



Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр
вирусологии и микробиологии»
(ФГБНУ ФИЦВиМ)

601125, Россия, Владимирская область, Петушинский район, п. Вольгинский,
ул. Академика Бакулова, стр.1
Тел./факс: (4922) 37-92-51; 37-92-61,
e-mail: info@vniivvim.ru; www.vniivvim.ru

В диссертационный совет Д 220.059.03
при ФГБОУ ВО Санкт-Петербургской
государственной академии ветеринарной
медицины (ФГБОУ ВО СПбГАВМ)

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Серовой Натальи Юрьевны

"Индикация и идентификация изолятов вируса инфекционного бронхита кур, циркулирующих на территории Российской Федерации", представленный к публичной защите на соискание учёной степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Инфекционный бронхит кур (ИБК) – высококонтагиозная болезнь, вызываемая РНК-содержащим вирусом, семейства Coronaviridae. Вирус чрезвычайно изменчив, поэтому небольшие замены в гене S1 приводят к появлению новых серотипов вируса, что затрудняет правильную постановку диагноза и не позволяет своевременно провести эффективную специфическую профилактику против данной болезни. Существующие методы выделения и идентификации вируса ИБК имеют некоторые недостатки, поэтому весьма актуальным является усовершенствование существующих методов выделения и идентификации изолятов вируса ИБК, изучение их биологических свойств для разработки эффективных схем вакцинации.

В связи с этим, целью работы стало усовершенствование метода индикации и идентификации вируса инфекционного бронхита кур с помощью обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции для последующего изучения изолятов, циркулирующих на территории РФ.

Научная новизна работы обусловлена тем, что был усовершенствован метод индикации и идентификации вируса инфекционного бронхита кур с помощью обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции с использованием отечественных препаратов, и реактивов. Впервые выявлены

и идентифицированы варианты изоляты вируса инфекционного бронхита кур, которые представляют интерес для дальнейшего изучения. Впервые определена нуклеотидная последовательность фрагментов S1 и 3'UTR 6 участков 11 полевых изолятов вируса ИБК. Проведено сравнение полученных последовательностей с опубликованными в GenBank различных изолятов и штаммов вируса ИБК.

В ходе выполнения работы соискателем были выделены изоляты вируса ИБК, изучена их чувствительность к некоторым химическим (эфир, хлороформ) и физическим (действие температуры) факторам. Предложен метод выявления вируса инфекционного бронхита с помощью обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции. Оптимальным участком для определения специфических праймеров был определён консервативный нетранслируемый (3'UTR) участок. После ряда опытов по подбору оптимальных концентраций и соотношений компонентов реакционной смеси и матричной кДНК был определен состав ПЦР-смеси. Чувствительность метода составила $3,3 \times 10^2$ копии/мкл или $3,3 \times 10^5$ копий молекул кДНК вируса/мл.

Идентификация изолятов проводилась методом геномного секвенирования. Для анализа использовался гипервариабельный фрагмент гена S1, т.к. транслируемый структурный белок именно этой области содержит антигенные детерминанты, индуцирующие выработку вируснейтрализующих антител. Всего было секвенировано 7 фрагментов гена S1 вируса ИБК (6 изолятов «RF/12/01», «RF/09/00», «RF/466/16», «RF/467/16», «ГС-11», «RF/432/2016» и 1 вариантный штамм «PB-07»).

На основе сравнения нуклеотидных последовательностей вариабельной области гена S1 зарубежных штаммов вируса ИБК и изолятов «RF/12/02», «RF/09/00», «RF/466/16», «RF/467/16», «ГС-11», «штамма PB-07» проведен филогенетический анализ и построена дендрограмма, на основе которой установлена гомология изолятов «RF/466/16», «RF/467/16» и «RF/12/01», которые образуют собственную генетическую группу. Определено родство изолята «ГС-11» и штамма «PB-07» с генотипом 793B (4/91). Выявлена гомология изолята «RF/09/00» с изолятом «RF/19/99» (GenBank: AJ458942.1), выделенным в Иркутске. Установлено родство изолята «RF/432/2016» со штаммом «H-120» (98%).

В качестве практической значимости работы утверждены нормативные документы: «Выявление вируса инфекционного бронхита птиц с помощью обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (Методические положения)». А также предложены изоляты вируса инфекционного бронхита кур «RF/12/01», «RF/09/00», «RF/467/2016», «ГС-11» для дальнейшего их практического использования.

В ходе прочтения автореферата возникает вопрос: какова экономическая целесообразность использования предложенного Вами метода индикации и идентификации вируса с использованием ОТ-ПЦР для лабораторной диагностики ИБК при исследовании патологического материала?

Основные положения диссертации изложены в 8 научных статьях, в том числе 3 в издании, рекомендованном ВАК РФ.

В связи с вышеизложенным считаю, что рецензируемая работа является законченным научным трудом, имеющим научно-практическое значение, а ее автор, Серова Н.Ю., заслуживает присуждения ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальностям 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Дюльдина Татьяна Владимировна, к.в.н.,
ведущий научный сотрудник лаборатории
Вирусологии и микробиологии СамНИВИ-
филиала ФГБН ФИЦВиМ
443013, г. Самара, ул. Магнитогорская -8
тел. 8 (846) 336-03-41,
e-mail: samara@vniivvim.ru

Дюльдина Т. В.

Подпись Дюльдиной Т. В. Заверяю:
ученый секретарь
ФГБНУ ФИЦВиМ, и.о.



Замашова ЕА