

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук Гамбарян Александры Сергеевны на диссертационную работу Гусевой Нелли Андреевны на тему «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.** Ньюкаслская болезнь (НБ) – это высококонтагиозное вирусное заболевание, которое ежегодно регистрируется во всем мире у домашних птиц (кур, гусей, уток, индеек и т.д.). НБ вызывают велогенные штаммы *Orthoavulavirus javaense* семейства *Paramyxoviridae* рода *Orthoavulavirus*. Заболевание имеет большое экономическое значение для промышленного и домашнего птицеводства во всем мире и внесено в список нотифицируемых заболеваний Всемирной организации здоровья животных (ВОЗЖ). Широкая циркуляция изолятов вируса ньюкаслской болезни (ВНБ) в популяциях птицы привела к значительному генетическому разнообразию и постоянному появлению новых линий вируса.

Все штаммы и изоляты ВНБ в настоящее время делят на 2 класса – класс I и класс II. Класс I состоит из единственного генотипа 1, который в свою очередь подразделяется на субгенотипы 1.1.1, 1.1.2 и 1.2. Все вирусы данного класса являются авирулентными. Класс II включает более 20 разных генотипов, часть из которых разделены на субгенотипы.

Наибольший интерес в настоящее время представляют штаммы и изоляты, относящиеся к генотипу VII. Генотип VII – это крупная и генетически разнообразная группа вирусов. На основе данных об аминокислотной последовательности сайта нарезания белка слияния предполагается, что все вирусы генотипа VII являются вирулентными. Вирусы данной генетической группы имеют большое экономическое значение для птицеводства, поскольку некоторые представители вызывали более высокую смертность среди вакцинированной домашней птицы, а также, возможно, расширили круг хозяев и способны вызывать более тяжелое течение болезни.

Учитывая клиническую и экономическую значимость ньюкаслской болезни для птицеводства и широкое использование живых вакцин во всем мире, своевременное выявление и дифференциация вирулентных штаммов ВНБ имеет большое значение. Таким образом, изучение молекулярно-генетических свойств и характеристик штаммов ВНБ является важным этапом для лабораторной диагностики ньюкаслской болезни.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.** Положения, выносимые на публичное рассмотрение, и выводы полностью отражают основные результаты диссертационной работы. Экспериментальная и теоретическая части исследования выстроены в логическом порядке, что позволило соискателю успешно справиться с выполнением поставленных задач и достижением конечной цели.

**Новизна и достоверность исследований.** Первым разделом диссертационной работы является разработка метода ОТ-ПЦР-РВ для выявления РНК ВНБ генотипа VII, а именно, выбор системы праймеров и зондов, и подбор условий, обеспечивающих высокую специфичность, эффективность, чувствительность и воспроизводимость реакции. Были выбраны и синтезированы 6 праймеров и зондов, фланкирующих разные участки гена L. Из них экспериментальным путём выбрано самое удачное сочетание и подобраны условия реакции: температуры отжига, концентрации компонентов реакционной смеси и температурно-временной режим реакции. С помощью разработанной системы проанализировано почти 30 тысяч образцов, собранных от домашних и диких птиц и в 386 пробах обнаружен геном вируса болезни Ньюкасла. Соискателем определены основные генетические группы изолятов ВНБ, циркулирующих на территории РФ: вирулентные вирусы генотипа VII, вирулентные изоляты генотипа VI и его производных, авирулентные вирусы генотипа I класса II, лентогенные и реже мезогенные вакцинные штаммы генотипов I, II и III. Также выделен изолят субгенотипа XXI.1.1.

В ходе проведения филогенетического и эволюционного анализа вариабельности нуклеотидных последовательностей ВНБ субгенотипа VII.1.1, было установлено, что российские изоляты представляют собой монофилетическую группу в рамках субгенотипа VII-L, что указывает на их происхождение от, возможно, единственного заноса одного из представителей субгенотипа на территорию страны.

Подобраны праймеры для амплификации и последующего секвенирования фрагментов генов F и HN изолятов ВНБ генотипа VI. С применением разработанного метода достоверно определена первичная структура генов F и HN трех изолятов вируса ньюкаслской болезни генотипа VI.

Основные результаты диссертационных исследований опубликованы в восьми научных работах, из них: две статьи в изданиях, индексируемых в международных цитатно-аналитических базах данных Web of Science и Scopus; статья в рецензируемом издании, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени

кандидата наук; патент РФ на изобретение; четыре публикации в Трудах и материалах научно-практических конференций.

**Научная и практическая значимость.** Проведено депонирование девяти штаммов ВНБ субгенотипа VII.1.1 (VII-L) и одного штамма субгенотипа XXI.1.1 (VI-g) во Всероссийскую государственную коллекцию экзотических типов вируса ящура и других патогенов животных ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Получен патент на «Штамм «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни птиц для изготовления биопрепаратов для диагностики и специфической профилактики ньюкаслской болезни птиц (№ 2821028).

В ходе выполнения научно-исследовательских работ по теме диссертации были разработаны, одобрены и утверждены Ученым советом ФГБУ «ВНИИЗЖ» «Методические рекомендации по выявлению РНК изолятов Avian orthoavulavirus 1 генотипа VII и его производных с помощью ОТ-ПЦР в режиме реального времени», «Методические рекомендации по определению первичной структуры генов F и HN изолятов вируса ньюкаслской болезни генотипа VI с помощью ОТ-ПЦР и нуклеотидного секвенирования» и «Методические рекомендации по определению последовательности ДНК с помощью реакции секвенирования на генетическом анализаторе НАНОФОР-05».

**Оценка содержания диссертации, её завершенности.** Диссертационная работа изложена на 121 странице, выполнена в соответствии с ГОСТ Р 7.0.11 - 2011 «Диссертация и автореферат диссертации. Структура и правила оформления», иллюстрирована 22 таблицами и 8 рисунками. Список использованной литературы включает 176 источников, из них 160 иностранных. В приложении представлены копии титульных листов документов, подтверждающих достоверность результатов работы, ее научную новизну и практическую значимость.

В разделе «Обзор литературы» автор приводит актуальные сведения о классификации, строении и основных молекулярно-генетических свойствах ВНБ, также подробно описано генетическое разнообразие штаммов и изолятов ВНБ и их распространение в мире и Российской Федерации.

Подраздел «Материалы и методы» содержит сведения об использованном оборудовании и наборах реактивов, а также описание применяемых методик.

Раздел «Результаты собственных исследований и их обсуждение» состоит из последовательных этапов, в которых описаны все стадии проведенной исследовательской работы. В конце каждого этапа соискатель подробно обсуждает полученные результаты.

Раздел «Заключение» включает в себя четко сформулированные выводы, практические предложения и перспективы дальнейшей разработки темы.

В диссертации соискатель ученой степени ссылается на авторов и источники заимствованных материалов.

Автореферат полностью отражает основные результаты и выводы диссертационной работы.

Исходя из вышеизложенного можно заключить, что диссертационная работа Гусевой Нелли Андреевны представляет собой завершенный научный труд.

В работе практически отсутствуют опечатки и технические погрешности. Единственное замечание, что не указаны идентификационные номера, под которыми сиквенированные геномные последовательности представлены в базе данных.

Возникшее замечание не влияет на обоснованность выводов и положений, выносимых на защиту и не снижают значимость и положительную оценку работы.

**Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней.** Диссертация Гусевой Нелли Андреевны «Молекулярно-генетические свойства изолятов вируса болезни Ньюкасла, выявленных на территории Российской Федерации в 2019-2023 гг.» является научно-квалификационной работой, в которой представлены результаты изучения молекулярно-генетических свойств изолятов вируса ньюкаслской болезни и предложены для лабораторной практики 10 новых штаммов этого вируса в качестве стандартных образцов, что имеет существенное научное и практическое значение для биологической отрасли.

Диссертация написана автором самостоятельно, обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты и положения, выдвигаемые для публичной защиты, и свидетельствует о личном вкладе автора диссертации в науку. В диссертации, приводятся сведения о практическом использовании полученных автором диссертации научных результатов.

По своей актуальности, новизне и практической значимости полученных результатов, степени обоснованности научных положений и выводов, методическому уровню, объему выполненных исследований, диссертация соответствует критериям, установленным разделом II «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013г. №842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Гусева Нелли Андреевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 - Вирусология.

Официальный оппонент:  
ведущий научный сотрудник  
лаборатории молекулярной биологии вирусов  
ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П.Чумакова РАН»  
(Институт полиомиелита),  
доктор биологических наук

Гамбарян  
Александра Сергеевна  
25 мая 2026 г.

Место работы: ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита). 108819, Российская Федерация, посёлок Института Полиомиелита, дом 8, корпус 1, вн.тер.г. муниципальный округ Филimonковский, г. Москва; Тел. +7 (495) 841-90-02, email: [sue\\_polio@chumakovs.ru](mailto:sue_polio@chumakovs.ru) <https://chumakovs.ru/>

Подпись доктора биологических наук А.С. Гамбарян заверяю,  
Ученый секретарь  
ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П.Чумакова РАН»  
(Институт полиомиелита),  
кандидат биологических наук



Алла Владимировна Белякова