

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Магдеевой Эльвиры Адиповны на тему: «Биологические свойства инактивированной липосомальной вакцины против инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3 крупного рогатого скота», представленную в диссертационный совет Д 220.034.01 при ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

Актуальность проблемы. В структуре заболеваемости сельскохозяйственных животных наибольшее экономическое значение имеют респираторные и желудочно-кишечные болезни молодняка, доминирующими возбудителями которых являются вирусы, относящиеся к различным таксономическим группам. При респираторных инфекциях ведущую роль играют вирусы инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3. В настоящее время для борьбы с респираторными вирусными заболеваниями разработаны различные вакцинные препараты: живые и инактивированные, моно- и ассоциированные. Но несмотря на широкое их применение эпизоотическая ситуация в Российской Федерации по респираторным заболеваниям молодняка крупного рогатого скота остается сложной. Ежегодно до 60-70% нарождающегося молодняка переболевает респираторными инфекциями, при этом до 20-25% из них погибает. Следовательно, изыскание наиболее иммуногенных вакцин, разработка способов повышения их эффективности являются одним из главных задач ветеринарной иммунологии.

В связи с вышеизложенным, диссертационная работа Магдеевой Э.А., посвященная разработке липосомальной вакцины против инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3 крупного рогатого скота, остается весьма

актуальной для ветеринарной науки и практики. Для достижения поставленной цели диссертантом были поставлены соответствующие задачи:

- Изыскать оптимальный способ получения липосомальных структур;
- Изучить биологические свойства выделенных липосомальных структур;
- Теоретически и экспериментально обосновать необходимость создания инактивированной липосомальной вакцины против парагриппа-3 крупного рогатого скота;
- Разработать технологию изготовления и контроля инактивированной липосомальной вакцины против инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3 крупного рогатого скота;
- Определить профилактическую эффективность инактивированной липосомальной вакцины в производственных условиях;
- Рассчитать экономическую эффективность применения инактивированной липосомальной вакцины против инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3 крупного рогатого скота.

Научная новизна работы. Впервые в Российской Федерации разработан способ изготовления инактивированной липосомальной вакцины против инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3 крупного рогатого скота. Изучены антигенные и иммуногенные свойства вакцины на лабораторных животных и крупном рогатом скоте. При этом научно обоснована и экспериментально подтверждена иммунизирующая доза, способ введения и схема применения липосомальной вакцины.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, результатов и выводов исследований. Степень обоснованности диссертационных исследований следует из результатов анализа литературных и экспериментальных данных, полученных в ходе исследований. Объем материалов и методов исследований достаточно для получения объективных и обоснованных результатов. Экспериментальный материал подвергнут статистической обработке.

Результаты исследований не вызывают сомнений как по достоверности полученных данных, так и по выводам, сделанных на их основе.

Представленные в работе научные положения обоснованы и подтверждены экспериментальными данными и производственными испытаниями. Результаты экспериментальных работ с достаточной степенью точности согласуются с теоретическими и литературными данными и положениями, принятыми в области данного направления исследований.

Заключения и выводы, приведенные в диссертационной работе, научно обоснованы, экспериментально подтверждены и базируются на теоретических закономерностях, апробированы в производственных условиях.

Материалы диссертации доложены, обсуждены и получили положительную оценку на Международных научно-практических конференциях:

- Актуальные вопросы зоотехнии и ветеринарной медицины: опыт, проблемы и пути их решения (Казань, 2015);
- Актуальные проблемы и перспективы развития ветеринарной медицины, зоотехнии и аквакультуры (Саратов, 2016);
- Современные проблемы ветеринарной и аграрной науки и образования (Казань, 2016),

Теоретическая и практическая значимость исследований. Результаты исследований представляют собой теоретическую и практическую ценность, так как они расширяют знания об иммуностимулирующих свойствах липосом. Разработаны новые методы и подходы к конструированию инактивированных вакцины. В процессе исследований разработана ассоциированная липосомальная вакцина против инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3 крупного рогатого скота, обладающая высокой антигенной и иммуногенной активностью. Широкое апробирование и внедрение ее в ветеринарную практику РФ безусловно

будет способствовать повышению эффективности ветеринарно-санитарных мероприятий в скотоводстве.

Материалы, представленные в диссертационной работе, могут быть использованы в научно-исследовательской и практической работе ветеринарных специалистов, при написании монографий, справочных пособий, в учебном процессе.

Методология и методы исследований адекватны поставленным целям, задачам и соответствуют современному уровню. В лабораторно-производственных опытах использованы как общепринятые, так и оригинальные методы исследований.

В работе применялись клинико-эпизоотологические, серологические, иммунологические, гематологические, биохимические методы исследований. Объем проведенных исследований достаточно большой, что позволило получить экспериментально обоснованные результаты, научные выводы и положения.

Анализ структуры и содержания диссертации.

Диссертация Магдеевой Э.А. состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, практических предложений, списка сокращений и условных обозначений, списка использованной литературы, списка иллюстрированного материала и приложений.

Диссертация изложена на 117 страницах, содержание иллюстрировано 10 таблицами и 12 рисунками. Список литературы включает 148 источников, в том числе 54 иностранных авторов.

Во введении (с. 5-9) автором лаконично изложен методологический аппарат диссертационного исследования с обоснованием выбора темы и краткой информацией о её современном состоянии. На основе сформулированной проблемы, отражены цель и задачи исследований; научная новизна; теоретическая и практическая значимость работы;

основные положения, выносимые на защиту; апробация результатов исследований; объем и структура диссертации.

В обзоре литературы, состоящем из 6 разделов (с. 10-34), автором анализируются наиболее значимые, современные литературные источники.

В первом разделе приведены сведения об инфекционном ринотрахеите крупного рогатого скота (иммунобиологические свойства возбудителя, диагностика, специфическая профилактика болезни), а во втором – аналогичные сведения о парагриппе-3. В третьем разделе дается характеристика липосом, липосомальных структур, в четвертом – об использовании их в биотехнологии. Указывается, что в последние годы разработаны и с успехом применяются в ветеринарной практике липосомальные вакцины против болезни Ньюкасла и реовирусной инфекции птиц; в медицинской практике – вакцины против столбняка, гепатита А, дифтерии, на завершающем этапе клинических испытаний липосомальные вакцины против гриппа и меланомы, препаратов против сахарного диабета и СПИДа. Подчеркивается, что необходимо усовершенствовать технологии производства препаратов на основе липосом, улучшить стабильность готовых лекарственных форм. В пятом разделе рассматриваются адъюванты, применяемые при изготовлении вакцин. В шестом разделе дается заключение по обзору литературы.

В разделе «**Материалы и методы исследований**» (с. 35-42) автор приводит объем и схему комплексных поэтапных исследований. Методы и методология исследований адекватны поставленным целям и задачам, они соответствуют современному уровню. В работе применялись клинико-эпизоотологические, серологические, иммунологические, гематологические, биохимические методы исследований, которые обеспечили получение научно-обоснованных и достоверных данных по изучаемым вопросам.

Результаты собственных исследований (с. 43-78) отражены в 7 разделах. В первом разделе приведены экономические показатели сельскохозяйственного предприятия, где проводились производственные

испытания липосомальной вакцины против инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3 крупного рогатого скота. Во втором и в третьем разделах приведены результаты клинико-эпизоотологического, серологического мониторинга респираторных заболеваний животных в хозяйстве. Установлена высокая серопозитивность коров и нетелей к антигенам – возбудителям респираторных инфекций: к вирусу парагриппа-3 – 62%, герпесвирусу типа 1 – 60%. Рост заболеваемости животных респираторными инфекциями отмечен в осенне-весенний период.

Четвертый раздел посвящен изысканию метода выделения липосомальных структур из куриного яичного желтка и разработке на их основе вакцины против инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3 крупного рогатого скота. Проводилась оценка пригодности различных способов получения стабильных липосом с максимальным внутренним объемом для последующего включения антигена. Формирование липосом производили с использованием в качестве дисперсионной среды водной фазы, оказывающей существенное влияние на образование липидного бислоя.

В четвертом разделе представлены размеры полученных липосомальных структур, методика его определения, а также результаты изучения безвредности инактивированной липосомальной вакцины на лабораторных животных.

В пятом разделе приведены данные исследований по разработке оптимального соотношения антигена с липосомальными структурами. Наиболее выраженной антигенной активностью обладала вакцина, изготовленная на основе антигена и липосом в соотношении 1:1.

В шестом разделе представлены результаты лабораторного испытания антигенной активности инактивированных липосомальных вакцин против инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3 крупного рогатого скота на лабораторных животных – белых мышах. В опытах контрольные животные были иммунизированы ГОА вакциной в тех же дозах и кратности. При этом

установлено, что вакцина, изготовленная на основе липосомальных структур, обладает более высокой антигенной активностью, чем ГОА вакцина.

Шестой раздел посвящен изучению клинико-биохимических показателей крови у кроликов, вакцинированных липосомальной вакциной против инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3 крупного рогатого скота. При этом в качестве контрольной вакцины использовали инактивированную эмульсионную вакцину против инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3 крупного рогатого скота, которую ввели животным контрольной группы. Исследованиями установили, что у кроликов, вакцинированных липосомальной вакциной, наблюдаются более высокие показатели гемоглобина, эритроцитов, а также α -, β - и γ -глобулинов в сыворотке крови, по сравнению с животными, вакцинированными эмульсионной вакциной. У кроликов, вакцинированных липосомальной вакциной, отмечено также достоверное увеличение количества Т- и В-лимфоцитов в течение первого месяца после введения вакцины с постепенным их снижением к четвертому месяцу. Проведено исследование титров специфических антител к антигенам ИРТ и ПГ-3. Установлено, что у животных, вакцинированных липосомальной вакциной, титры антител были выше, чем у животных, вакцинированных эмульсионной вакциной, на $0,88 \log_2$ к антигену вируса парагриппа-3 и $0,5 - 0,78 \log_2$ к антигену вируса ИРТ.

Следовательно, диссертантом установлено, что применение вакцины с липосомальными структурами в значительной степени повышает напряженность поствакцинального иммунитета.

В седьмом разделе отражены результаты испытания липосомальной вакцины против инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3 крупного рогатого скота в производственных условиях. Исследования проведены в хозяйстве, неблагополучном по ИРТ и ПГ-3, на двух группах телят 30-дневного возраста. Животные 1-ой группы были вакцинированы липосомальной вакциной против инфекционного ринотрахеита и парагриппа-

3, 2-ой группы – эмульсионной вакциной против инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3. Проводили изучение антигенных свойств вакцин путем определения в сыворотке крови вакцинированных животных титров специфических антител к антигена вирусом ПГ-3 и ИРТ. Исследованиями установлено, что после введения вакцин наблюдается прирост титров антител в сыворотке крови телят к вирусам ИРТ и ПГ-3 в обеих опытных группах. Средние титры антител к обоим вирусным антигенам на 60-й день исследований были на $0,5 - 1,1 \log_2$ выше при введении липосомальной вакцины по сравнению в эмульсионной вакциной.

Таким образом, диссертантом установлено, что инактивированная липосомальная вакцина против инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3 безопасна для животных, обладает высокой антигенной активностью и может быть рекомендована для специфической профилактики вирусных респираторных заболеваний крупного рогатого скота.

В восьмом разделе отражены показатели экономической эффективности применения инактивированной липосомальной вакцины в сравнительном аспекте с инактивированной эмульсионной вакциной против инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3 крупного рогатого скота. Установлен экономический эффект от применения липосомальной вакцины 2,56 руб., эмульсионной вакцины – 2,0 руб. на 1 руб. затрат.

Заключение представляет анализ полученных данных в сопоставлении с материалами, имеющимися в литературе, а также включает в себя 6 выводов, которые резюмируют выполненную Магдеевой Э.А. работу и вытекают из результатов собственных исследований.

Практические предложения. На основании результатов проведенных исследований автором разработаны временные правила применения инактивированной липосомальной вакцины против инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3 крупного рогатого скота в хозяйствах, неблагополучных по респираторным болезням, которые утверждены ГУВ КМ РТ.

Отдельные положения диссертационной работы используются при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий по дисциплинам: «Вирусология», «Ветеринарная микробиология и микология», «Иммунология» в трех высших учебных заведения РФ.

Список сокращений и условных обозначений представлен на страницах 85-86.

Список использованной литературы (с. 87-107) оформлен согласно требованиям и сопоставим с обзором литературы.

В приложении приведены:

- Временные правила по применению вакцины против парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота инактивированной липосомальной;

- Акт производственного испытания вакцины против парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота инактивированной липосомальной;

- карты обратной связи об использовании научных разработок Магдеевой Э.А. в учебном процессе и научно-исследовательской работе на кафедрах ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана», ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина», ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет».

В целом работа представляет заверченный научный труд, хорошо оформленный и убедительно иллюстрированный. Содержание автореферата соответствует основным положениям и выводам диссертации.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации. Отмечая в целом актуальность, новизну и научно-практическую значимость проведенных исследований, оценивая положительно диссертационную работу Магдеевой Э.А., хотелось бы получить разъяснения на ряд вопросов, возникших при ознакомлении с работой:

1. У каких возрастных групп крупного рогатого скота наиболее часто встречаются парагрипп-3 и инфекционный ринотрахеит?
2. Уточните, пожалуйста, как Вы определяли эффективность инактивированной липосомальной вакцины в производственных условиях?
3. Чем обусловлен выбор ИРТ и ПГ-3, как объекты для разработки инактивированной липосомальной вакцины?
4. Какие клинические формы проявления герпесвирусной инфекции крупного рогатого скота наблюдались в хозяйстве?
5. В чем преимущество липосомальной вакцины от эмульсионной?

Вышеуказанные замечания и вопросы не снижают положительной оценки оппонируемой диссертационной работы, поскольку они отчасти носят дискуссионный характер и вызваны интересом к этой работе.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней.

Оппонируемая диссертационная работа Магдеевой Э.А. на тему: «Биологические свойства инактивированной липосомальной вакцины против инфекционного ринотрахеита и парагриппа-3 крупного рогатого скота», представленная в диссертационный совет Д 220.034.01 при ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология, является научно-квалификационной работой. В ней содержатся решения важных теоретических и прикладных задач, имеющих существенное значение для ветеринарии. Широкая апробация липосомальной вакцины и внедрение ее в производство, безусловно, будет способствовать повышению эффективности ветеринарно-санитарных мероприятий в скотоводстве.

Актуальность темы, новизна, научно-практическая значимость результатов, научных положений и практических предложений позволяют констатировать, что диссертация Магдеевой Э.А. соответствует критериям, предъявляемым к работам на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук (п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней...», утвержденного постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г.), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 - ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

Официальный оппонент

Заведующий лабораторией бактериальных инфекций ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», старший научный сотрудник, доктор биологических наук, заслуженный ветеринарный врач РТ

Геннадий Николаевич
Спиридонов

420075, г. Казань, Научный городок-2. ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», Тел: (843)239-53-37 :E- mail: ds@vnivi.ru

