



Россельхознадзор

**Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Федеральный центр охраны здоровья животных»
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)**

600901, Россия, Владимирская область, город Владимир, микрорайон Юрьевец,
т.: (4922) 26-06-14, т./ф.: (4922) 26-38-77, e-mail: arriah@fsvps.gov.ru, сайт: www.arriah.ru
ОКПО: 00495527, ОГРН: 1023301283720, ИНН/КПП: 3327100048/332701001

*25 марта 2022 г.
01-04 / 2652*

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора ветеринарных наук, доцента Ирзы Виктора Николаевича на диссертационную работу Тарлавина Николая Владимировича «Иммуногенные свойства иммунокомплексной вакцины против инфекционной бурсальной болезни», представленную к защите в диссертационный совет Д 220.059.03 при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

1. Актуальность темы диссертации. Бурное развитие птицеводства Российской Федерации сопровождается расширением спектра актуальных вирусных болезней, негативно влияющих на сохранность поголовья и производственные показатели. Одной из таких болезней является инфекционная бурсальная болезнь (б. Гамборо, ИББ), которая находится в ряду наиболее значимых иммунодепрессивных инфекций. Экономический ущерб от ИББ составляют потери, связанные с падежом птиц, снижением продуктивности, повышением конверсии корма, ухудшением качества продукции, затратами на антибактериальные препараты. У заболевших птиц отмечается повышенная восприимчивость к возбудителям инфекционных болезней различной этиологии и снижение эффективности специфической

профилактики ряда заболеваний, прежде всего - ньюкаслской болезни. Б. Гамборо распространена во всех странах. Высоковирулентные вирусы также циркулируют в РФ и создают постоянную угрозу промышленному птицеводству страны. Вакцинация является единственной эффективной мерой борьбы с ИББ. В настоящее время для специфической профилактики ИББ используют живые, инактивированные и векторные вакцины, однако вакцинация не всегда обеспечивает полноценную защиту птиц. Применение традиционных живых вирусных вакцин требует обязательного расчета срока иммунизации в соответствии с динамикой угасания материнских антител (МАТ), которые способны нейтрализовать живой вакцинный вирус. Сохранение вакцинного вируса в присутствии МАТ и индукцию иммунитета у цыплят в нужное время могут обеспечить иммунокомплексные вакцины.

Отечественные средства специфической профилактики ИББ на основе иммунокомплексных препаратов не разработаны, поэтому тема исследования, направленного на создание таких вакцин, представляется актуальной.

2. Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Анализ литературы по ИББ позволил диссертанту определить цель и задачи исследований. Научные положения, выводы и практические предложения, сформулированные в диссертационной работе Н.В. Тарлавина, обоснованы обработкой фактического материала, включающего большой объем экспериментальных исследований с применением современных методов.

3. Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций. Работа выполнена на кафедре эпизоотологии им. В.П. Урбана ФГБОУ ВО СПбГУВМ Министерства сельского хозяйства РФ период с 2018 по 2021гг. Исследования проведены с использованием классических методов (клинический, патологоанатомический, серологический) и инновационных современных методов (молекулярно-генетический, биоинформационный). Исследование экспрессии иммунокомпетентных генов в тканях фабрициевой

сумки проводили в молекулярно-генетической лаборатории компании ООО «БИОТРОФ». Результаты исследований статистически обработаны, их достоверность также подтверждена комиссионными испытаниями.

Материалы исследований были представлены на X юбилейной международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны», Санкт-Петербург, 2021; 3-й Международной научно-практической конференции «Молекулярно-генетические технологии анализа экспрессии генов продуктивности и устойчивости к заболеваниям животных», Москва, 2021; Национальной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГУВМ, Санкт-Петербург, 2021; XX Международной конференции Российского отделения Всемирной научной ассоциации по птицеводству, НП "Научный центр по птицеводству", Сергиев Посад, 2020; 73-й международной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГАВМ, Санкт-Петербург, 2019.

Научная новизна диссертационной работы заключается в том, что впервые в РФ была разработана иммунокомплексная вакцина на основе отечественного штамма, пригодная к применению в первые сутки жизни цыплят без учета уровня специфических материнских антител, препятствующих своевременному развитию иммунитета у птиц. Также, впервые рассмотрены закономерности экспрессии основных иммунокомпетентных генов в тканях фабрициевой сумки под действием данной вакцины. Установлены закономерности экспрессии иммунных генов птицы (*IL6*, *IL8L2*, *AvBD-9*, *AvBD-10*, *IRF7*, *PTGS-2*) отвечающих за клеточный иммунный ответ, в иммунных тканях организма птицы под влиянием вирусного вмешательства.

4. Значимость для науки и практики проведенной соискателем работы.

Большинство вакцин, применяющихся в настоящее время в отечественном птицеводстве, представляют собой импортные биопрепараты. Применение разработанной иммунокомплексной вакцины против ИББ из штамма

“ВНИВИП” будет способствовать сокращению зависимости отечественного птицеводства от зарубежных поставок и позволит ветеринарным врачам птицефабрик надежно профилактировать ИББ путем вакцинации цыплят в суточном возрасте.

Результаты исследований были использованы при создании руководства «Методические рекомендации по использованию современных биотехнологий для оценки экспрессии генов, связанных с продуктивностью и устойчивостью птицы к неблагоприятным факторам», утверждённого УМК ФЗТА в ФГБОУ ВО МГАВМиБ - МВА имени К.И. Скрябина (протокол №13 от 3.11.2019), которые могут быть рекомендованы сотрудникам научно-исследовательских учреждений, ветеринарных лабораторий, студентам ВУЗов ветеринарного и биологического профиля. Проведенные исследования были поддержаны грантом, предоставляемым Советом по грантам Президента Российской Федерации №МД-2579.2021.5 «Изучение экспрессии генов иммунитета сельскохозяйственной птицы при вакцинации иммунокомплексной вакциной против инфекционной бурсальной болезни».

Получен патент на изобретение RU №2761566 – Вакцина иммунокомплексная против инфекционной бурсальной болезни птиц из штамма “ВНИВИП”, зарегистрированный в Государственном реестре РФ 10 декабря 2021 г.

5. Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом, замечания по оформлению диссертации. Диссертация изложена на 142 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, списка использованной литературы и приложений. Работа иллюстрирована 13 таблицами и 31 рисунком. Список литературы включает 265 источников, в том числе 209 зарубежных.

В разделе «Введение» обоснована актуальность темы исследования, обозначена степень ее разработанности, сформулированы цель и задачи

исследований, показаны новизна, теоретическая и практическая значимость работы, из которых логически вытекают положения, выносимые на защиту. В разделе также отражены методология и методы исследований, степень достоверности и апробация результатов, личное участие соискателя, публикации результатов исследований и структура диссертации.

Раздел «Обзор литературы» содержит современные сведения об иммунной системе птиц, истории изучения инфекционной бурсальной болезни и ее распространении. Дана характеристика вируса ИББ, подробно изложен патогенез заболевания, рассмотрены эпизоотологические особенности ИББ и вопросы специфической профилактики. Приведены данные по экспрессии генов иммунитета сельскохозяйственной птицы. Сведения, полученные в рассмотренных источниках литературы, позволили автору обосновать актуальность работы, ее цели и задачи.

Глава «Собственные исследования» включает разделы «Материалы и методы исследований» и «Результаты собственных исследований». В разделе «Материалы и методы исследований» изложен ход создания вакцины, схема эксперимента на цыплятах кроссов Ломан Уайт и Росс-308, приведено описание современных методик, использованных автором и подтверждающих ее высокий методический уровень.

В разделе 2.2. «Результаты собственных исследований» изложены этапы и результаты исследований в соответствии с целью работы и поставленными задачами. Раздел иллюстрирован 10 таблицами и 31 рисунком, разделен на 8 подразделов.

В подразделе 2.2.1. «Исследование сыворотки крови гипериммунизированных птиц в реакции диффузионной преципитации для создания иммунокомплексной вакцины» изложен ход получения гипериммунной сыворотки, содержащей антитела к вирусу ИББ, которые являются главным компонентом вакцины, защищающим вакцинный вирус от материнских антител цыпленка.

В подразделе 2.2.2. «Комбинация вирусодержащего материала с полученной гипериммунной сывороткой для создания вакцины» изложен ход создания вакцины из гипериммунной сыворотки и вируса путем их смешивания.

В подразделе 2.2.3. «Подготовка проекта нормативно-технической документации для изготовления, контроля и применения иммунокомплексной вакцины против инфекционной бурсальной болезни из штамма “ВНИВИП” изложен контроль изготовленной серии вакцины и исследование ее антигенной активности на цыплятах кроссов Ломан Уайт и Росс-308.

В подразделе 2.2.4. «Зоотехнические показатели подопытных птиц» описан эффект, который иммунокомплексная вакцина оказывает на привесы птиц.

В подразделе 2.2.5. «Морфологические изменения в организме птиц при введении иммунокомплексной вакцины против инфекционной бурсальной болезни из штамма “ВНИВИП”» освещено состояние фабрициевых сумок вакцинированных цыплят после введения иммунокомплексной вакцины.

В подразделе 2.2.6. «Влияние иммунокомплексной вакцины против инфекционной бурсальной болезни из штамма “ВНИВИП” на патогенные и условно-патогенные микроорганизмы кишечника птиц» показано многообразие условно-патогенных микроорганизмов в кишечнике цыплят и изменение содержания различных видов микроорганизмов под влиянием вакцины.

В подразделе 2.2.7. «Влияние иммунокомплексной вакцины на экспрессию генов, участвующих в иммунном ответе птиц» отражены закономерности экспрессии генов иммунитета подопытных цыплят под влиянием введения иммунокомплексной вакцины.

В подразделе 2.2.8. «Предполагаемая экономическая эффективность внедрения иммунокомплексной вакцины против инфекционной бурсальной болезни из штамма “ВНИВИП”» представлены расчет себестоимости

препарата и данные об экономической выгоде, которую возможно получить при использовании разработанной вакцины вместо зарубежного прототипа.

В главе 3. «Обсуждение результатов исследований» подведены итоги исследований и произведено сравнение с данными зарубежных ученых.

В главе 4. «Заключение» представлены выводы, вытекающие из поставленных задач и отражающие результаты исследований.

Далее отдельными разделами представлены практические предложения, перспективы дальнейшей разработки темы. В Приложении представлена копия патента и акт комиссионных испытаний вакцины.

6. Подтверждение опубликования результатов в научной печати.

По теме диссертации опубликовано 18 научных работ, из них 7 работ в изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ, 7 публикаций в материалах научных и научно-практических конференций, две работы индексируются в международной базе данных Scopus. Также материалы исследований были включены в одну монографию, и стали основой для одних методических рекомендаций. Получен один патент.

7. Соответствие содержания автореферата материалам диссертации.

Автореферат диссертационной работы Тарлавина Н.В. «Иммуногенные свойства иммунокомплексной вакцины против инфекционной бурсальной болезни» адекватно отражает содержание диссертации.

Замечания, вопросы и предложения по диссертации.

При общей положительной оценке работы Н.В. Тарлавина имеются некоторые замечания и вопросы, на которые хотелось бы получить ответы и разъяснения:

1. К какой категории вирусов по инвазивности относится штамм «ВНИВИП» («горячий», «промежуточный», «мягкий»)?

2. О соотношении вируса и сыворотки (1:2) при конструировании вакцины автор сообщает лишь в разделе «Обсуждение». Проводили ли исследования с препаратами, содержащими компоненты в других пропорциях и с другой активностью вируса и сыворотки?

3. Как автор объясняет феномен низкого уровня поствакцинального иммунитета (ср. титр 1:514 в ИФА) у цыплят яичных пород в 35-сут возрасте?

4. В разделе «Материалы и методы» указан производитель "БИОТЕСТ-РДП": «Для постановки реакции использовался набор производства компании BioChek». То есть, для постановки РДП и ИФА использовали диагностикумы BioChek?

5. Вывод №1 не вполне корректен. Автор указывает на «объединение с иммуноглобулинами класса G против белка VP2 вируса...», в то время как кур иммунизировали цельным вирусом, а не белком VP2.

6. В подразделах диссертации 2.2.3.2.1 и 2.2.3.2.2 рисунки №№ 3-8, (в автореферате рис. №№ 2,3) представленные в виде диаграмм, содержат данные только о средних титрах антител по группам, без указания конкретных значений по пробам сывороток и диапазона колебаний.

7. Подраздел 2.2.5. «Морфологические изменения...» желательно было бы дополнить данными о бурсальных индексах в опытных и контрольных группах.

8. К сожалению, отсутствуют сведения о сравнительных испытаниях разработанной вакцины с зарубежными аналогами.

9. В Приложении («Акт комиссионной апробации...») допущена техническая оплошность: в табл.1 данные по уровню антител у цыплят кросса «Росс-308» в контрольной и опытной группе следует поменять местами.

10. В качестве предложения и пожелания: дополнить дальнейшие исследования проведением контрольного заражения высоковирулентным штаммом вируса ИББ и изучением иммунодепрессии по оценке иммунного ответа птиц на вакцинацию против ньюкаслской болезни.

Указанные замечания и вопросы не отражаются на общей положительной оценке работы, они связаны с интересом к данной проблеме и носят дискуссионный характер.

Заключение

Диссертационная работа Тарлавина Николая Владимировича «Иммуногенные свойства иммунокомплексной вакцины против инфекционной бурсальной болезни», представляет собой законченную научно-квалификационную работу, которая по актуальности, новизне и практической значимости отвечает требованиям ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям (пункт 9 Положения о присуждении ученых степеней ВАК Министерства науки и высшего образования РФ), а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Официальный оппонент,
главный научный сотрудник
ФГБУ «Федеральный центр
охраны здоровья животных»
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)
доктор ветеринарных наук, доцент

Ирза Виктор Николаевич

Тел.: +7 910 774 01 99

Адрес: 600901 г. Владимир, мкр. Юрьевец, ФГБУ «ВНИИЗЖ»

Эл. почта: irza@arriah.ru; mail@arriah.ru

Подпись В.Н. Ирзы заверяю:

Ученый секретарь
ФГБУ «ВНИИЗЖ»
доктор ветеринарных наук, профессор



Русалеев
Владимир Сергеевич

25 марта 2022г.