

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Леонова Ильи Константиновича *«Биологические свойства вакцинных штаммов вируса гепатита утят типа I»*, представленную в диссертационный совет Д 220.059.03 при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия 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.

Вирусный гепатит утят типа I – контагиозная болезнь утят до 6-недельного возраста, характеризующаяся некродистрофическими и воспалительными изменениями печени, геморрагическим диатезом, летальностью, достигающей 95%, и распространяющаяся во многих странах, включая РФ. Широкое распространение болезни обусловлено высокой устойчивостью вируса, длительным персистированием в организме переболевшей птицы, его генетической вариабельностью и стационарной неблагополучностью хозяйств. Важнейшим условием для снижения напряженности эпизоотической ситуации по вирусному гепатиту утят является создание и совершенствование вакцин для профилактики болезни. Стабильность популяции вакцинного штамма обеспечивает генетическая однородность вириона, поэтому приоритетными методами производственного контроля считаются молекулярно-биологические. При этом изучение иммунобиологических свойств аттенуированных штаммов вируса гепатита утят с целью разработки критериев выбора вакцинных производственных штаммов и методов контроля при производстве вирусвакцин является актуальной задачей.

Научная новизна исследований

В данной работе автор впервые представил результаты научных исследований по всестороннему изучению иммунобиологических характеристик штаммов ВГНКИ-К и ЗМ-УНИИП вируса гепатита утят, включая патогенность для куриных и утиных эмбрионов, утят, особенности репликации в клеточных культурах при различных температурах культивирования, интерфероногенные свойства, устойчивость к воздействию физико-химических факторов и антигенную активность. Обоснован по результатам экспериментов подбор систем культивирования вируса. Экспериментально показано различие биологических свойств вакцинных штаммов вируса гепатита утят типа I и доказана необходимость использования их для контроля при производстве вакцины.

Использованные автором материалы, современные оборудование и методы исследования обеспечили выполнение поставленных диссертантом задач и научное обоснование 7 выводов. Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций подтверждается глубоким анализом большого объема экспериментальных данных.

Впервые приведены данные об интерфероногенной активности штаммов вируса с количественной оценкой показателя, способности к репродукции при различных температурах, установлено их различие в антигенной специфичности, что составляет новизну представленной к защите диссертации.

Практическая значимость

Исследования по теме диссертации выполнены автором самостоятельно. Теоретическая и практическая значимость работы заключается в том, что использование результатов исследований позволит при наличии соответствующих показаний профилактировать вирусный гепатит утят в утководческих предприятиях. Производству предложены усовершенствованные методы контроля биологических свойств вакцинных

штаммов с учетом их антигенной специфичности. По результатам исследований автором разработаны методические положения «Диагностика вирусного гепатита утят типа I», утвержденные ФНЦ «ВНИТИП» РАН от 25.01.2016 г. (27 стр.).

Материалы, изложенные в диссертации, могут быть использованы в учебном процессе биологических и ветеринарных институтов, а также на курсах повышения квалификации ветеринарных специалистов.

Оценка содержания работы

Диссертация изложена на 120 страницах компьютерного текста и состоит из следующих разделов: введение, основная часть, включающая обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение, выводы, практические предложения, список литературы и приложение. Работа иллюстрирована 16 таблицами и 7 рисунками. Список литературы включает 230 источников, из которых 127 зарубежных авторов.

В разделе «Введение» автором отражены актуальность темы исследования, степень разработанности темы, обоснована цель исследований и определены задачи, требующие своего решения для достижения поставленной цели. Представлены сведения об апробации диссертации: результаты исследований доложены и обсуждены на заседаниях Методического совета отдела вирусологии и Ученого совета ФГБНУ «ВНИВИП» (2013-2015), на Международном агропромышленном конгрессе (СПб, 2014), XVIII Международной конференции ВНАП (Сергиев Посад, 2015), II Международном Ветеринарном Конгрессе VETistanbul Group-2015 (SPb, 2015), Международной научно-практической конференции (Смоленск, 2016).

В разделе «Обзор литературы» изложены данные, характеризующие современное состояние проблемы и возможные пути ее решения.

Представлены известные биологические свойства вируса гепатита утят типа I, его эпизоотологические особенности, патогенез, клиническая

картина с патологическими изменениями, диагностика болезни, иммунитет и профилактика.

В разделе «Материалы и методы исследования» указаны способы исследования, подтверждающие высокий методический уровень работы. Приведены названия штаммов - ВГНКИ-К и ЗМ-УНИИП, использованных первично-трипсинизированных культур клеток, эмбрионов, питательных, микробиологических сред и др. Детально описаны современные серологические, вирусологические и биологические методики, использованные автором в процессе выполнения диссертации (определение терморезистентности, получение интерферона с определением его титра, определение Rct^{TC} признака, обработка вируса формальдегидом и др.). Все полученные результаты были проанализированы, стандартизированы и статистически обработаны.

Собственные исследования выполнены на большом объеме экспериментального материала с использованием современных методов вирусологических, иммунологических и генетических методов исследований. Последовательно и подробно описаны все этапы проведенных исследований и в итоге, по совокупности изученных показателей, получены полные биологические характеристики каждого штамма вируса гепатита утят типа I.

Изучены патогенные свойства вакцинных штаммов вируса гепатита утят типа I (P -признак) и их патогенность для развивающихся куриных и утиных эмбрионах (P_{che} - и P_{de} – признаки и для утят (P_d - признак). Показаны биологические свойства вируса гепатита утят типа I, связанные с особенностями внутриклеточной репликации (цитопатогенная активность вакцинных штаммов вируса гепатита утят, способность вакцинных штаммов ВГНКИ-К и ЗМ-УНИИП вируса гепатита утят типа I к репликации в культуре клеток при различной температуре (Rct^{TC} – признак), продемонстрирована способность вакцинных штаммов вируса к индукции интерферона и их чувствительность к действию экзогенного интерферона. Были выявлены различия в цитопатогенной активности двух штаммов при

культивировании в условиях пониженной температуры. Полученные результаты показали, что вакциновые штаммы ВГНКИ-К и ЗМ-УНИИП вируса гепатита утят оказались чувствительными к ингибирующему действию интерферона ($Sint^+$ -признак).

Диссертантом проведены опыты по изучению вакциновых штаммов вируса гепатита утят типа I, обусловленные свойствами поверхностной структуры вируса, а конкретно термостабильности (t_{56} -признак), антигенностии и устойчивости вируса гепатита утят к действию формальдегида. Проведенные опыты свидетельствовали о том, что вакциновые штаммы вируса были термостабильными (t_{56}^+), а повышение скорости инактивации зависело от увеличения концентрации препарата в вируссодержащей жидкости и времени её воздействия.

В обсуждении автором показаны собственные данные, сопоставимые с результатами аналогичных исследований, проведенных ранее и дан их обстоятельный анализ. Изложена целесообразность использования полученных данных для контроля генетических маркеров штаммов при производстве вакциновых препаратов.

Материал диссертации изложен последовательно и логично; все подлежащие изучению задачи нашли полное отражение в соответствующих разделах собственных исследований. Результаты статистически обработаны. Заключения по разделам диссертации, выводы и практические предложения научно обоснованы и соответствуют полученным результатам.

По материалам диссертационной работы автором опубликовано 7 научных статей, в том числе 3 в рецензируемых изданиях по перечню ВАК Минобрнауки РФ.

Автореферат написан по форме, отражает содержание работы и даёт о ней полное и наглядное представление.

Наряду с положительными сторонами рецензируемой диссертации и автореферата имеются следующие замечания. Непонятно, почему автор не

пронумеровал представленные выводы. А в автореферате выводы заменены заключениями.

Перечисленные недостатки не снижают ценности диссертационной работы, достоинств методического подхода, достоверности и новизны полученных автором данных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании анализа материалов, изложенных в диссертации, считаю, что она является законченной научно-исследовательской работой, по актуальности, объему проведенных исследований, методическому уровню, научной ценности и практической значимости полностью отвечает требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г., предъявляемым ВАК Российской Федерации к кандидатским диссертациям, а ее автор, Леонов Илья Константинович, заслуживает присуждения степени кандидата степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 «Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и имmunологией».

Зав. лаборатории качества
и стандартизации вирусных лекарственных
средств ФГБУ «Всероссийский
Государственный Центр качества
и стандартизации лекарственных
средств для животных и кормов»,
кандидат ветеринарных наук

Ю.В. Зуев



Подпись Юрия Владиславовича Зуева заверяю:

Учёный секретарь ФГБУ «ВНИКИ», дбн, проф.

Н.К. Букова

123022, г. Москва, Звенигородское шоссе, 5
ФГБУ «ВНИКИ», т. 8(495)941-01-51, эл. почта: zuev@mail.ru