



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

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора ветеринарных наук, доцента Волкова Михаила Сергеевича на диссертационную работу **Панкратова Сергея Вячеславовича «Разработка и усовершенствование средств специфической профилактики бактериальных болезней птиц, протекающих с преимущественным поражением респираторного тракта»** на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук по специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных, представленной в Диссертационный совет 35.2.034.01 при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

Актуальность избранной темы заключается в разработке, создании новых и усовершенствовании выпускаемых иммунобиологических препаратов для профилактики инфекционных болезней птиц бактериальной этиологии, которые протекают преимущественно с респираторным синдромом. Проблема антибиотикорезистентности при лечении инфекций птиц бактериальной этиологии является ключевым фактором нерациональной антибиотикотерапии. Выгодной альтернативой для снижения антибиотической нагрузки на птицу и профилактики антибиотикорезистентности является вакцинация. Однако инактивированные вакцины на основе бактериальных антигенов имеют определенный недостаток

– остаточную реактогенность, что может повлечь воспалительные реакции на месте введения, системные реакции и выбраковку тушек птиц при убое. В условиях интенсификации птицеводства и борьбы с антибиотикорезистентностью, разработка безопасных и ареактогенных инактивированных вакцин против бактериальных инфекций птиц, особенно в условиях импортозамещения, представляется своевременной и актуальной задачей.

Целью исследований диссертанта стала разработка и усовершенствование средств специфической профилактики бактериальных болезней птиц, протекающих с преимущественным поражением органов респираторного тракта.

Научная новизна диссертационной работы. Диссертантом разработаны два варианта инактивированной вакцины против гемофилеза птиц и изучены различные методы их применения, предложены методы контроля качества серий биопрепаратов. Впервые разработан и утверждён технологический регламент для промышленного производства вакцины против гемофилеза птиц инактивированной эмульсионной «АВИВАК-КОРИЗА», изготавливаемой с использованием в качестве адъюванта Montanide ISA 71 VG. Научная новизна разработанной вакцины против гемофилеза птиц инактивированной в форме суспензии «ГЕМОВАК» подтверждена полученным патентом РФ RU 2 752 315(13) C1 от 26.07.2021. Установлена коррелирующая зависимость между уровнем титра антител в сыворотках крови к *A. paragallinarum*, определяемого с помощью капельной реакции агглютинации (РА) на стекле, и восприимчивостью кур к гемофилезу птиц при их контрольном заражении культурами *A. paragallinarum* серотипов А, В и С. Установлен минимальный протективный уровень антител к *A. paragallinarum* ко всем трем серотипам. Показана перспективность применения 2% раствора Carbomer 940 Powder в качестве безопасного и эффективного адъюванта для изготовления инактивированной вакцины против пастереллеза птиц в форме суспензии. Модифицирована технология

изготовления инаktivированной эмульсионной вакцины против респираторного микоплазмоза птиц «АВИВАКРМ» путем замены ранее используемого масляного адьюванта на Montanide ISA 71 VG, который обеспечивает более выраженную антигенную активность производимого препарата.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследований. Результаты проведенных научных исследований использованы при разработке:

- промышленного регламента на производство вакцины против гемофилеза птиц инаktivированной эмульсионной «АВИВАК-КОРИЗА» № ПР-46262188-017- 2019, от 26.02.2019;

- инструкции по ветеринарному применению вакцины против гемофилеза птиц инаktivированной эмульсионной «АВИВАК-КОРИЗА», согласованная зам. Руководителя Россельхознадзора 13.08.2018;

- СТО 4262188-0008-2017 Вакцина против гемофилеза птиц инаktivированная эмульсионная «АВИВАК-КОРИЗА» (Технические условия), согласованное зам. Руководителя Россельхознадзора 13.08.2018;

- вакцины против гемофилеза птиц инаktivированной эмульсионной «АВИВАК-КОРИЗА» (регистрационное удостоверение лекарственного препарата для ветеринарного применения 29-1-9.18-4226№ПВР-1-9.18/03447, дата государственной регистрации 13.08.2018);

- промышленного регламента на производство вакцины против гемофилеза птиц инаktivированной в форме суспензии «ГЕМОВАК»;

- инструкции по ветеринарному применению вакцины против гемофилеза птиц инаktivированной в форме суспензии "ГЕМОВАК";

- СТО на вакцину против гемофилеза птиц инаktivированную в форме суспензии "ГЕМОВАК".

Представленные в диссертационной работе результаты исследований были использованы при написании учебно-методических пособий и монографии: «Элементы и этапы биотехнологического производства: Учебно-

методическое пособие» (СПб, 2020); «Производство и контроль качества вакцин для ветеринарного применения согласно правил GMP: Учебно-методическое пособие» (СПб, 2020); «Диагностика, профилактика и лечение бактериальных болезней птиц: Монография (Москва, 2023). Материалы диссертационной работы интегрированы в образовательный процесс на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Выводы, рекомендации и научные положения в материалах диссертационной работы подтверждены результатами собственных исследований и обоснованы. Выводы, вытекающие из результатов исследований, являются проанализированными и аргументированными, соответствуют поставленным задачам и результатам проведенной научно-исследовательской работы. Результаты исследований апробированы на многочисленных научно-практических конференциях (Лосино-Петровский, 2022, 2024; Санкт-Петербург, 2023, 2024; г. Якутск, Республика Саха, 2023; Луганск, 2024; Кинель, 2024; Краснодар, 2024; Казань, 2024) и интегрированы в научно-образовательный процесс.

Достоверность научных положений, выводов и рекомендаций подтверждена статистической обработкой данных, эксперименты проведены на достаточном количестве животных, реализованы доклинические и клинические испытания некоторых разработанных биопрепаратов в соответствии с Федеральным законом «Об обращении лекарственных средств» от 12 апреля 2010 года №61-ФЗ.

Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы и опубликование результатов. Диссертационная работа выполнена автором самостоятельно. Диссертант лично учувствовал в разработке и составлении программ, проведении экспериментальных, доклинических и клинических исследований. Часть научно-исследовательских работ проведена совместно с другими авторами. По теме диссертации опубликована 31 научная публикация, 10 из которых - в журналах, входящих в перечень рецензируемых

научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК) при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации и 1 статья - в журнале, входящем в международные реферативные базы данных и системы цитирования (Web of Science и Scopus), имеется монография. Получен патент РФ RU 2 752 315(13) С1 от 26.07.2021. Вакцина против гемофилеза птиц инактивированная в форме суспензии "ГЕМОВАК".

Оценка содержания работы. Диссертация изложена на 300 страницах компьютерного текста, состоит из традиционных разделов, иллюстрирована 58 таблицами и 11 рисунками. Список литературы содержит 344 источника, в том числе 137 работ иностранных авторов.

В разделе «Обзор литературы» автор детально описывает перспективы отрасли промышленного птицеводства; этиологию инфекционных болезней, связанных с поражением респираторного тракта; проблемные вопросы ассоциированных инфекций; особенности течения бактериальных болезней в условиях промышленного птицеводства. Диссертант описывает эпизоотологию, патоморфологическую, клиническую картину таких заболеваний, как гемофилез, пастереллез, орнитобактериоз, респираторный микоплазмоз, а так же основные меры борьбы и профилактики данных инфекций. Особое внимание в разделе уделено контролю бактериальных инфекций, который включает эпизоотологический мониторинг технологии выращивания, диагностические исследования, микробиологический контроль при выводе и выращивании цыплят, рациональную антибиотикотерапию, пробиотикотерапию, общие и специальные санитарные мероприятия, специфическую профилактику. В обзоре литературе автор раскрывает тему конструирования инактивированных вакцин с бактериальными антигенами.

В разделе «Материалы и методы» диссертант подробно описывает используемые при проведении НИР штаммы микроорганизмов, питательные среды, тестируемые адъюванты, реактивы и растворы, опытных птиц, оборудование. Раскрыта методология проведенных исследований – от

культивирования микроорганизмов до получения биопрепарата и оценки его иммунобиологических свойств.

Результаты собственных исследований представлены в одноименном разделе. Автором подобран режим инаktivации *A. paragallinarum* серотипов А, В и С. Предложен метод определения протективного уровня антител, защищающих цыплят от заражения *A. paragallinarum*, заключающийся в постановке полуколичественной реакции капельной агглютинации. Установлено, что титр антител к возбудителю гемофилиза серотипов А, В и С в РКА 1:4 защищает цыплят от патогенного действия *A. paragallinarum*. Установлен минимально допустимый показатель антигенной активности вакцины в значении титра антител к *A. paragallinarum* ко всем серотипам не менее 1:8 ($3,0 \log_2$). Изучено влияние разных адъювантов на антигенные и реактогенные свойства вакцины. Проведены доклинические и клинические испытания вакцины против гемофилиза птиц инаktivированной эмульсионной «АВИВАК-КОРИЗА», изготовленной на основе адъюванта Montanide ISA 71 VG. Исследованиями установлено, что разработанная вакцина «АВИВАК-КОРИЗА» является антигенно активной, обеспечивает напряжённый иммунный ответ ко всем трём серотипам *A. paragallinarum* продолжительностью не менее 7 месяцев при однократном применении и не менее 12 месяцев при двукратном применении. Вакцина зарегистрирована в установленном порядке, получено регистрационное удостоверение № 29-1-9.18-4226№ПВР-1-9.18/03447, от 13.08.2018 г.

Проведены доклинические испытания вакцины против гемофилиза птиц инаktivированной в форме суспензии «ГЕМОВАК». Установлено, что разработанная вакцина является антигенно активной, обеспечивая у двукратно привитых птиц иммунитет продолжительностью до 6 месяцев, напряженный ко всем серотипам *A. paragallinarum*. На вакцину получен патент РФ RU 2 752 315(13) С1 от 26.07.2021. Вакцина против гемофилиза птиц инаktivированная в форме суспензии "ГЕМОВАК".

Усовершенствована инаktivированная вакцина против пастереллеза птиц путем изменения ее компонентного состава (изменен адъювант). Необходимость усовершенствования была связана с невозможностью обеспечения напряженного и продолжительного иммунитета при использовании гидроксид алюминиевого адъюванта в составе вакцины без ревакцинации. Автором установлено, что вакцина, изготовленная с использованием 2% раствора Carbomer 940 Powder с содержанием $3,0 \times 10^9$ микробных клеток *P. multocida* в $1,0 \text{ см}^3$ при внутримышечном способе применения между лучевой и локтевой костями обеспечивает ареактогенность при напряженной иммуногенности.

Усовершенствована инаktivированная эмульсионная вакцина против респираторного микоплазмоза птиц путем изменения компонентного состава. В качестве адъюванта предложено использовать Montanide ISA 71 VG, т.к. вакцина на основе данного адъюванта обладает более выраженными антигенными свойствами по сравнению с образцами, изготовленными на других адъювантах.

Соответствие содержания автореферата материалам диссертации. Автореферат диссертационной работы Панкратова С.В. «Разработка и усовершенствование средств специфической профилактики бактериальных болезней птиц, протекающих с преимущественным поражением респираторного тракта» объективно отражает основное содержание диссертации.

Оценивая в целом диссертационную работу положительно, хотелось бы получить от диссертанта ответы на следующие вопросы:

1. В п. 2.1.2.1.2 указано, что для инаktivации *A. paragallinarum* испытывали формалин в различных концентрациях (в пересчете на формальдегид: 0,025; 0,05; 0,075 и 0,1%), а для инаktivации *P. multocida* и *M. gallisepticum* использовали формальдегид только в концентрации 0,1%. С чем это связано?

2. Почему в качестве инактиванта испытывали исключительно формалин, когда в обзоре литературы показаны существенные преимущества алкилирующих инактивантов?

3. При изучении реактогенности вакцины «АВИВАК-КОРИЗА» оценка местных тканевых реакций проводилась по показателю «наличие местной реакции в виде припухания тканей в области введения», не было ли установлено наличие других реакций воспалительного характера в месте введения препарата - гиперемии, экссудации, кровоизлияний, инкапсулирования, образования олеогранулем и т.п.?

4. В качестве метода оценки напряженности иммунитета после вакцинации препаратом «АВИВАК-КОРИЗА» предложена реакция капельной агглютинации на стекле. Были ли установлены перекрестные реакции между антигенами серотипов А, В и С *A. paragallinarum*? Если да, то каким образом это влияло на специфичность реакции агглютинации?

5. В таблицах №№ 16, 17, 18, 19, 47, 53 желательно было бы указать референсные (допустимые) значения физических свойств, предъявляемым к типу вакцин (вязкость, стабильность эмульсии) – это пожелание для учета в дальнейшем.

Изложенные вопросы носят дискуссионный и уточняющий характер, не умаляют научно-практической ценности представленной работы и не влияют на ее положительную оценку.

Заключение. Диссертационная работа Панкратова Сергея Вячеславовича «Разработка и усовершенствование средств специфической профилактики бактериальных болезней птиц, протекающих с преимущественным поражением респираторного тракта» является законченной научно-квалификационной работой с научным и прикладным значением в которой успешно решены поставленные задачи и достигнута актуальная для ветеринарной медицины цель. Тема диссертационной работы соответствует профилю диссертационного совета и паспорту специальности (пп. 3, 4, 17, 18, 19, 20). По актуальности, научной новизне и практической значимости,

объему проведенных исследований, обоснованности положений и выводов диссертационная работа соответствует критериям пп. 9-11, 13 и 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утв. Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, а ее автор, Панкратов Сергей Вячеславович, заслуживает присуждения ученой степени доктора ветеринарных наук по специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных.

Официальный оппонент:

Руководитель Лабораторно-
диагностического центра ФГБУ
«ВНИИЗЖ», и.о. заведующего
лабораторией эпизоотологии и
мониторинга, доктор ветеринарных
наук, доцент



Михаил Сергеевич Волков

600901, Россия, Владимирская область, город Владимир, микрорайон Юрьевец, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), т./ф.: (4922) 26-38-77, e-mail: arriah@fsvps.gov.ru

Подпись Волкова Михаила
Сергеевича заверяю,
Ученый секретарь ФГБУ «ВНИИЗЖ»



Лариса Борисовна Прохвятилова

10.07.2015 г.

Отзыв представлен на 9 страницах.