

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор
Федерального государственного бюджетного
научного учреждения
«Федеральный исследовательский центр
фундаментальной и трансляционной медицины»
Академик РАН

М.И. Воевода
« 15 » _____ 2026 г.
М.П.



ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Гусевой Нелли Андреевны «Молекулярно-генетические свойства изолятов вируса болезни Ньюкасла, выявленных на территории Российской Федерации в 2019-2023 гг.», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 - Вирусология

Актуальность темы диссертационного исследования

Диссертационная работа Гусевой Н.А. посвящена изучению молекулярно-генетических свойств изолятов вируса болезни Ньюкасла (ВБН), выявленных на территории Российской Федерации в 2019–2023 гг., а также разработке и совершенствованию методов лабораторной диагностики данного заболевания.

Актуальность темы исследования не вызывает сомнений и обусловлена высокой эпизоотологической и экономической значимостью болезни Ньюкасла. На данный момент ВБН выявлен у более чем 240 видов птиц в разных вариантах патогенности. Это заболевание широко распространено во всем мире, характеризуется высокой контагиозностью и способностью вызывать массовые эпизоотии среди сельскохозяйственной птицы, что приводит к значительным экономическим потерям в птицеводческой отрасли. Кроме того, вирус обладает выраженной генетической вариабельностью, что существенно осложняет вопросы диагностики, профилактики и контроля инфекции.

Особую актуальность в последние годы приобретают исследования, направленные на изучение циркуляции вирусов генотипа VII класса II, которые являются причиной

большинства вспышек болезни Ньюкасла в странах Европы, Азии и Африки. Эти вирусы характеризуются высокой вирулентностью, значительной генетической изменчивостью и способностью к широкому географическому распространению.

В условиях активных трансграничных перемещений птицы и продукции птицеводства, а также миграций диких птиц, возникает необходимость постоянного молекулярно-генетического мониторинга возбудителя. Это позволяет своевременно выявлять новые варианты вируса, отслеживать пути его распространения и совершенствовать меры эпизоотологического контроля.

Таким образом, диссертационная работа направлена на решение актуальной научной и практической задачи — изучение генетической структуры и эволюции вируса болезни Ньюкасла на территории Российской Федерации, что имеет важное значение для развития современной вирусологии и ветеринарной медицины.

Научная новизна

Выполнен комплексный анализ циркуляции вируса болезни Ньюкасла на территории 78 регионов РФ. Показано абсолютное доминирование вирулентных изолятов субгенотипа VII.1.1 (VII-L) в структуре заболеваемости домашней птицы, наряду с выявлением вакцинных (генотипы I, II, III) и авирулентных (генотип I.2) штаммов, а также вирусов, циркулирующих в популяциях голубей (субгенотип XXI.1.1).

Впервые определены и проанализированы полные нуклеотидные последовательности генов F и HN, а также полные геномы для значительного числа изолятов субгенотипа VII.1.1, выделенных в различных регионах РФ. Это позволило провести детальный филогенетический и эволюционный анализ, выявив уникальные нуклеотидные замены, характерные для вариантов ВБН, циркулировавших на территории РФ.

С помощью байесовского анализа впервые для данной группы изолятов определены ключевые филогенетические события: время дивергенции российской и иранской ветвей, а также дата ближайшего общего предка российских изолятов. Полученные данные могут свидетельствовать о едином источнике заноса возбудителя на территорию РФ и его последующей обособленной эволюции.

Автором разработаны и внедрены в практику два высокоспецифичных и чувствительных метода лабораторной диагностики: метод ОТ-ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ) для выявления РНК вируса генотипа VII и его производных, а также метод для определения первичной структуры генов F и HN изолятов генотипа VI. Эти разработки имеют важное значение для мониторинга и идентификации циркулирующих штаммов.

Девять штаммов вируса НБ субгенотипа VII.1.1 и один штамм субгенотипа XXI.1.1 депонированы во Всероссийскую государственную коллекцию экзотических типов вируса ящура и других патогенов животных ФГБУ «ВНИИЗЖ». Эти штаммы могут служить стандартными образцами для лабораторной диагностики, что является значительным вкладом в развитие отечественной базы референтных материалов.

Значимость полученных результатов

Теоретическая значимость работы заключается в углублении знаний о молекулярной эволюции и эпидемиологии возбудителя болезни Ньюкасла на территории РФ. Полученные данные о филогенетическом положении, скорости накопления мутаций и времени дивергенции российских изолятов субгенотипа VII.1.1 вносят существенный вклад в понимание глобальных процессов распространения и эволюции вируса, подтверждая роль международных связей и, предположительно, миграции птиц в формировании современной эпизоотической ситуации.

Практическая значимость диссертации подтверждается рядом важных достижений:

Разработанные и утвержденные Ученым советом ФГБУ «ВНИИЗЖ» методические рекомендации по выявлению РНК вируса генотипа VII с помощью ОТ-ПЦР-РВ и по определению первичной структуры генов F и HN изолятов генотипа VI являются готовыми инструментами для внедрения в практическую работу ветеринарных лабораторий. Они позволяют проводить как скрининговые исследования (ОТ-ПЦР-РВ), так и детальную молекулярную характеристику (секвенирование) выявленных вирусов.

Депонированные в Государственную коллекцию штаммы могут быть использованы для контроля качества диагностических препаратов, разработки новых вакцин и в качестве контрольных образцов при проведении научных исследований.

Полученный патент на изобретение № 2821028 «Штамм “ВНИИЗЖ G7” вируса ньюкаслской болезни птиц для изготовления биопрепаратов для диагностики и специфической профилактики ньюкаслской болезни птиц» подтверждает практическую ценность работы и возможность использования полученных результатов в биотехнологической промышленности.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Результаты диссертационной работы Гусевой Н.А. имеют широкий спектр практического применения и могут быть использованы ветеринарными лабораториями, научно-исследовательскими институтами, организациями по производству биопрепаратов, а

также образовательными учреждениями для совершенствования диагностики, мониторинга и профилактики ньюкаслской болезни в Российской Федерации.

Содержание работы

Материалы диссертационного исследования изложены на 120 страницах и включают введение, обзор литературы, собственные исследования, включая материалы и методы, результаты собственных исследований и их обсуждение, заключение, список использованной литературы и приложения. Работа проиллюстрирована 23 таблицами и 8 рисунками. Список использованной литературы включает 176 источников. В приложении представлены копии документов, подтверждающих практическую и научную значимость проведенного исследования. По теме диссертации опубликовано 5 научных статей. Из них — 1 статья в российском рецензируемом журнале, включенном в перечень рекомендованных ВАК Минобрнауки России для опубликования диссертационных исследований, 2 статьи в зарубежных изданиях, индексируемых в Web of Science, Scopus и в Едином государственном перечне научных изданий («Белый список»). В сборниках научных конференций опубликовано 2 тезиса. Кроме того, Гусева Н.А. является соавтором 1 патента.

Во **введении** четко обоснована актуальность темы и степень разработанности проблемы, сформулированы цель и задачи исследования, представлены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, а также положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы представлен на 24 страницах и содержит современные данные о строении, жизненном цикле, биологических свойствах, генетическом разнообразии и классификации ВБН. Кроме того, в литературном обзоре приведено описание эпизоотического процесса как в РФ, так и в мире. Сильной стороной обзора литературы является обширный набор источников.

Обзор литературы содержит актуальные сведения о биологических свойствах и генетическом разнообразии вируса болезни Ньюкасла. Вместе с тем следует отметить наличие терминологического несоответствия: в разных разделах работы вирус отнесен к различным видам (*Orthoavulavirus japonense* и *Orthoavulavirus javaense*), что требует уточнения.

Раздел «Материалы и методы» свидетельствует о высоком методическом уровне работы. Он содержит крайне подробное описание оборудования, реактивов и материалов, использованных при выполнении исследования. В работе были использованы современные экспериментальные и аналитические методы: вирусологические, молекулярно-биологические и биоинформационные.

Тем не менее, этот раздел представлен излишне подробно и перегружен деталями: упомянуто абсолютно все оборудование, включая неспециализированное. В качестве примера: бытовой холодильник, заливочный столик и гребенки для электрофореза, дозаторы. Описан процесс помещения пробирок в амплификатор. Следует отметить, что диссертационное исследование не должно носить характер стандартной операционной процедуры. В то же время, например, в таблице 5 отсутствует действительно важная информация — последовательности праймеров. Подробное описание рутинной процедуры электрофореза в агарозном геле соседствует с довольно скудным описанием методов секвенирования.

Раздел **«Результаты и их обсуждение»** логично структурирован по подразделам: сбор биологического материала и его исследование на наличие генетического материала ВБН, изоляция вируса, секвенирование вирусных геномов, филогенетический и эволюционный анализ. Результаты представлены логично и последовательно — от анализа биологического материала до интерпретации филогенетической топологии и эволюционной динамики.

Автором проделан огромный объем работы по анализу 29091 пробы биологического материала из 78 регионов РФ, в результате чего генетический материал ВБН был выявлен в 386 образцах (348 - от домашней птицы, 38 - от дикой птицы) из 43 регионов РФ. Автором представлена исчерпывающая характеристика выборки генетических вариантов ВБН, обнаруженных на территории РФ в 2019-2023 гг.: принадлежность к конкретным генотипам и субгенотипам, вирулентность, географическая локализация и распределение по видам-хозяевам. Важным результатом является выявление доминирования ВБН субгенотипа VII.1.1. В рамках выполнения диссертационного исследования с использованием СПФ-КЭ был выделен 41 изолят ВБН. Преимущественно (40 изолятов) — субгенотипа VII.1.1. Далее представлены результаты секвенирования генов F и HN для 27 изолятов ВБН и полных геномов для 13 изолятов. На основе полученных нуклеотидных последовательностей автором выполнен объемный блок аналитической работы: филогенетический анализ, анализ нуклеотидных и аминокислотных замен, эволюционный анализ. Сделаны выводы о формировании проанализированными в работе вариантами ВБН монофилетической ветви филогенетического дерева, построенного для субгенотипа VII.1.1. Автором, в результате байесовского анализа, показано, что датировка корневого узла дерева для групп российских и, наиболее генетически близкородственных им, иранских изолятов субгенотипа VII.1.1 показала значения в среднем 2008-2009 гг., что свидетельствует о раннем отделении будущей «русской» ветви. Значимым с практической точки зрения является результат разработки и оптимизации метода выявления РНК ВБН генотипа VII с использованием ОТ-ПЦР с

детекцией результата в режиме реального времени. Кроме того, Гусевой Н.А. разработана и оптимизирована методика секвенирования генов F и HN ВБН генотипа VI.

В **заключении** представлены выводы, отражающие результаты выполненного исследования, практическая реализация результатов работы и отмечена важность дальнейших исследований.

Вопросы и замечания

1. Отсутствуют терминологическое единообразие и согласованность:

- в названии диссертации речь идет о вируса болезни Ньюкасла (ВБН), а тексте преимущественно - «вирус ньюкаслской болезни (ВНБ)»

- Необходимо более тщательно подходить к классификации филогенетических групп: автор применяет термины «генотип», «субгенотип» и «подтип» к одной группе генетических вариантов: например, для VII.1.1 встречаются термины как «генотип», так и «субгенотип». На протяжении всего текста рукописи встречаются различные варианты классификации: более ранняя «по Diel, 2012», актуальная «по Dimitrov, 2019» и одновременно обе.

2. В разделе «Материалы и методы» указано, что «проверка устойчивости филогении проводилась методом «бутстреп»». Однако на филогенетических деревьях не представлена информация о значениях бутстреп-поддержки.

3. Включение в таблицу №10 номеров последовательностей из GenBank сделало бы ее более содержательной и продемонстрировало бы, что последовательности размещены в этой международной базе данных, что является важным вкладом в понимание глобальной картины генетического разнообразия и распространения ВБН.

3. Работа называется «Молекулярно-генетические свойства изолятов вируса болезни Ньюкасла, выявленных на территории Российской Федерации в 2019-2023 гг.», однако в рукописи указано, что на СПФ-КЭ из 386 положительных образцов было выделено только 40 изолятов субгенотипа VII.1.1 и 1 изолят субгенотипа XXI.1.1, при том, что были выявлены ВБН и других генотипов/субгенотипов. Было ли выполнено выделение изолятов иных ВБН, кроме субгенотипов VII.1.1 и XXI.1.1 и секвенирование их геномов?

4. Почему в филогенетический анализ не включены нуклеотидные последовательности иных вариантов ВБН, обнаруженных в РФ другими научными группами как ранее, до 2019 г., так и в период 2019-2023 гг.?

5. Автор выдвигает гипотезу о происхождении российских генетических вариантов ВБН субгенотипа VII.1.1 в результате единственного заноса. Насколько обоснованно делать такой вывод, исходя из анализа двух генов ВБН? Проводилось ли филогенетическое

исследование для полных геномов? Рассматривались ли альтернативные гипотезы (множественные заносы генетически близкородственных вариантов вируса)?

6. Автор сообщает о разработке метода по выявлению РНК ВНБ генотипа VII с помощью ОТ-ПЦР в режиме реального времени. Это, несомненно, важный практический результат. Однако, в работе отсутствует сопоставление разработанного метода с существующими коммерческими тест-системами (по чувствительности, специфичности, пределу обнаружения), а также не приведено обоснование его преимуществ.

7. В рамках диссертационного исследования разработан метод определения первичной структуры генов F и HN изолятов ВВН генотипа VI. Почему был выбран именно этот генотип? В разделе 3.7 метод описан до этапа визуализации продуктов ПЦР посредством электрофореза в агарозном геле. Если речь идет о разработке метода определения первичной структуры гена — логично дойти до заключительного этапа (непосредственно секвенирования) и продемонстрировать, в зависимости от использованной технологии (по Сэнгеру, NGS, нанопоровое секвенирование), показатели, подтверждающие качество полученного результата. Это было выполнено?

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

Большой объем экспериментальных исследований, а также актуальность, научная новизна, практическая и теоретическая значимость работы и количество публикаций создают хорошее впечатление о диссертации Гусевой Нелли Андреевны.

Основной материал работы достаточно полно представлен в автореферате, а выводы (итог выполненного исследования), диссертации соответствуют выводам, сделанным в автореферате.

Заключение

Таким образом, материалы диссертационной работы Гусевой Нелли Андреевны «Молекулярно-генетические свойства изолятов вируса болезни Ньюкасла, выявленных на территории Российской Федерации в 2019-2023 гг.», представляют собой законченный научно-квалификационный труд, в котором изложены новые научные результаты и положения, имеющие значение для диагностики и профилактики ньюкаслской болезни.

Материалы диссертации по актуальности изучаемой проблемы, степени научной новизны, теоретической и практической значимости, обоснованности научных положений и выводов, полноте публикаций материалов в научных печатных изданиях соответствует критериям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением № 842 Правительства РФ от 24.09.2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее

Отзыв рассмотрен и одобрен на совещании сотрудников НИИ Вирусологии Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины ФИЦ ФТМ (протокол № 5 от 24.03.2026).

НИИ вирусологии ФИЦ ФТМ,
старший научный сотрудник,
кандидат биологических наук
(630060, г. Новосибирск,
улица Тимакова, 2)



НИИ вирусологии ФИЦ ФТМ,
старший научный сотрудник,
кандидат биологических наук
(630060, г. Новосибирск,
улица Тимакова, 2)



Тел: (383) 274-95-80, факс (383) 335-97-74, E-mail: director@frcftm.ru, <http://www.frcftm.ru>.

