



Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение
«УРАЛЬСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ АГРАРНЫЙ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
(ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН)

Белинского ул., д. 112-а,
г. Екатеринбург, 620142, а/я 269
адрес для направления
корреспонденции: Главная ул.,
д. 21, пос. Исток,
г. Екатеринбург, 620061

тел./факс: (343) 252-77-99,
e-mail: info@urfanic.ru
ОГРН 1036603988442,
ИНН/КПП 6661002456/667101001

06.10.2026 № 01-19/01-840
на № _____ от _____

В диссертационный совет
64.1.001.01 при Федеральном
бюджетном учреждении науки
«Государственный научный
центр вирусологии и
биотехнологии «Вектор»
Федеральной службы по
надзору в сфере защиты прав
потребителей и
благополучия человека

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора ветеринарных наук Петропавловского
Максима Валерьевича на диссертационную работу Бабошко Дмитрия
Алексеевича на тему «Встречаемость и молекулярно-генетическое
разнообразие вируса лейкоза крупного рогатого скота в Республике Дагестан и
Новосибирской области», представленную на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология

Актуальность темы диссертации

Лейкоз крупного рогатого скота (BLV) остается одним из наиболее распространенных и значимых хронических инфекционных заболеваний в животноводстве, наносящих существенный экономический ущерб отрасли во многих странах мира, не исключая Российскую Федерацию. Несмотря на большое количество публикаций и внимание к проблеме во всем мире, вопросы генетического разнообразия вируса лейкоза (BLV), изучение его генетической структуры, оценка мутаций и дальнейшее более подробное раскрытие биологических свойств патогена имеют важное фундаментальное и прикладное значение.

Современная классификация BLV базируется на анализе области гена *env* — gp51. В Российской Федерации проведены подобные исследования, однако молекулярно-генетическая характеристика BLV подробно изучена не во всех регионах с неблагополучной ситуацией по лейкозу. Также фрагментарными для мировой науки остаются данные о полногеномной вариабельности и ее связи с диагностическими и патогенетическими характеристиками заболевания. Генотипирование BLV, разработка методик оценки провирусной нагрузки с использованием современных молекулярно-генетических подходов представляют собой актуальную задачу, позволяющую расширить представления о полиморфизме возбудителя и усовершенствовать подходы к его лабораторной диагностике. В этой связи диссертационное исследование Д. А. Бабошко, направленное на изучение встречаемости и молекулярно-генетического разнообразия вируса лейкоза на территории двух регионов России с неблагополучной эпизоотической ситуацией, является востребованным.

Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, подтверждаются применением комплекса современных молекулярно-биологических, вирусологических и биоинформатических методов, использованием актуальных эпизоотологических данных, полученных в органах государственной ветеринарной службы, а также анализом собственных образцов, отобранных от животных репрезентативной выборки из неблагополучных хозяйств Новосибирской области и Республики Дагестан.

Генетический анализ выполнен на основе последовательностей как фрагментов гена *env* (547 последовательностей), так и полного генома BLV (154 последовательности), что обеспечивает достоверность выводов о генетическом разнообразии возбудителя.

Автором проведено комплексное биоинформатическое исследование последовательностей, полученных из Республики Дагестан и Новосибирской области, а также последовательностей, опубликованных в базе данных NCBI GenBank, что позволило осуществить сравнительный филогенетический анализ участков генов различных генетических групп возбудителя лейкоза и сопоставить полученные данные с мировыми. Соискателем впервые подробно охарактеризовано генетическое разнообразие BLV в указанных регионах, выявлены преобладающие генотипы (G4 и G7), проанализированы аминокислотные замены в ключевых структурных (*env*, *gag*), ферментативных (*pol*, *pro*) и регуляторных (*tax*, *rex*, *pX*) генах BLV.

На основе подобранных консервативных участков BLV гена *pol* и гена BoLA-DRA МНС II крупного рогатого скота разработан прототип тест-системы на основе цифровой ПЦР (цПЦР) для диагностики BLV и оценки провирусной нагрузки.

Совокупность использованных методов, репрезентативность выборки, воспроизводимость результатов и сопоставление с международными базами данных обеспечивают высокую степень обоснованности и достоверности положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Научная новизна исследования и полученных результатов

Полученные в диссертационной работе результаты исследований дополняют сформированную научную базу о молекулярно-генетических характеристиках вируса лейкоза крупного рогатого скота, база данных GenBank пополнена новыми последовательностями (417). Исследование, проведенное на территории двух удаленных административных территорий Российской Федерации, подтверждает циркуляцию двух генотипов BLV (G4 и G7), а также доминирование генотипа G4 на территории обследованных субъектов РФ.

Впервые представлен подробный анализ полногеномных последовательностей G4 и G7 генотипов BLV из Новосибирской области и Республики Дагестан. Охарактеризованы аминокислотные замены в ключевых доменах BLV.

С использованием разработанного автором метода цифровой ПЦР (цПЦР) проведено сравнительное определение уровня провирусной нагрузки у BLV-инфицированных животных разных половозрастных групп. Установлено, что статистически достоверно более высокую провирусную нагрузку имели животные, инфицированные генотипом G4.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов

Диссертационная работа соискателя представляет собой самостоятельное законченное исследование, результаты которого имеют как фундаментальное, так и прикладное значение.

С фундаментальной точки зрения важным результатом является расширение представлений мирового научного сообщества о генетическом разнообразии BLV, а именно - получение научно обоснованных данных о полиморфизмах генотипов G4 и G7, о различиях в уровне провирусной нагрузки у инфицированных животных в исследуемых сельскохозяйственных предприятиях на территории двух удаленных друг от друга субъектов РФ.

Методическое значение имеет разработанный и апробированный метод на основе цифровой ПЦР (цПЦР). Данный метод может быть применен для научных исследований, а также для изучения провирусной нагрузки у животных и оценки эффективности оздоровительных мероприятий при лейкозе.

Научная и практическая значимость результатов диссертационной работы Д. А. Бабошко также подтверждается представлением полученных результатов на международных научных форумах.

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

По теме диссертационного исследования Бабошко Дмитрием Алексеевичем опубликовано 16 научных работ, включая 3 публикации в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 2 статьи в иных рецензируемых научных журналах, 11 тезисов докладов на всероссийских и международных конференциях.

Структура и оформление работы

Диссертация построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, результатов собственных исследований, включающих в себя материалы и методы исследования, обсуждение полученных результатов, заключение, выводы, список использованных источников. Дополнительно представлено 2 приложения. Диссертация изложена на 222 страницах машинописного текста, содержит 21 рисунок и 20 таблиц. Список литературы состоит из 243 источника отечественных и иностранных авторов.

В разделе «Введение» автором описана актуальность проблемы, сформулированы цель и задачи исследования, приведена научная новизна, обоснованы теоретическая и практическая значимость работы, описаны методология и методы исследований, обозначены основные положения, выносимые на защиту, а также указаны степень достоверности и апробация результатов работы, личный вклад автора.

В обзоре литературы автор описывает современное состояние изучаемой проблемы, включая структуру генома BLV, патогенез и молекулярные механизмы онкогенеза, основные результаты генотипирования патогена, представленные ранее, а также методы диагностики, профилактики и контроля BLV-инфекции. Обзор написан в научном стиле, хорошим литературным языком.

Глава «Материалы и методы» отражает широкий спектр использованных методов. Помимо описания клинического материала и классических вирусологических процедур, подробно представлено получение первичных структур геномов BLV, включая полногеномные последовательности. Хорошо описаны используемые в работе реактивы и коммерческие тест-наборы. Изложены протоколы ПЦР в реальном времени (РВ-ПЦР) и цПЦР, описаны используемые в работе олигонуклеотиды и температурные режимы амплификации. Подробно отражены методики и приемы биоинформатического и статистического анализа, используемые в исследовании.

В главе «Результаты собственных исследований» автор сначала приводит результаты собственного скрининга животных на предприятиях Новосибирской области методом РВ-ПЦР и описывает эпизоотическую ситуацию по лейкозу в Республике Дагестан, представляет подробную характеристику территорий и сопоставляет полученные данные с данными по образцам биологического материала животных, а затем подробно приводит сравнительный молекулярно-генетический анализ полученных последовательностей ДНК BLV, включая полногеномные. Большая часть главы посвящена анализу выявленных аминокислотных замен в структурных, регуляторных и ферментативных доменах вируса лейкоза крупного рогатого скота. Заключительные разделы главы посвящены филогенетическому анализу полных геномов, а также разработке и апробации прототипа тест-системы на основе цПЦР.

В главе «Обсуждение полученных результатов» автор рассматривает полученные данные в контексте ранее опубликованных исследований. Наиболее подробно обсуждаются молекулярно-генетические характеристики генотипов G4 и G7, результаты и особенности определения уровня провирусной нагрузки в контексте повышения эффективности оздоровительных противолейкозных программ. Положительно следует оценить наличие отдельного обсуждения

ограничений выполненного исследования и направлений, требующих последующего подтверждения на более крупных независимых выборках.

В «Заключении» обобщены основные результаты проведенной работы. Сформулированные девять выводов соответствуют поставленным задачам и в целом адекватно отражают результаты исследования. Все выводы диссертационной работы полностью вытекают из представленных результатов исследования.

Диссертация выполнена на современном методическом уровне. Проведенные исследования, статистический и биоинформатический анализ свидетельствуют о хорошей методической подготовленности автора. Текст диссертационной работы логично структурирован и хорошо иллюстрирован. Представленные рисунки и таблицы в целом информативны и облегчают восприятие значительного объема экспериментальных данных.

Автореферат диссертации достаточно полно и адекватно отражает содержание диссертационной работы, ее основные положения и полученные результаты. В автореферате представлены задачи и цели исследования, используемые методы, основные результаты, выводы и сведения о степени достоверности и апробации работы. Его содержание соответствует основным положениям и выводам диссертации.

Диссертация соответствует научной специальности 1.5.10 – Вирусология: п. 4, п. 8, п. 10.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Полученные результаты будут использованы в дальнейших научных исследованиях молекулярной эпизоотологии и генетического разнообразия BLV, в том числе при изучении квазивидовой природы патогена, а также для оценки рисков возбудителя лейкоза для человека.

Опубликованные автором последовательности (в том числе полногеномные) генотипов G4 и G7 представляют интерес для научного сообщества и могут служить основой для разработки современных методов диагностики и профилактики BLV различными научно-исследовательскими коллективами. Разработанный метод определения провирусной нагрузки на основе цПЦР может быть применен в научных исследованиях для оценки патогенетических особенностей отдельных генетических типов BLV, для валидации разрабатываемых методик, а также для изучения провирусной нагрузки у животных и оценки эффективности оздоровительных мероприятий при лейкозе.

Вопросы и замечания к диссертационной работе

В целом представленная диссертация заслуживает положительной оценки. Одновременно с этим при анализе работы возник ряд вопросов и замечаний.

Замечания:

1. В разделе «Введение» диссертационной работы указано на отсутствие актуальных данных о молекулярно-генетических особенностях и филогенетических связях циркулирующих генотипов BLV в России. Однако, на

наш взгляд, это утверждение требует уточнения, поскольку в ряде публикаций последних лет такие данные представлены. Просил бы автора пояснить свою позицию.

2. В работе часто встречается употребление термина «пораженность». При описании эпизоотической ситуации или полученных результатов в контексте числа животных с положительным результатом лабораторных исследований на лейкоз предпочтительнее использовать термин «инфицированность».

Вопросы:

1. Хотелось бы уточнить, на каких данных основано утверждение, что в России ЭЛКРС занимает первое место среди причин смертности крупного рогатого скота?

2. Какие факторы, помимо возраста, учитывались при формировании выборки животных для анализа провирусной нагрузки? Учитывали ли породную принадлежность, физиологическое состояние (стельность, лактация), а также наличие сопутствующих инфекций? Могли ли эти факторы влиять на провирусную нагрузку? Установлена ли связь между уровнем провирусной нагрузки и стадией инфекционного процесса (субклиническая, гематологическая, опухолевая)? Можно ли этот показатель использовать для прогнозирования развития заболевания?

3. В разделе 3.1 диссертационной работы представлены результаты собственного скрининга на территории индивидуальных хозяйств и предприятий общественного сектора животноводства Коченевского района Новосибирской области. Выводы об инфицированности скота на предприятиях данного района выстроены по результатам исследования случайной выборки, а не всего стада. Как отбирали животных в данной выборке? Учитывали ли результаты ежегодных серологических исследований? Брели ли во внимание общее поголовье крупного рогатого скота на этих предприятиях? Какие половозрастные группы животных участвовали в данной выборке?

4. Автором подробно описаны аминокислотные замены (полиморфизмы) в разных участках генома BLV, например, в области гена env, кодирующего gp51, который является критической мишенью для нейтрализующих антител. В чем, по мнению автора, заключается биологическая и эпизоотологическая значимость выявленных замен у разных генотипов BLV? Могут ли они влиять на эффективность существующих диагностических тест-систем или на биологические свойства патогена?

5. В работе отмечено, что разработанный прототип тест-системы на основе цифровой ПЦР продемонстрировал свою высокую эффективность. Однако, как известно, использование метода невозможно без дорогого специализированного оборудования и реагентов. Как автор оценивает перспективы его широкого внедрения в практику, в том числе в ветеринарных лабораториях с учетом экономических аспектов?

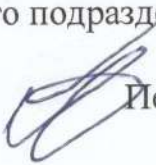
Возникшие вопросы и замечания имеют дискуссионный характер и не затрагивают принципиальных положений, изложенных автором, не снижают научной новизны и практической значимости работы и не повлияли на общую позитивную оценку работы.

Заключение

Диссертационная работа Бабошко Дмитрия Алексеевича на тему «Встречаемость и молекулярно-генетическое разнообразие вируса лейкоза крупного рогатого скота в Республике Дагестан и Новосибирской области» является завершенной, самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой, в которой на основании достаточного объема проведенных автором исследований решена актуальная научно-практическая задача по изучению молекулярно-генетических характеристик возбудителя лейкоза крупного рогатого скота в двух контрастных регионах Российской Федерации.

Диссертация и автореферат по актуальности, методическому уровню, объему проведенных исследований, научной новизне, практической значимости и полученным результатам полностью соответствуют критериям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 30.07.2014 № 723, от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а сам автор, Бабошко Дмитрий Алексеевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 - вирусология.

Ведущий научный сотрудник отдела мониторинга
и прогнозирования инфекционных болезней
Уральского НИВИ — структурного подразделения
ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН,
доктор ветеринарных наук

 Петропавловский Максим Валерьевич

Подпись Петропавловского М.В. заверяю:

Главный ученый секретарь
ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН,
доктор биологических наук



 Черницкий Антон Евгеньевич

06.10.2026 г.