



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@ficvim.ru; www.ficvim.ru

ОТЗЫВ

официального оппонента Луницина Андрея Владимировича 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.

Актуальность темы диссертационного исследования.

В настоящее время отечественное птицеводство переживает период бурного роста. Появляются новые кроссы птицы, увеличивается продуктивность имеющихся кроссов, разрабатываются и актуализируются меры ветеринарного обеспечения промышленного птицеводства (средства диагностики и профилактики инфекционных болезней, иммуномодуляторы, пробиотики, фитобиотики и сорбенты). Высокие уровни производства в птицеводстве достигаются посредством улучшения всех этапов технологического процесса. Однако, вслед за совершенством технологического процесса, возникают и новые угрозы для промышленного птицеводства, самой страшной из которых является занос на территорию хозяйства инфекционного возбудителя. Одним из опаснейших возбудителей инфекционных болезней является возбудитель инфекционной бурсальной болезни (болезни Гамборо).

Инфекционная бурсальная болезнь (ИББ), также известная как болезнь Гамборо, инфекционный бурсит и инфекционный птичий нефроз, является

высокоинфекционным заболеванием молодых кур и индеек, вызванным вирусом инфекционной болезни, характеризующимся иммуносупрессией и смертностью, как правило, в возрасте от 3 до 6 недель. В настоящее время болезнь присутствует в поголовье птиц на всех континентах.

Экономический ущерб от ИББ складывается из прямых потерь от массовой гибели, снижения продуктивности птицы, а также косвенных потерь, связанных с приобретением вакцинных препаратов и проведением противоэпизоотических мероприятий.

Специального лечения болезни Гамборо нет. Основным методом профилактики является вакцинация на основе применения живых или инактивированных вакцин. Однако основная проблема при составлении схемы профилактики ИББ заключается в том, что материнские антитела интерферируют с вакцинным вирусом. При оптимизации сроков эффективной вакцинации используют формулу Deventer для оценки периода распада материнских антител.

Для эффективного контроля заболевания птицы с учетом высокого и разнородного уровня материнских антител созданы модели иммунокомплексных вакцин, содержащих живой аттенуированный штамм вируса болезни Гамборо в комплексе с вируснейтрализующими иммуноглобулинами, полученными из гипериммунной сыворотки крови СПФ-цыплят.

Таким образом, актуальность диссертационной работы Тарлавина Николая Владимировича, посвященная изучению иммуногенных свойств иммунокомплексной вакцины, впервые созданной на территории Российской Федерации, не вызывает сомнений.

Степень обоснованности научных положений, выводов, рекомендаций, сформированных в диссертации.

Диссертационная работа выполнена соискателем лично, на кафедре эпизоотологии им. В.П. Урбана ФГБОУ ВО СПбГУВМ Министерства сельского хозяйства РФ период с 2018 по 2021 гг. 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».

Научные положения, сформулированные в диссертационной работе, а также выводы и предложения производству, вытекающие из результатов исследований, достаточно обоснованы. Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, представленных в диссертации, подтверждается результатами собственных исследований автора.

Достоверность и новизна исследований.

Научные положения и выводы обоснованы и базируются на аналитических и экспериментальных данных. Настоящая научная работа подкреплена фактическими данными, представленными в приведенных таблицах, рисунках и приложениях. Статистическая обработка полученных экспериментальных данных, наличие акта производственных испытаний результатов исследований подтверждают обоснованность и достоверность основных положений, выводов и предложений производству, представленных в диссертации. Научная новизна заключается в том, что впервые на территории Российской Федерации была разработана иммунокомплексная вакцина нового поколения на основе отечественного штамма, пригодная к применению в первые сутки жизни цыплят без учета уровня материнских антител, препятствующих своевременному развитию иммунитета у птиц.

Соискателем впервые рассмотрены закономерности экспрессии основных иммунокомпетентных генов в тканях фабрициевой сумки под действием иммунокомплексной вакцины. Также впервые рассмотрено влияние вакцинации живой вакциной на разнообразие патогенных микроорганизмов, встречающихся в кишечнике птиц.

Значимость для науки и практики полученных результатов.

Впервые на территории Российской Федерации произведена вакцина нового поколения, существенно облегчающая работу ветеринарного врача на

птицефабрике. Действие данной вакцины оценено с помощью современных молекулярно-генетических, метагеномных и биоинформатических методов, что позволяет расширить средства специфической профилактики данной болезни.

Результаты исследований были использованы, в том числе 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).

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.

Материалы, изложенные в диссертации, используются в учебном процессе, на курсах повышения квалификации ветеринарных специалистов.

Оценка содержания диссертации, её завершенность.

Титульный лист оформлен по общепринятому образцу. Диссертационная работа изложена в традиционной форме и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, списка использованной литературы и приложений. Диссертация изложена на 142 страницах машинописного текста, иллюстрирована 13 таблицами и 31 рисунком. Список литературы содержит 265 источников, в том числе 209 источников зарубежных авторов. По основным результатам 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. Кроме вышеизложенного материалы исследований были включены в монографию, и стали основой для одних методических рекомендаций. Получен один патент.

В главе «Введение» соискатель обосновал актуальность темы исследования, сформулировал цель и задачи исследований и из всего вышеперечисленного логически вывел положения, выносимые на защиту. В данном разделе также отражены степень достоверности и апробация результатов, публикации по теме диссертации и структура диссертации.

В главе «Обзор литературы» диссертантом представлены детальные сведения о строении и физиология иммунной системы птиц, об истории развития и распространения инфекционной бурсальной болезни и используемых сегодня в птицеводстве средствах специфической профилактики. В заключение обзора литературы диссертантом дана характеристика экспрессия генов иммунитета сельскохозяйственной птицы. Обзор изложен грамотным литературным языком, освещено большое количество современных публикаций по данной проблеме.

Глава «Собственные исследования» включает «Материалы и методы исследований» и «Результаты собственных исследований». В главе «Материалы и методы исследований» отражено создание иммунокомплексной вакцины и комплекс методик, применяющихся для ее изучения. В разделе «Результаты собственных исследований» изложены проведение опытов и результаты исследований в соответствии с целью работы и поставленными задачами.

Автор изложил этап получения гипериммунной сыворотки, содержащей специфические антитела к вирусу инфекционной бурсальной болезни, которые являются главным компонентом препарата, защищающим вакцинный вирус от материнских антител цыпленка. В данном разделе изложена технология создания вакцины из гипериммунной сыворотки и вируса путем их смешивания.

В подразделе «Подготовка проекта нормативно-технической документации для изготовления, контроля и применения иммунокомплексной вакцины против инфекционной бурсальной болезни из штамма «ВНИВИП» автор изложил этапы контроля готовой серии вакцины (внешний вид,

стерильность, безвредность), а также оценку антигенной активности вакцины на цыплятах кроссов Ломан Уайт и Росс-308.

Далее автор описал эффект, который иммунокомплексная вакцина оказывает на привесы птиц, осветил состояние фабрициевых сумок вакцинированных цыплят после введения указанного препарата и изложил многообразие условно-патогенных микроорганизмов в кишечнике цыплят и изменение содержания различных видов микроорганизмов под влиянием вакцины.

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

Автор завершил собственные исследования расчетом себестоимости иммунокомплексной вакцины и сделал предположение об экономической эффективности разработанной вакцины в сравнении с зарубежным аналогом.

В главе «Обсуждение результатов исследований» автор подвел итоги своих исследований и сравнил их с данными, полученными зарубежными учеными.

В Заключение автор представил выводы, вытекающие из достигнутых в ходе работы целей и отражающие результаты исследований.

На основании проведенных исследований Тарлавиным Н.В. сделано несколько практических предложений и путей использования его запатентованного изобретения - применение з вакцины в сельскохозяйственном производстве и применение методик, использованных при ее изучении – для подготовки ветеринарных специалистов в ходе учебного процесса. Автор завершил диссертацию благодарностью научному руководителю и коллегам, и списком используемых сокращений. В Приложении представлена копия патента и акт комиссионных испытаний вакцины.

В целом диссертационная работа Николая Владимировича Тарлавина представляет собой завершенную логически выстроенную научную работу, в

которой выводы и результаты полностью соответствуют поставленным целям и задачам.

Замечания, вопросы и предложения по диссертации. Диссертация легко читается и воспринимается, хотя имеются замечания. Основные недочеты работы сводятся к отдельным неудачным выражениям, опечаткам.

В материалах и методах нет методики оценки активности вирусосодержащего сырья для составления вакцины.

Так, в разделах 2.1.1. и 2.2.3.1. и на стр. 96 при оценке безвредности указан ГОСТ 28085. Это ГОСТ по оценке стерильности. Правильно ГОСТ 31926-2013. И почему для оценки взята птица 40-дневного возраста и внутримышечный способ введения? В списке сокращений нет МА, ЭИД, VP1, VP3, VP4, VP5. Есть в сокращении, но нет по тексту БИ, УЕ, ХАО, Н-цепи, L-цепи.

К приложению целесообразно было приложить инструкцию по применению иммунокомплексной вакцины», а также выписку из СТО по оценке безвредности и антигенной активности.

В процессе рецензирования диссертации к диссертанту возникли вопросы, на которые хотелось бы получить пояснения:

1. В разделе «Степень разработанности темы» указано что «вакцина, иммуногенные свойства которой исследовалась в данной работе, пригодна к введению 1-2-суточному цыпленку как внутримышечно, так и подкожно». Опечатка, если вакцину оценивали только при подкожном методе?

2. Какая доза вируса при интраназально и интраокулярной вакцинации СПФ-птицы с целью получения гипериммунной сыворотки?

3. Титр 1:256 в РДП оценивает преципитирующую активность гипериммунной сыворотки. Какая вируснейтрализующая активность полученной сыворотки?

4. При получении вирусосодержащего материала штамм «ВНИВИП» вируса ИББ указано разведение материала 1:100. Какая доза вируса на эмбрион,

если в разделе «Материалы и методы» нет характеристики матровой расплодки? В патенте указана активность 6,5-7,0 lg ЭИД₅₀/см³.

5. В диссертации указана, что одна доза вакцины содержит не менее 10^{3,0} ЭИД₅₀/см³? Но объем введения составляет 0,3 мл. А на стр. 95 в «Обсуждение результатов исследований», указана доза 0,2 мл с активностью 5,0 lg ЭИД₅₀/см³. Так, какая доза связанного вируса в составе вакцины? Сколько осталось не связанного вируса? Или это допускается, также как и не связанные с вирусом антитела. И почему объем введения 0,2-0,3 мл??, тогда как конкуренты - фирма Nirra рекомендует 0,1 или 0,2 мл подкожно, у Seva – 0,1 мл подкожно.

6. Почему не исследовали уровень антител в ИФА на 21 и 28 сутки после иммунизации, с целью определения срока снижения материнских антител и последующего подъема уровня антител в ответ на «высвобождение вируса из состава вакцины»? Цитата из разделе 2.2.3.2.1. «Основным эффектом вакцинации иммунокомплексной вакциной против инфекционной бурсальной болезни из штамма “ВНИВИП” является формирование защитного титра антител у птиц в момент снижения у птицы титра материнских антител до достаточных значений,». Каких?

Тем, не менее перечисленные недостатки не снижают научные и практические ценности диссертационной работы и не влияют на общую положительную оценку полученных результатов диссертации.

Заключение

Диссертационная работа Тарлавина Николая Владимировича «Иммуногенные свойства иммунокомплексной вакцины против инфекционной бурсальной болезни», представляет собой завершённую, самостоятельную научно-квалификационную работу, которая по своей актуальности, научной 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.

Заместитель директора по
производству и качеству
ФГБНУ ФИЦВиМ,
кандидат ветеринарных наук



Андрей
Владимирович
Луницин

Подпись Луницина А.В. ЗАВЕРЯЮ:
И.о. ученого секретаря
ФГБНУ ФИЦВиМ,
кандидат биологических наук



А.Г. Гузалова

24.03.2022 г.