ОТЗЫВ

на автореферат диссертации **Котеневой Светланы Владимировны** на тему:
«Молекулярно-генетическое типирование вирусов респираторного комплекса крупного рогатого скота и особенности их циркуляции в Сибири»
представленной к защите на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук по специальности **4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных**

Современное промышленное животноводство обуславливает высокую концентрацию животных на ограниченных по площади территориях, что повышает вероятность контактов между особями, что приводит к быстрому распространению патогенов. Кроме того, наличие импортных животных, которые могут быть носителями вирусов без проявления клинических признаков заболевания, увеличивает риск проникновения и распространения новых вирусных штаммов в популяцию. Комплекс респираторных болезней крупного рогатого скота (КРС) - одна из основных причин экономического ущерба в молочном животноводстве, включающего снижение молочной продуктивности, замедление темпов роста, повышение уровня смертности и увеличение затрат на диагностические и лечебно-профилактические мероприятия. Этиология респираторных заболеваний носит мультифакторный характер и определяется сложной взаимосвязью инфекционных агентов, абиотических факторов среды и индивидуальных физиологических особенностей организма- хозяина. Респираторные инфекции КРС характеризуются высокой вариабельностью клинических проявлений и течения, что зависит от вида возбудителя, уровня естественной резистентности и специфического иммунитета животного, условий содержания. Помимо развития респираторной патологии, многие вирусы респираторного комплекса оказывают системное влияние на организм животного, вызывая поражения и нарушения в других органах и системах, таких как пищеварительная, репродуктивная и иммунная. Это способствует развитию осложнений, снижению продуктивности, а также повышает риск вторичных инфекций.

Основными возбудителями комплекса респираторных заболеваний КРС являются вирусы инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи-болезни слизистых, респираторно-синцитиальной инфекции, коронавирусной инфекции, парагриппа- 3, герпеса 4 типа. Они вызывают респираторную патологию у восприимчивых животных как в форме моноинфекции, так и в ассоциации с другими патогенами, что приводит к синергическому взаимодействию между ними и усилению тяжести клинического течения заболевания.. Первичное вирусное поражение дыхательных путей у КРС чаще всего сопровождается развитием вторичных бактериальных инфекций. Среди ведущих бактериальных возбудителей, вовлеченных в развитие комплекса респираторных заболеваний, выделяют *Pasteurella multocida, Mannheimia haemolytica, Histophilus somni* и *Mycoplasma bovis*, а также *Trueperella pyogenes* и ряд других агентов. Эти микроорганизмы обладают способностью вызывать острые и хронические формы бронхопневмонии, осложнять течение заболевания, способствуют иммуносупрессии.

Учитывая многофакторную природу респираторных заболеваний у КРС, особое значение имеет проведение комплексной и точной диагностики, которая является ключевым этапом для разработки и реализации эффективных противоэпизоотических мероприятий. Исследование генетического разнообразия циркулирующих вирусов играет важную роль в понимании механизмов их

распространения и совершенствовании стратегий профилактики, включая разработку эффективных вакцин и высокоспецифичных методов диагностики.

Целью исследований диссертационной работы Котеневой Светланы Владимировны явилась разработка методов диагностики на основе ПЦР, определение этиологической структуры респираторных болезней и изучение циркулирующих генетических вариантов основных вирусов респираторного комплекса КРС в хозяйствах Сибири.

Научная новизна диссертационной работы Котеневой Светланы Владимировны состоит в том, что автором впервые разработаны тест-системы на основе ПЦР для выявления вирусов респираторного комплекса КРС: ОТ-ПЦР с электрофоретической детекцией результата для выявления генома BVDV-3, ОТ-ПЦР-РВ для выявления и дифференциации трех видов пестивирусов КРС, ОТ-ПЦР-РВ для выявления и количественного определения BRSV, ПЦР-РВ для выявления BoHV-4, определены их аналитическая чувствительность и диагностическая эффективность. Впервые в РФ разработана мультиплексная ОТ-ПЦР-РВ для одновременного выявления геномов восьми вирусов КРС: BoHV-1, BVDV-1, BVDV-2, BVDV-3, BRSV, BoHV-4, BCoV, BPIV-3. С использованием разработанных тест-систем изучена этиологическая структура респираторных болезней КРС и установлено широкое распространение вирусов BoHV-1, BVDV-1, BVDV-2, BVDV-3, BRSV, BoHV-4, BCoV, BPIV-3 среди животных разных возрастных групп в молочных хозяйствах Сибири. Впервые в РФ на крупном молочном комплексе выявлена и генетически подтверждена сочетанная инфекция BVDV-1b и BVDV-2a после импорта скота, установлены особенности её клинического течения и тканевая локализация возбудителей. Впервые в структуре инфекционной патологии КРС в РФ идентифицирован и филогенетически охарактеризован BVDV-3a, установлен факт заноса вируса в ранее благополучные хозяйства с контаминированной вакциной и изучены особенности клинического проявления инфекции. Установлена контаминация пестивирусами следующих биологических препаратов: эмбриональной сыворотки (BVDV-3a, BVDV-1a, BVDV-1j), перевиваемых культур клеток различного происхождения (BVDV-1a, BVDV-1j) и живой ветеринарной вакцины (BVDV-3a). Доказана передача BoHV-1 и BVDV при искусственном осеменении коров через сперму инфицированных быков-производителей с последующими вспышками гинекологических болезней в хозяйствах. Впервые проведен комплексный молекулярный анализ изолятов BVDV, определена генетическая структура популяции BVDV у высокопродуктивных животных. Установлена циркуляция широкого спектра генетических вариантов, включающего восемь субтипов BVDV-1 (1a, 1b, 1c, 1d, 1f, 1i, 1p, 1r) с доминированием 1b - 39,6%, три субтипа BVDV-2 (2a, 2b, 2c) и субтип BVDV-3a. Выявлена специфическая взаимосвязь между генетическими вариантами вируса и клиническими синдромами у больных животных. Определен высокий патогенный потенциал BVDV-2 и BVDV-3 в развитии системных и репродуктивных поражений. Доказана роль импорта племенного скота как ключевого фактора трансграничного заноса и диссеминации штаммов BVDV. Впервые проведена дифференциация циркулирующих субтипов BVDV по источнику происхождения: выявлены строго экзогенные (импортные) варианты (1a, 1c, 1p, 2c), смешанные, адаптированные к местной популяции (1b, 1f, 1d, 1г, 2a, 2b) и энзоотический субтип 1i, циркуляция которого ограничена популяцией местного скота. Впервые показан риск ятрогенного инфицирования скота BVDV-Эа вследствие применения конта- минированных биопрепаратов.

Впервые в РФ на основе филогенетического анализа полной нуклеотидной последовательности гена G BRSV генетически дифференцированы штаммы, циркулирующие у молочного скота в Сибири. Штаммы вируса принадлежали к подгруппам II, III и независимой кладе. Данные о первичной структуре гена G семи штаммов BRSV депонированы в базу данных GenBank (номера OR426499 - OR426505). Установлена значительная генетическая вариабельность изолятов BCoV, идентифицированных у молочного скота в Сибири. На основании филогенетического анализа фрагментов генов S и N доказано одновременное присутствие в регионе представителей европейской и американо-азиатской линий. Последовательности вируса депонированы в базу данных GenBank под номерами OP651999 - OP652028. Выявлена циркуляция американского (DN 599-like) и европейского (Movar- like) генотипов BoHV-4 на основе филогенетического анализа участка гена gL среди КРС в Сибири.

Научная новизна подтверждена пятью патентами РФ.

Теоретическая и научно-практическая значимость исследований состоит в том, что на основании проведенных исследований расширяются научные знания об этиологической роли вирусов в развитии массовых респираторных патологий КРС и служат теоретическим фундаментом для дальнейшего изучения особенностей патогенеза вирусных инфекций, механизмов формирования смешанных инфекций, а также для оптимизации схем лечебно-профилактических мероприятий в промышленных животноводческих комплексах.

Теоретическая значимость изучения генетического разнообразия циркулирующих штаммов вирусов заключается в углублении представлений о механизмах их эволюции и адаптационном потенциале, а также научном обосновании систем молекулярно-генетического мониторинга эпизоотической ситуации. Разработанные тест-системы позволяют повысить эффективность выявления вирусов респираторного комплекса. Данные о генетическом полиморфизме штаммов вирусов необходимы для создания эффективных вакцин, обеспечивающих перекрестную защиту против циркулирующих на конкретной территории гетерологичных вариантов.

Таким образом, внедрение комплексного подхода к диагностике болезней респираторного комплекса КРС с применением современных молекулярногенетических методов в практику ветеринарных лабораторий позволит оптимизировать систему противоэпизоотических мероприятий. Материалы диссертации использованы при разработке двух методических пособий.

При выполнении диссертационной работы использованы молекулярно-генетические (выделение нуклеиновых кислот, ПЦР и ОТ-ПЦР с электрофоретической и гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации, секвенирование), вирусологические (культивирование и выделение вирусов), бактериологические и биоинформационные методы анализа со статистической обработкой полученных данных.

Статистическая оценка полученных результатов проводилась путем арифметической статистики, предложенным Г.Ф. Лакиным, с помощью программы OpenOffice Calc Microsoft, Excel, Microsoft Access и IDEXX. Оценку статистического критерия достоверности различий проводили с использованием теста t-распределения Стьюдента.

Степень достоверности подтверждается проведением исследований на сертифицированном современном оборудовании, статистически значимым

количеством исследований в лабораторных, экспериментальных и научно-производственных условиях.

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на международных и всероссийских научных конференциях: Астана, Казахстан, 2014 г.; Москва, 2017, 2018, 2021 г.; Екатеринбург, 2021 г.; Витебск, Белоруссия, 2022, 2023, 2025 г.; Лосино-Петровский, 2024 г.

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 4.2.3 Инфекционные болезни и иммунология животных по п.п. 3, 4, 6 и 7.

По теме диссертации опубликованы 54 научные работы, из них 20 - в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ и 13 - в международных рецензируемых журналах Scopus и Web of Science, получено 5 патентов на изобретение РФ.

Диссертационная работа **Котеневой Светланы Владимировны**на тему: **«Молекулярно-генетическое типирование вирусов респираторного комплекса крупного рогатого скота и особенности их циркуляции в Сибири»** является законченной научно-квалификационной работой. Диссертационная работа соответствует пп. 9-11,13,14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК РФ, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 в редакции от 21.04.2016 г. № 335 и отвечает требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор **Котенева Светлана Владимировна** заслуживает присуждения ученой степени доктора ветеринарных наук по специальности **4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных.**

Выражаем свое согласие на размещение отзыва на официальном сайте Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий Российской академии наук в глобальной компьютерной сети Интернет.

Заведующий кафедрой эпизоотологии и инфекционных болезней животных УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», доктор ветеринарных наук (06.02.02), доктор биологических наук (03.01.06), профессор Красочко Петр Альбинович

Заведующий отраслевой лаборатории ветеринарной биотехнологии и заразных болезней животных УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», доктор биологических наук (03.01.06), кандидат ветеринарных наук (06.02.02) доцент Красочко Павел Петрович

(210026, г. Витебск, ул. 1-я Доватора 7/11)
Тел. м. +375-44-586-00-67, + 375-33 613-14-15
E-mail: krasochko@gmail.com, 7696695@gmail.com

Собственноручная подпись Красочко П.А., Красочко П.П.
удостоверяется
Директор по научной работе Дорошких С.В.
«11» 05 2026г.