

## ОТЗЫВ

официального оппонента Будулова Нурдина Рагимхановича, доктора ветеринарных наук, главного научного сотрудника Прикаспийского зонального научно-исследовательского ветеринарного института – филиал ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан» на диссертационную работу Адамбаевой Акмарал Ауелхановны на тему «Аллельный полиморфизм гена *BoLA-DRB3* в связи с устойчивостью к бруцеллёзу и разработка комплексного антигена для диагностики бруцеллеза животных», представленную к защите в диссертационный совет 35.2.016.01 при ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности – 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных

**Актуальность темы диссертации.** Бруцеллез занимает второе место среди инфекционных заболеваний крупного рогатого скота, зарегистрированных в России (после лейкоза). В последние годы число неблагополучных по бруцеллезу крупного рогатого скота пунктов динамично растет, поэтому бруцеллез остается серьезной проблемой для местного сельского хозяйства и представляет угрозу для здоровья населения.

В ведущих странах мира в селекции и разведении животных в последние десятилетия широко используются молекулярно-генетические маркеры хозяйственно ценных признаков, в том числе, генетических заболеваний и устойчивости к инфекционным болезням. Одним из наиболее значимых в этом отношении генов является ген *BoLA-DRB3*, кодирующий антигены класса II главного комплекса гистосовместимости крупного рогатого скота, обладающий высоким аллельным разнообразием. Установлены ассоциации аллельных вариантов данного гена с устойчивостью к таким заболеваниям, как лейкоз, мастит, цистит, дерматофилёз, тейлериоз.

Однако, как указано диссертантом, в мировой научной литературе не найдено публикаций об использовании гена *BoLA-DRB3* для поиска аллелей гена, как ДНК-маркеров на генетическую устойчивость к бруцеллезу. Эти ДНК-маркеры можно было бы использовать для проведения селекции крупного рогатого скота на устойчивость к бруцеллезу и оздоровления стад животных.

Оздоровительные мероприятия в неблагополучных по бруцеллезу пунктах основаны на систематических диагностических исследованиях поголовья с последующей изоляцией и убоем выявляемых пораженных особей и при необходимости – вакцинацией животных. Однако, возбудитель бруцеллеза может под воздействием различных факторов очень быстро перестроиться, вплоть до изменения антигенной структуры. Поэтому у некоторых животных может наблюдаться скрытое носительство бруцелл, невыявляемое серологическими методами исследования. Наличие скрытого бруцеллоносительства среди животных представляет большую опасность для сохранения источника инфекции.

В связи с вышесказанным, работа Адамбаевой А.А., посвящённая изучению аллельного полиморфизма гена *BoLA-DRB3* и его связи с устойчивостью к бруцеллёзу, а также разработке комплексного антигена для диагностики бруцеллёза животных, является актуальной.

**Научная новизна и теоретическая значимость.** Впервые в мире проведен молекулярно-генетический анализ крупного рогатого скота Республики Казахстан на устойчивость к бруцеллезу. Это позволило выявить аллельный полиморфизм гена *BoLA-DRB3* у аулиекольской, казахской белоголовой породы и голштинской в группах здоровых и больных бруцеллезом коров. Полученные данные свидетельствуют о высоком генетическом разнообразии мясных пород Казахстана, и, соответственно, их высоком адаптивном потенциале. Выявлены аллели гена *BoLA-DRB3*, которые связаны с устойчивостью и восприимчивостью к бруцеллёзу и могут служить ДНК-маркерами в селекции и разведении животных, генетически устойчивых к бруцеллезу.

Обнаружение аллелей гена BoLA-DRB3, связанных с формированием генетической устойчивости и восприимчивости к бруцеллёзу и факта доминирования аллелей устойчивости, позволяет, используя эти молекулярные маркеры, создавать животных с повышенной устойчивостью к этой опасной болезни, что имеет большое теоретическое значение, поскольку способствует развитию нового направления в генетике и разведении КРС.

Авторами была подана заявка на «Способ селекции крупного рогатого скота на генетическую устойчивость к бруцеллезу с использованием аллелей гена BoLA-DRB3, связанных с устойчивостью и чувствительностью к бруцеллезу», что подтверждает новизну этой разработки.

Диссертантом предложен комплексный антиген, разработанный на основе мутантных форм бруцелл и бруцеллофагов, в том числе, в R-форме. Новый антиген комплексного типа на основе бруцелл и бруцеллофагов имеет преимущества в выявлении инфицированности животных серологическими методами. Новизна этой работы подтверждена многими предпатентами Республики Казахстан.

Диссертационная работа Адамбаевой А.А. имеет высокую теоретическую значимость, поскольку ее результаты позволяют начать работу по новому в мировой практике направлению в селекции и разведении крупного рогатого скота. Использование аллелей гена BoLA-DRB3 делает возможным направленное создание животных с генетической устойчивостью к бруцеллезу, на основе насыщения стада аллелями устойчивости и элиминирования аллелей чувствительности к бруцелле.

Получение и изучение нового антигена подтвердили преимущества комплексного типа антигена на основе бруцелл и бруцеллофагов в выявлении инфицированности животных серологическими методами.

**Практическая ценность результатов исследования и степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций.** Адамбаева А.А. использовала в диссертационной работе два взаимодополняющих подхода, что позволило получить результаты, имеющие высокую практическую значимость для решения проблемы оздоровления животных от бруцеллеза. В работе выявлены аллели гена BoLA-DRB3, связанные с устойчивостью и восприимчивостью животных к бруцеллезу, которые можно далее использовать в селекции и разведении КРС в качестве ДНК-маркеров для отбора генетически устойчивых к бруцеллезу животных, что позволит создавать стада, генетически устойчивые к бруцеллезу.

Создание комплексного антигена для диагностики бруцеллеза, способного выявлять хронические и скрытые формы, в том числе, вызываемые диссоциированными формами бруцелл, что в среднем на 38% более эффективно, по сравнению с общепринятыми методами диагностики, имеет важное практическое значение для борьбы с бруцеллезом.

Обоснованность теоретических выводов и научных положений подтверждается достаточным объемом экспериментальных данных. Достоверность результатов исследований, основных выводов диссертации обусловлена большим объемом экспериментального материала, полученного в результате научных исследований. Результаты анализов обработаны с помощью статистических методов, оценена достоверность полученных результатов.

Основные результаты диссертационной работы доложены, обсуждены и одобрены на национальных и международных научно-практических конференциях.

Основные научные положения, выдвинутые диссертантом, основаны на результатах исследований, научных выводов и практических предложений, которые полностью отражают содержание работы, соответствуют поставленной цели, обозначенным для решения задачам и, следовательно, являются обоснованными.

**Оценка содержания и оформления диссертации, её завершенности, соответствия имеющимся научным публикациям и автореферату, критериям положения ВАК о присуждения учёных степеней.** Диссертационная работа изложена на

179 страницах компьютерного текста, состоит из следующих разделов: введение, литературный обзор, материалы и методы исследований, результаты исследований и их обсуждение, заключение, выводы, практические предложения, рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы, обозначения и сокращения, список использованной литературы и приложения. Диссертация оформлена в соответствии с требованиями ВАК, содержит 42 таблицы, 11 рисунков, 10 приложений. Список использованной литературы содержит 157 источников, из них 36 – на английском языке.

Все разделы диссертации отражают сущность выполненных исследований.

В разделе «Введение» автор обосновывает актуальность и степень разработанности темы, сформулированы цель и задачи исследований, представлена научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы исследований, описаны основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация, публикация результатов исследований, объем и структура диссертации. Все перечисленные пункты изложены четко и обоснованно.

Раздел «Литературный обзор» включает в себя четыре подраздела. В первом диссертант освещает одно из самых важных зоонозных заболеваний – бруцеллез, представляющий собой серьезную мировую проблему для ветеринарии и здравоохранения из-за высокой патогенности возбудителя для животных и человека, представлен анализ распространенности заболевания в Российской Федерации и Республике Казахстан. Второй посвящен породам крупного рогатого скота Республики Казахстан. В третьем излагает диагностические методы исследования бруцеллеза и бактериофаги. Четвертый посвящен молекулярно-генетическим подходам в животноводстве и ветеринарной медицине.

В разделе «Материалы и методы исследований» автором описываются основные методы, изложенные в соответствии с поставленными на изучение задачами. Диссертантом настоящая работа выполнялась в Инновационном научно-образовательном центре биотехнологии и экологии Брянского государственного университета и лаборатории бруцеллеза ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт» при АО Национальный холдинг «QazBioPharm» МЗ РК и в ветеринарных лабораториях Костанайской, Атырауской и Алматинской областей в период с 2004–2019 гг.

Исследованию подвергались образцы ДНК здоровых и больных бруцеллезом аулиекольской, казахской белоголовой и голштинской из разных регионов Казахстана. При этом, использован метод ПЦР-ПДРФ для молекулярно-генетического анализа гена *BoLA-DRB3* и определения аллельного полиморфизма животных. Проведен сравнительный анализ разных аллелей чувствительности и устойчивости к бруцеллезу у больных и здоровых коров различных пород, для использования в качестве ДНК-маркеров в селекции и разведении КРС.

Разработка комплексного антигена включает получение стабильных диссоциантов под воздействием внешних факторов, получение специфического бруцеллезного бактериофага нового типа, с применением серологических, бактериологических методов исследований. При конструировании комплексного диагностикума, содержащего измененные формы бруцелл и специфические фаги, использовались методы, применяемые в бактериофагии. Комплексный антиген конструировали путем адсорбции фага на клетках штамма *B. abortus* 0071В (R-форма), из расчета 100 фаговых корпускул на 1 бактерию и после инактивации, созревания и разведения получали целевой продукт.

Раздел «Результаты исследований и их обсуждение» состоит из 2-х больших подразделов.

В первых 3 автором приводятся результаты анализа аллельного полиморфизма гена *BoLA-DRB3* у больных бруцеллезом и здоровых коров аулиекольской, казахской белоголовой и голштинской, разводимых в хозяйствах нескольких районов Казахстана. В результате проведенных исследований выявлены особенности аллельного полиморфизма гена *BoLA-DRB3* у больных и здоровых животных. Определены аллели гена *BoLA-DRB3*,

связанные с устойчивостью или чувствительностью к бруцеллезу, которые могут служить ДНК-маркерами устойчивости или чувствительности к бруцеллезу, показано доминирование аллелей устойчивости у животных аулиекольской, казахской белоголовой и голштинской пород.

В последующих 6 подразделах для совершенствования диагностики бруцеллеза в настоящей работе предложен комплексный антиген, разработанный на основе мутантных форм бруцелл и бруцеллофагов, в том числе, в R-форме. Изучение нового антигена подтвердило его преимущество в выявлении больных бруцеллезом животных серологическими методами. Комплексный антиген способен выявлять хронические и скрытые формы бруцеллеза, в том числе, вызываемые диссоциированными формами бруцелл.

В разделе «Заключение» диссертант анализирует полученные результаты молекулярно-генетических, серологических и бактериологических исследований, практические предложения, рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы. Выводы в диссертации являются значимыми научными обобщениями и отражают основные результаты выполненного исследования, целиком соответствуют поставленным задачам, практическая значимость и положения, выносимые на защиту, логично вытекают из собственных исследований и полученных результатов.

Текст диссертации написан грамотно, аккуратно, читается и воспринимается легко. Структура работы полностью соответствует её содержанию.

Проведенный анализ структуры и содержания диссертационной работы Адамбаевой Акмарал Ауелхановны позволяет констатировать ее целостность и завершенность.

Автореферат содержит основные разделы диссертации и раскрывает ее научные положения. Выводы и практические предложения, рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы, изложенные в автореферате и диссертации, идентичны. Диссертация и автореферат соответствуют критериям «Положения о присуждении ученых степеней».

Исследования по теме «Аллельный полиморфизм гена *BoLA-DRB3* в связи с устойчивостью к бруцеллезу и разработка комплексного антигена для диагностики бруцеллеза животных», результаты которых изложены в диссертационной работе А.А. Адамбаевой, соответствуют паспорту специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных.

В целом, диссертационная работа изложена научным языком, заслуживает положительной оценки. Однако, в ходе рассмотрения принципиальных возражений и замечаний не возникло. Вместе с тем, хотелось бы получить более подробные ответы на следующие вопросы:

1. В диссертации отсутствует раздел «Заключение» по литературному обзору.
2. Каков процент встречаемости бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота в последние годы в условиях Республики Казахстан?
3. Пробы, отобранные для изучения аллельного полиморфизма гена *BoLA-DRB3* у коров, предварительно исследованы Вами серологическими и бактериологическими методами. Есть ли необходимость проводить бактериологические исследования, когда при серологических тестах выявляются положительно или отрицательно реагирующие животные?
4. В основном, Вами определен аллельный полиморфизм гена *BoLA-DRB3* у коров. Не приходилось ли Вам проводить подобные исследования у быков-производителей, так как они тоже играют важную роль в племенном деле?
5. Разработанный Вами новый комплексный антиген на основе бруцелл и бруцеллофагов паспортизирован и депонирован. Где находятся и хранятся в настоящее время данные штаммы?
6. Производственные испытания комплексного антигена были проведены на мелком рогатом скоте. Подобные исследования на крупном рогатом скоте не

проводились?

Возникшие вопросы при анализе диссертации имеют познавательный и дискуссионный характер, не затрагивают принципиальных положений, изложенных автором настоящей работы, не снижают её научной и практической значимости.

### Заключение

Диссертационная работа Адамбаевой А.А. выполнена на актуальную тему, на высоком научно-методическом уровне, является самостоятельным завершённым научно-квалификационным трудом, содержит комплекс научных результатов и решений актуальных задач, имеющих важное научно-практическое значение. Полученный материал достоверен. Выводы и предложения производству носят объективный характер, имеют теоретическое и практическое значение.

Учитывая объем проведенных исследований, актуальность темы, новизну, достоверность полученных данных, научную и практическую значимость выполненных исследований, считаю, что диссертационная работа на тему «Аллельный полиморфизм гена BoLA-DRB3 в связи с устойчивостью к бруцеллезу и разработка комплексного антигена для диагностики бруцеллеза животных» отвечает требованиям ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ, полностью соответствует критериям п. 9 «Положение о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, а её автор – Адамбаева Акмарал Ауелхановна заслуживает присуждения учёной степени кандидата ветеринарных наук по специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных.

Официальный оппонент:

Главный научный сотрудник Прикаспийского зонального научно-исследовательского ветеринарного института – филиал ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан»,

доктор ветеринарных наук Будулов Нурдин Рагимханович  
Телефон: моб.: 8-963-793-94-55, e-mail: [budulov1951@mail.ru](mailto:budulov1951@mail.ru)

Подпись доктора ветеринарных наук Н.Р. Будулова заверяю: Ученый секретарь Прикаспийского зонального НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ

РД», кандидат химических наук Каспарова Миясат Арсеновна

29.11.2024 г.

Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан» (Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД»).

Адрес: ул. Дахадаева, 88, г. Махачкала, Республика Дагестан, 367000. Телефон, факс: 8(8722) 67-15-36. [www.pznivi.ru](http://www.pznivi.ru), e-mail: [pznivi@bk.ru](mailto:pznivi@bk.ru)