«УТВЕРЖДАЮ»
ВРИО Директора Федерального
государственного бюджетного учреждения науки
Сибирский федеральный научный центр
агробиотехнологий Российской академии наук,
чл.-корр. РАО, доктор биологических наук,
профессор РАН
_____ Голохваст К.С.
«06» октября 2026 г.
М.П.

# ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Бабошко Дмитрия Алексеевича на тему: «Встречаемость и молекулярно-генетическое разнообразие вируса лейкоза крупного рогатого скота в Республике Дагестан и Новосибирской области», представленной в диссертационный совет 64.1.001.01, при Федеральном бюджетном учреждении науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.10 – Вирусология

**Актуальность темы диссертации.** Работа Бабошко Дмитрия Алексеевича посвящена молекулярно–генетическому анализу геновариантов ВЛКРС, циркулирующих на территории РФ. Актуальность темы диссертации обусловлена тем, что энзоотический лейкоз крупного рогатого скота (ЭЛКРС) причиняет существенный экономический ущерб предприятиям, занимающимся производством молока. Влияние ЭЛКРС на продуктивность и экономику выражено уже на субклинических стадиях: снижение удоя, снижение коэффициента оплодотворения примерно на 7%, рост выбраковки и восприимчивости к инфекционным заболеваниям; снижение вакцинационного ответа у инфицированных животных.

В Российской Федерации представлена лишь ограниченная информация о встречающихся вариантах ВЛКРС, отсутствуют современные данные по генетическим особенностям циркулирующих ВЛКРС и их филогенетических связях.

В связи с этим диссертационная работа Бабошко Дмитрия Алексеевича, посвященная встречаемости и молекулярно-генетическому разнообразию вируса лейкоза крупного рогатого скота в Республике Дагестан и Новосибирской области, является актуальной и практически значимой.

**Обоснованность и достоверность основных положений и выводов диссертационной работы.** Целью работы являлось изучение особенности географического распределения, генетическое разнообразие и эволюционные связи вариантов ВЛКРС, циркулирующих на отдельных территориях России.

Для достижения этой цели автору необходимо было решить следующие задачи : провести анализ пораженности скота ВЛКРС в частных подворьях и крупных хозяйствах Новосибирской области и Республике Дагестан; изучить представленность геновариантов и охарактеризовать генетическое разнообразие циркулирующих вариантов ВЛКРС в Новосибирской области и Республике Дагестан; Изучить филогенетические отношения ВЛКРС внутри хозяйств, отдельных территорий и между регионами России; для изученных геновариантов ВЛКРС описать особенности нуклеотидных/аминокислотных последовательностей фрагмента гена env–gp51, являющегося критической мишенью для нейтрализующих антител; описать структуру и особенности аминокислотных последовательностей расшифрованных полных геномов российских геновариантов ВЛКРС G4 и G7; на основе созданной базы данных нуклеотидных последовательностей ВЛКРС разработать лабораторные тесты на основе ПЦР для диагностики ВЛКРС и оценки провирусной нагрузки; на основе данных, полученных при проведении мониторинга ВЛКРС в хозяйствах различных типов, разработать практические рекомендации по ключевым мероприятиям по контролю и элиминации инфекции.

Цель и все задачи, поставленные автором в рамках диссертационной работы, были полностью решены. Достоверность сделанных выводов подтверждена статистической обработкой полученных результатов.

**Новизна исследований и полученных результатов.** Автором впервые в Российской Федерации разработано и внедрено в практику комплексное молекулярно–генетическое исследование, проведённое в период с 2020 по 2025 гг., которое позволило получить новые данные о генетическом разнообразии вируса лейкоза крупного рогатого скота, циркулирующего на территориях Новосибирской области и Республики Дагестан Российской Федерации. Исследование позволило установить доминирование генотипа G4 и значительный вклад генотипа G7 в структуру популяции ВЛКРС среди поголовья молочного скота, а также выявить их неравномерное географическое распределение по хозяйствам региона. Существенно пополнена международная база данных GenBank последовательностями env ВЛКРС, депонировано 417

новых последовательностей ВЛКРС, что расширило базу депонированных последовательностей из России вдвое.

Впервые на основании анализа 547 нуклеотидных последовательностей гена env–gp51 ВЛКРС, выделенных от инфицированных животных Новосибирской области и Республики Дагестан, проведено филогенетическое исследование популяции вируса и описаны внутригенотипические филогенетические связи генотипов вируса G4 и G7. Впервые с использованием методов Maximum Likelihood, Median Joining Network и SplitNetwork проанализированы 154 полногеномные последовательности ВЛКРС, что позволило получить новые знания о встречаемости ВЛКРС в России.

Впервые получены полногеномные последовательности ВЛКРС генотипов G4 для геновариантов, циркулирующих на территории России. Впервые в мире получены последовательности полных геномов для генотипа G7, который не имеет в международной базе данных GenBank депонированных полногеномных последовательностей.

В результате проведенных исследований впервые на основании анализа полногеномных последовательностей ВЛКРС генотипов G4 и G7, охарактеризованы мутации во всех основных генах вируса (gag, pro, pol, env, tax/rex, R3, G4).

**Значимость для науки и практики полученных результатов.** Практическая и теоретическая значимость работы заключаются в результатах, полученных в ходе выполнения настоящего исследования, существенно дополняющие имеющуюся информацию о молекулярно–генетических особенностях вируса лейкоза крупного рогатого скота на территориях Российской Федерации и расширяют представления мирового научного сообщества о генетическом разнообразии ВЛКРС генотипов G4 и G7, включая их мутационные профили, рекомбинационный потенциал и различия в уровне провирусной нагрузки.

Разработан и апробирован метод на основе цифровой ПЦР (цПЦР) с использованием праймеров к генам pol ВЛКРС (полимеразный ген вируса лейкоза крупного рогатого скота) и DRA (BoLA–DRA, ген α–цепи молекул главного комплекса гистосовместимости класса II у крупного рогатого скота) для одновременного определения провирусной нагрузки ВЛКРС генотипов G4 и G7 с нормализацией по числу клеток хозяина продемонстрировал аналитическую чувствительность (Limit of Detection (LoD) – предел обнаружения 7 копии; Limit of Quantitation (LoQ) – предел количественного определения 10 копий, Limit of Blank (LoB) – предел холостого опыта 5 копий), превосходящую таковую у стандартных методов ПЦР–РВ и гнездовую–ПЦР. Данная система может быть рекомендована для использования в ветеринарных

лабораториях для мониторинга провирусной нагрузки и оценки эффективности оздоровительных мероприятий.

Разработанная система цПЦР может быть использована для поиска генетических маркеров ВЛКРС в образцах лейкоцитарной массы, образцах биопсии и аутопсии с целью подтверждения взаимосвязи их выявления и онкологических заболеваний у человека.

В ходе исследования были расшифрованы и проанализированы 634 нуклеотидных последовательностей фрагмента гена env (804 п.н.) ВЛКРС и 154 полногеномные нуклеотидные последовательности ВЛКРС (кодирующих областей gag, pro, pol, env, pX, 8214 п.н.). Полученные нуклеотидные последовательности (в количестве 417 штук) депонированы в международную базу данных GenBank (NCBI), что обеспечивает их доступность для мирового научного сообщества и расширяет базу референсных последовательностей ВЛКРС генотипов G4 и G7, циркулирующих на территориях Российской Федерации.

По теме диссертационной работы опубликовано 16 научных публикаций в отечественных и зарубежных изданиях, из которых 3 статьи в ведущих рецензируемых научных журналах рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ для защиты диссертации по специальности 1.5.10 Вирусология, 2 статьи в других рецензируемых журналах и 11 тезисов, докладов на всероссийских и международных конференциях.

**Содержание диссертационной работы, ее завершенность и оформление.**

Диссертация изложена на 222 страницах компьютерного текста, состоит из следующих разделов: из введения, обзора литературы, раздела материалы и методы, собственных исследований, заключения, выводов, списка литературы и двух приложений. Диссертация содержит 20 таблиц, 21 рисунков, 2 приложения. Библиографический указатель содержит 243 источника отечественных и зарубежных авторов.

Во **Введении** диссертант обосновывает выбор темы и ее актуальность, определяет цель и задачи исследований, формулирует ее научную новизну и практическую значимость.

В главе **Обзор литературы** представлен анализ отечественных и зарубежных источников, посвященных изучению проблемы лейкоза крупного рогатого скота от общей характеристики возбудителя инфекции и лейкоза крупного рогатого скота до современных методов диагностики, профилактики и контроля ВЛКРС.

Большое внимание уделено анализу патогенеза и генетическому разнообразию ВЛКРС.

В главе **Материалы и методы** подробно описаны все использованные

автором методы исследования, включая материалы.

В работе применялись современные молекулярно–биологические и вирусологические методы.

Для диагностики ВЛКРС были использованы ПЦР с регистрацией результата в режиме реального времени и методы цифровой ПЦР. Полученные данные были проанализированы с использованием современных биоинформатических методов: множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей, филогенетический, рекомбинационный, мутационный и статистический анализы. Визуализация данных была выполнена с использованием современных программ (таких как MEGA11, Jalview, SplitsTree и других).

В главе **Собственные исследования** приведены результаты научных исследований, полученные соискателем в ходе комплексного молекулярно–генетического исследования вируса лейкоза крупного рогатого скота, циркулирующего на территории Новосибирской области и Республики Дагестан, включающее определение генотипического состава и филогенетических отношений ВЛКРС, анализ аминокислотных замен в геноме вирусов, оценку провирусной нагрузки с применением разработанного прототипа тест–системы на основе цПЦР, а также разработку и внедрение программы формирования стада, свободного от лейкоза.

В ходе выполнения работ установлено, что на исследованных территориях России циркулирует два генотипа ВЛКРС: генотип G4, доминирующий с долей 75,2%, и G7, составляющий 24,8%. Выявлено, что на исследованных территориях соотношение генотипов ВЛКРС достаточно сильно варьирует. В отдельных хозяйствах доля генотипа G7 достигает 83,3%, тогда как в других данный генотип вируса отсутствует полностью. Полученные результаты согласуются с данными научной литературы о преобладании генотипа G4 и G7 в Восточной Европе и странах СНГ. С применением мультиплексной капельной цифровой ПЦР показано, что животные, инфицированные ВЛКРС генотипов G4 и G7, имеют разные уровни и возрастную динамику проврусной нагрузки. Установлено, что животные, инфицированные генотипом G4, имеют более высокую провирусную нагрузку ВЛКРС по сравнению с животными, инфицированными генотипом G7 (медиана 324295 × 106 и 45420 × 106 соответственно, разница в 7,1 раза). Учитывая, что уровень провирусной нагрузки является ключевым фактором при горизонтальной передаче вируса, животные, инфицированные генотипом G4, представляют собой приоритетную группу при планировании программ контроля и элиминации инфекции. Разработанная в ходе исследования прототип системы цПЦР продемонстрировал высокую аналитическую чувствительность (LoD 5 копии; LoB 7 копий), которая превосходила стандартные методы РВ–

ПЦР и гнездовую–ПЦР.

Впервые в России на основе результатов генотипирования и встречаемости ВЛКРС была разработана и внедрена стратегия поэтапного формирования ВЛКРС–свободного стада на базе крупного хозяйства ООО «Раздольное», включающая двойное тестирование молодняка в 3 месяца и в 6 месяцев, и постоянный мониторинг уровня инфицирования методами гнездовой–ПЦР и методом ПЦР в реальном времени.

Существенным результатом работы явилось значительное пополнение международной базы данных GenBank, в которой было депонировано 417 нуклеотидных последовательностей фрагмента гена env, что расширило базу депонированных последовательностей ВЛКРС из России вдвое. Впервые были получены полногеномные последовательности ВЛКРС генотипа G4 для штаммов, циркулирующих на территории России, а также впервые в мире получены последовательности полных геномов генотипа G7, который ранее не имел в базе GenBank депонированных полногеномных последовательностей. Данные последовательности обеспечивают доступность референсных материалов для мирового научного сообщества и создают основу для дальнейших сравнительных исследований.

На основе анализа полногеномных последовательностей ВЛКРС генотипов G4 и G7, полученных с применением технологии секвенирования нового поколения (NGS, Illumina MiSeq), были охарактеризованы мутации во всех основных генах вируса (gag, pro, pol, env, tax/rex, R3, G4). Согласно проведенным исследованиям впервые выявлены генотип–специфические мутации G4 и G7 ВЛКРС, в том числе в ключевых функциональных доменах белков вируса. Мутации в гене env–gp51 свидетельствуют о потенциальном влиянии генотипа вируса на эффективность иммунного ответа хозяина и могут иметь значение для разработки диагностических тест–систем, так как данный участок чаще всего используется в диагностике.

В **Заключении** автор проводит обобщение результатов проведенного исследования, в соответствии поставленным цели и задачам. Результаты проведённого исследования показывают, что для эффективного контроля и элиминации ВЛКРС на территориях Новосибирской области и Республики Дагестан, а также других регионов Российской Федерации следует: внедрять интервальную ПЦР–диагностику молодняка с целью формирования стада, свободного от ВЛКРС; проводить регулярный молекулярно–генетический мониторинг циркулирующих ВЛКРС с целью своевременного выявления генотипового состава вируса в хозяйствах, обнаружения новых геновариантов, в том числе рекомбинантных форм, и оценки динамики генетической структуры популяции вируса для разработки эффективных программ оздоровления; внедрять метод цифровой ПЦР (цПЦР)

для количественного определения провирусной нагрузки ВЛКРС и учитывать уровень провирусной нагрузки при планировании оздоровительных мероприятий; проводить верификацию и обновление диагностических тест–систем с учётом выявленных мутаций ВЛКРС в области мишеней для праймеров и зондов тест–системы с целью обеспечения чувствительности и специфичности диагностики ВЛКРС на фоне генетической вариабельности циркулирующих штаммов.

Представлены выводы, которые полностью отражают результаты выполненных исследований. Выводы и практические предложения подкреплены теоретическими положениями и экспериментальными данными, представленными в рамках работы.

Диссертационная работа Бабошко Д.А. написана, вне всякого сомнения, обстоятельно, проведена большая работа, но всё же в ходе рассмотрения возник ряд вопросов пояснительного характера, на которые хотелось бы получить ответы.

1. Чем вы руководствовались при отборе образцов крови из разных районов Новосибирской области? От каких животных (по статусу на лейкоз КРС) и из каких хозяйств (уровень инфицированности всего поголовья, группы животных) вы отбирали образцы для исследования?
2. По тексту неоднократно используется выражение «крупное хозяйство». Что под этим подразумевается?
3. В таблице №1 автореферата вы приводите количество положительных в ПЦР образцов – 417. Общее начальное количество образцов - 543. По вашим данным, 317 из них получены из одного района – Коченевского. Значит, из других пяти районов было получено 226 образцов (543-317=226/5, - это в среднем по 45 образцов из каждого района). Достаточная ли это выборка, чтобы говорить о встречаемости ВЛКРС в Новосибирской области?
4. Вы пишите о пораженности в крупном хозяйстве на уровне 71,5% (обследовав в нем 200 голов), и далее проводите сравнительный анализ с индивидуальными подворьями.

Какое поголовье в крупных хозяйствах Коченевского района (в частности в ООО «Раздольное») и в индивидуальных подворьях? Какое количество крупных хозяйств и индивидуальных подворий в Коченевском районе и Новосибирской области в целом?

5. В таблице №2 автореферата приведены сравнительные данные по методам диагностики на разных возрастных группах и за разные временные отрезки. К примеру, разовое исследование 200 голов взрослых коров сопоставляется с исследованиями телят за 3 года. Сравнение данных ПЦР по телятам до 3-х месячного возраста с ИФА на телятах 3-9 месяцев. При этом разное количество поголовья исследованных телят поднимает вопрос – одни и

те же ли телята участвовали в исследовании?

6. Знакомы ли Вам работы сибирских ученых о генотипировании вируса лейкоза и как Вы прокомментируете, что в работах 2005, 2007 годов были установлены типы 1, 6 на территории Новосибирской области.

7. Какое отношение имеет к теме Вашей работы п 1.8 ВЛКРС как фактор возникновения онкологических заболеваний человека?

8. Какой процент, сельхозпредприятия, указанные в работе, составляют от общего количества сельхозпредприятий НСО по выращиванию крупного рогатого скота. На основании анализа результатов 6 сельхозпредприятий корректно ли заявлять об указанных генотипах ВЛКРС на территории Новосибирской области?

9. Вывод 9- .... снижение пораженности скота ВЛКРС в хозяйстве с 71,5% до 13,6%- это в определенной возрастной группе или всего поголовья ООО «Раздольное»?

Также в ходе рассмотрения работы имеются замечания:

1. Недостаточно упоминаются отечественные, в том числе сибирские ученые-лейкозологи: д.в.н. Смирнов П.Н., д.в.н. Храмцов В.В. и др, которые подняли проблему лейкоза крупного рогатого скота в Сибирском регионе и актуализировали ее.

2. По тексту встречаются неудачно подобранные термины по содержанию работы: эпидемиология, эрадикация, асимптоматичного течения

3. Некорректное упоминание формы собственности организации- ООО «Раздольное», это не агрохолдинг (стр.19)

4. На стр. 90 ссылка на Приказ Минсельхозпрода РФ от 11.05.1999 N 359″ «Об утверждении правил по профилактике и борьбе с лейкозом крупного рогатого скота», который уже утратил силу с 2021 года.

Указанные замечания и вопросы не влияют на общую положительную оценку работы, они связаны с интересом к данной работе и носят дискуссионный характер.

Большой объем проведенных исследований с использованием традиционных и новых методов, существенные: актуальность, научная новизна, практическая и теоретическая значимость работы, выводы, а также количество публикаций, создают хорошее впечатление о диссертации Бабошко Дмитрия Алексеевича.

**Оценка языка и стиля диссертации и автореферата.** Основной материал работы достаточно полно представлен в автореферате, а выводы диссертации соответствуют выводам, сделанным в автореферате.

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

**Заключение**

Таким образом, материалы диссертационной работы Бабошко Дмитрия Алексеевича на тему: «Встречаемость и молекулярно-генетическое разнообразие вируса лейкоза крупного рогатого скота в Республике Дагестан и Новосибирской области», представляют собой завершенную научно-квалификационную работу, выполненную автором самостоятельно на высоком научном уровне, имеющей существенное значение для соответствующей отрасли знаний, а именно вирусологии. Полученные результаты имеют теоретическое и практическое значение.

По содержанию диссертация соответствует требованиям пп. 9-14 Положения о порядке присуждения ученых степеней (утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (ред. от 01.10.2018, с изм. от 26.05.2020), а её автор Бабошко Дмитрий Алексеевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.10 – Вирусология.

Отзыв на диссертационную работу Бабошко Д.А. был заслушан и обсужден на заседании лаборатории лейкозов, одобрен на профильной секции Ученого совета при Институте экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук (Протокол № 8 от 06 октября 2026 г.).

Отзыв составил:

Член-корреспондент РАН, доктор ветеринарных наук, профессор, руководитель Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока (ИЭВСиДВ) Федерального государственного бюджетного науки Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук (СФНЦА РАН) Глотов Александр Гаврилович

Зав. лабораторией лейкозов, старший научный сотрудник лаборатории ИЭВСиДВ Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий РАН (СФНЦА РАН), Кандидат ветеринарных наук, 16.00.03 - Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология, и иммунология Агаркова Татьяна Анатольевна

06 октября 2026 г.

Адрес: 630501, Российская Федерация, Новосибирская область, Новосибирский район, р.п. Краснообск, Центральная ул., зд. 7, Тел/факс 8(383) 348-46-36 e-mail:office@sfsca.ru

Подпись А.Г. Глотова, подпись Т.А. Агарковой заверяю:

Ученый секретарь СФНЦА РАН, кандидат биологических наук Коркина Валентина Игоревна

М.П.