ценность рассматриваемой работы.

***Заключение о соответствии диссертации критериям Положения о присуждении ученых степеней***

Высказанные замечания и пожелания носят рекомендательный характер и не влияют на общую положительную оценку работы, поэтому анализ диссертации «Биобезопасность спермопродукции быков-производителей:



Современное состояние и совершенствование методов контроля» даёт основание считать ее соответствующей требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции от 25.01.2024 г.), а её автор, Яцентюк Светлана Петровна, заслуживает присуждения ей ученой степени доктора биологических наук по специальностям 4.2.2 – санитария, гигиена, экология, ветеринарно-санитарная экспертиза и биобезопасность и 4.2.3 – инфекционные болезни и иммунология животных».

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики сельскохозяйственных животных ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста» (ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста)

**Марзанов Нурбий Сафарбиевич**



142132, Россия, Московская область, городской округ Подольск, поселок Дубровицы, дом 60

«Федеральный исследовательский центр животноводства ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста» (ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста)

Web-сайт места работы: <https://www.vij.ru/>

e-mail: nmarzanov@yandex.ru

Тел. +7-915-353-45-72

Подпись **Н.С. Марзанова** заверяю:

Ученый секретарь

Федерального государственного бюджетного научного учреждения

«Федеральный исследовательский центр - ВИЖ им. Л.К. Эрнста»

Министерства науки и высшего образования Российской Федерации,

кандидат сельскохозяйственных наук



Н.В. Сивкин.

18.04.2024 г