

ОТЗЫВ

первого официального оппонента на диссертацию Генджиева Александра Ялмтаевича «Молекулярно-генетический контроль при лейкозе крупного рогатого скота в системе оздоровительных мероприятий скотоводческих хозяйств Калмыкии», представленной для публичной защиты в диссертационный совет Д 220.062.02 при ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология. Научным руководителем соискателя является кандидат ветеринарных наук, доцент Абакин Сергей Стефанович.

Актуальность проблемы. Проблема лейкоза крупного рогатого скота является относительно молодой. Около 20 лет (80-90 гг.) в СССР существовала Государственная Программа «Изучение лейкоза человека, сельскохозяйственных животных и птиц». Следует отметить что, это были годы очень результативных совместных исследований ученых медицинской, ветеринарной и сельскохозяйственной науки в нашей стране. Осуществлялось плодотворное творческое сотрудничество с учеными-лейкозологами ряда зарубежных стран (Wan der Maaten, Дженис Миллер, Олсон, Феррер и др.). Внутри СССР существовали кооперация и координация исследований в области этиологии, патогенеза и мер борьбы с лейкозом.

Данный ретроспективный обзор я привожу с тем, чтобы соискателям в области теории и практики ветеринарной лейкозологии напомнить, что методология изучения и совершенствования мер борьбы с лейкозом крупного рогатого скота значительно проработаны нашими предшественниками.

В этой связи в вопросах краевой эпизоотологии и совершенствования ранней диагностики можно смело опираться на достижения в этиологии и патогенетических особенностей данной нозологии.

Сформулированные соискателем цель и задачи исследований, безусловно, актуальны. Они касаются особенностей краевой области

эпизотологии данной инфекции, а также, породных особенностей продуктивных животных Калмыкии.

Последние 15 лет ряд отечественных и зарубежных исследователей – лейкозологов ВИЭВ, НГАУ, ИЭВиДВ, УрГАУ и др. активно изучают генотипическое разнообразие BLV, выделенных из разных изолятов. Так Е.В. Дробот, П.Н. Смирновым (2006, 2007) было показано, что BLV отдельных генотипов (по *rol. env.* генам) обладают выраженной агрессивностью, проявляющейся коротким интервалом между бессимптомным вирусоносительством и переходом в гематологическую стадию лейкозного процесса.

Таким образом, раздел диссертации, касающиеся филогенетического анализа локуса - по *rol* генам представляет собой существенное значение, т.е. своеобразной паспортизацией продуктивных животных конкретно изучаемой территории.

Критический анализ результатов исследований.

При изучении эпизоотического процесса инфекции BLV и собственно лейкозного процесса соискатель использовал отчетные данные диагностических исследований ветеринарных лабораторий на лейкоз крупного рогатого скота. Для этого было использовано более 2-х млн. показателей на глубину 14 лет. Считаю что, такой анализ не дает объективной картины, поскольку одни и те же фермы исследовались в плановом порядке многократно. К сожалению, такова повсеместная практика проведения плановой диагностики.

По второй задаче – изучению полиморфизма изолятов BLV. К чести соискателя нужно отметить большую работу, проведенную им с изолятами ДНК провируса и построении нескольких филогенетических дендрограмм. Проведена амплификация целевого участка гена *rol* BLV методом секвенирования с использованием нескольких праймеров. Выделены участки ДНК изолятов провирусов BLV и дана их характеристика. Проведен также анализ филогенетических признаков полученных изолятов провируса BLV

выделенных на территории Калмыкии, с изолятами других стран и регионов России. Одновременно изучена биологическая характеристика скота разводимого в республике.

Соискателем впервые методом флуоресцентной гибридизации в режиме Real-Time проведена детекция провирусной ДНК BLV в иксодовых клещах с положительным результатом.

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

Следует отметить что инфекция, её распространение, и частота проявления изучались соискателем по материалам ветеринарных лабораторий методом постановки РИД с gp51 антигеном BLV в агаровом геле. Соискатель отмечает, что BLV инфекция, на момент начала исследований, была распространена повсеместно. Кроме РИД соискатель использовал тест-систему ПЦР.

Праймеры конструированы соискателем на базе ВИЭВ. Все исследования проведены на представительном контингенте животных поэтому, репрезентативность материалов весьма убедительно.

Новизна результатов исследований.

В качестве новизны выполненных исследований можно назвать проведенное соискателем генотипирование ДНК провируса BLV на изолятах, выделенных от животных Калмыкии, т.е. проведено территориально.

Проведен сравнительный анализ филогенетических характеристик полученных территориальных изолятов провируса BLV с изолятами других стран. Проведено изучение биологической характеристики разводимого скота в республике в связи с породной принадлежностью.

флуоресцентной гибридизацией в режиме Real-Time проведена детекция провирусной ДНК BLV в иксодовых клещах снятых с инфицированных BLV и интактных к данному вирусу животных. Впервые установлен не - специфический фактор трансмиссивного пути передачи BLV с иксодовыми

клещами. Проведен сравнительный анализ серологического и молекулярного методов диагностики в определении носителей BLV. Показана высокая чувствительность ПЦР анализа.

Практическая значимость.

Все исследования, проведенные соискателем, имеют, прежде всего, территориально-географическое значение. Впервые внимание ученого – соискателя было сосредоточено на мясном скоте. Показано, что распространение инфекции BLV представляет не меньшее значение, чем на молочном. Следовательно, мясной скот неблагополучных по лейкозу стад может составлять источник инфекции. Как и в других субъектах Федерации и за рубежом имеет место (по данным соискателя) генотипическое разнообразие BLV. Последнее было четко представлено и аргументировано соискателем.

Методом полной замены животных, скомпрометированных в отношении BLV, можно эффективно оздоравливать неблагополучные по лейкозу стада. Данный феномен был также убедительно подтвержден соискателем. На основании результатов собственных исследований и практических предложений производству был принят ряд законодательных актов касающихся эффективного оздоровления от лейкоза в республике Калмыкия. С рядом предложений в действующие «Правило по борьбе с лейкозом крупного рогатого скота РФ» можно, согласится, однако, отдельные из них требуют объективной доработки.

Достоинства и недостатки оппонируемой диссертации.

Диссертационная работа спланирована грамотно, дизайн исследований последователен и продуман системно. Сформулированные задачи выстроены логично. Можно, согласится с мнением соискателя в том что, своевременное выявление инфицированного BLV поголовья и его изоляция являются в настоящее время приоритетными в организации эффективной борьбы с лейкозом крупного рогатого скота.

Диссертация оформлена в полном соответствии с Положением ВАК Минобрнауки, хорошо иллюстрирована таблицами и рисунками. По материалам диссертации опубликовано 7 научных статей, в том числе в изданиях, рекомендованных ВАК - 5 и 1 статья в издании включенном в базу данных Scopus, а также в 1 монографии.

Молекулярно-биологические исследования проведены на современном уровне.

Давая общую положительную оценку результатам исследований соискателя, следует высказать ряд замечаний по работе:

1. В обозначении вируса лейкоза крупного рогатого скота соискатель допускает некоторую вольность: ЛКРС, BLV, вирус ВЛКРС, вирус лейкоза КРС, вирус лейкоза крупного рогатого скота. Общепринятая аббревиатура BLV или ВЛКРС;

2. В отдельных разделах (главах) соискателем допущено отождествление понятий «вирусная инфекция», «лейкоз», «заразительность» и «инфицированность»;

3. Вследствие специфики патогенеза лейкоза у крупного рогатого скота (ограниченной частоты реализации лейкозогенных потенциалов BLV) данную нозологию нельзя отождествлять с классическими инфекциями, а поэтому, по мнению оппонента, такие величины как «превалентность», «инцидентность», «летальность» при анализе эпизоотической ситуации по лейкозу не несут смысловой нагрузки;

4. Понятие «Выявление лейкоформулы» устарело. Грамотнее говорить о лейкограмме.

5. Эпизоотологический мониторинг по результатам исследований на глубину 13 лет (с 2004 по 2016 годы) не может отражать объективную картину по одной простой причине, поскольку использованы отчётные данные плановых лабораторных исследований, поэтому в общее число исследований попадали одни и те же животные, искажая, таким образом, объективность исследований;

6. Факт детекции BLV-провируса из иксодовых клещей еще пока сомнительно квалифицировать как природную очаговость. Необходимы целенаправленные исследования по сохранению патогенности BLV в клещах.

7. Соискатель в разделе «**Объект исследований**» пишет, что таковыми являются «Особенности проявления» эпизоотического (кстати, не эпизоотологического, как пишет автор) лейкоза. В данном случае эта задача может быть **предметом исследования**, но никак не **объектом**.

8. Доминирующим фактором вертикальный (внутриутробный) путь передачи BLV не может быть, поскольку 4-х слойная плацента матки коровы даже молекулы иммуноглобулинов не пропускает. Передачу BLV через молозиво считать за вертикальную передачу не правомерно;

9. К сожалению цифровой материал как по диагностическим исследованиям, так и зараженности иксодовых клещей BLV по частоте встречаемости не подвергнуты статобработке.

В качестве пожелания. В обзоре литературы следовало бы уделить внимание лейкомоидным реакциям крови животных, повсеместно имеющим место в ветеринарной практике при плановых гематологических исследованиях. Лейкомоидные реакции проявляются лейкоцитозом, вызываемым воспалительными процессами (метриты, маститы, колибактериозы и др.). Характеризуются изменением морфологического состава клеток крови, как правило, нейтрофилией. После курса лечения лейкограммы приходят в норму.

Заключение

Опонируемая кандидатская диссертация «Молекулярно-генетический контроль при лейкозе крупного рогатого скота в системе оздоровительных мероприятий скотоводческих хозяйств Калмыкии», выполнена на актуальную тему, тем более, если учесть что в соответствии с поручением Президента Российской Федерации к концу 2020 г. страна должна быть оздоровлена от лейкоза крупного рогатого скота.

По ряду положений оппонируемая диссертация носит приоритетный характер, несет в себе новизну и практическую значимость. Все изложенное позволяет оценить кандидатскую диссертацию, выполненную по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология, как соответствующую требованиям п. 9 «Правил...» ВАК Минобрнауки РФ, а её автор-соискатель Генджиев Александр Ялмтаевич достойным к присуждению ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Доктор ветеринарных наук,
профессор, заслуженный деятель
науки Российской Федерации, заведующий
кафедрой физиологии и биохимии
человека и животных
ФГБОУ ВО Новосибирский государственный
аграрный университет.
630039, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160.
конт.тел.8-913-707-33-41
E-mail: smirnov.271@mail.ru
07.03.2019 г.



Смирнов
Павел Николаевич

