

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора ветеринарных наук Ирзы Виктора Николаевича на диссертацию Журавлевой Марии Спартаковны *«Количественная оценка показателей иммунного ответа у кур на различные типы антигенов»*, представленную к защите в диссертационный совет Д 006.033.01 при ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени Я.Р. Коваленко на соискание ученой степени кандидата ветеринарных по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

### **1. Актуальность темы диссертации.**

Изучение механизмов иммунного ответа у птиц на различные антигены, включая вакцины, продолжает оставаться предметом научного интереса исследователей во всем мире ввиду многообразия иммунологических реакций и сложного взаимодействия различных звеньев иммунитета. Поэтому экспериментальные исследования, проводимые на курах, помогают понять закономерности иммуногенеза, начиная с ранних этапов формирования иммунной системы.

В этой связи получение препаратов и оптимизация методов количественной оценки иммунных сдвигов в организме птиц после введения иммуногенов разного типа является актуальной задачей.

### **2. Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций.**

Исследования были направлены на комплексное изучение основных иммунологических показателей иммунного ответа у кур на введение различных типов антигенов: Т-зависимый и Т-независимый антигены и живую вирус-вакцину против ИБК.

В качестве основных показателей иммунного ответа определяли параметры лейкоцитарной формулы, уровень фагоцитарной активности лейкоцитов крови и перитонеальных макрофагов, количественное содержание IgY в сыворотке крови,

Вх. № 23  
26 января 2015 г.

относительное число Т-лимфоцитов, CD4- и CD8-клеток, В-лимфоцитов в органах иммунной системы и крови. Для выявления индукции гуморального иммунного ответа под воздействием антигенов был подготовлен по собственной методике препарат иммунохимически чистого IgY сыворотки крови кур

Автором была выявлена различная динамика количества мононуклеарных клеток и содержания IgY в сыворотке крови кур в процессе Т-зависимого и Т-независимого иммунного ответа..

Иммунологические показатели при введении живой вирус-вакцины коррелировали с параметрами иммунного ответа на Т-зависимый антиген. Повышалось число иммунокомпетентных клеток (моноцитов и псевдоэозинофилов), уровень фагоцитарной активности лейкоцитов крови, содержание IgY в сыворотке крови, увеличивалось общее число тимоцитов с преобладанием CD8-клеток в тимусе. Установлена корреляция между количественным содержанием В-лимфоцитов и уровнем иммуноглобулина Y в крови кур после введения Т-зависимого антигена и живой вакцины. Развитие системного иммунного ответа отмечено как при внутрибрюшинном (Т-зависимый антиген), так и околярном способах введения (вакцина).

В ходе работы с помощью нагрузочных тестов были изучены параметры функциональной активности иммунокомпетентных клеток и иммуноглобулина Y под влиянием метаболитов микроорганизмов.

Было определено, что метаболиты патогенных грибов рода *Candida* наиболее супрессивно влияют на преципитирующие свойства IgY, фагоцитарную активность лейкоцитов крови и рецепторную способность Т-спленоцитов кур по сравнению с метаболитами дерматофитных грибов *Trichophyton* и *Microsporum*, а также метаболитов бактерий рода *Salmonella*.

Установлено, что среднее значение индекса сдвига после введения живой вакцины выше, чем после введения Т-зависимого и Т-независимого антигенов, т.е. сыворотка крови вакцинированных кур содержит больше компонентов, блокирующих метаболиты микроорганизмов.



Использованные автором материалы, современное оборудование и методы исследования обеспечили выполнение поставленных перед диссертантом задач и научное обоснование выводов и рекомендаций.

### **3. Достоверность и новизна научных положений.**

Впервые проведены сравнительные исследования показателей иммунного ответа кур на антигены различной структуры. На основании полученных экспериментальных данных установлена отрицательная корреляция между количеством псевдоэозинофилов и лимфоцитов в крови кур в процессе Т-зависимого и Т-независимого иммунного ответа.

Отработаны способы выделения иммуноглобулина Y из биологических жидкостей кур. Установлено, что электрофоретические свойства IgY, полученного из сыворотки крови и желтка яиц, идентичны. Получена моноспецифическая сыворотка к IgY кур для его количественного определения в реакции иммунодиффузии по методу Манчини.

Впервые дана сравнительная характеристика показателей иммунного ответа у кур и использованы нагрузочные тесты на основе методов иммунодиффузии, спонтанного розеткообразования, определения фагоцитарной активности лейкоцитов крови для оценки функциональных свойств различных компонентов иммунной системы кур.

Получены новые данные о неодновременной функциональной активности отдельных компонентов иммунитета в процессе первичного иммунного ответа. Определено, что на 7-е сутки после введения Т-зависимого и Т-независимого антигенов активность фагоцитов крови находится в обратной зависимости от адгезивной способности Т-спленоцитов.

Автором диссертации проведены исследования на большом фактическом материале. Полученные данные были статистически обработаны и обоснована их достоверность.

#### **4. Ценность для науки и практики проведенной соискателем работы.**

Глубокий анализ и обобщение полученных результатов позволили автору объективно представить динамику иммунного ответа у кур на различные типы антигенов и прогнозировать его развитие.

Определены параметры иммуноглобулина класса Y, а также проведена оценка клеточных показателей иммунного ответа.

Разработаны и утверждены директором ФГБНУ ВИЭВ методические положения по получению моноспецифической антисыворотки к IgY. Предложен методический подход к оценке иммунного ответа у кур на основе определения взаимосвязи псевдозозинофилов и лимфоцитов и дифференцированном анализе показателей иммунного ответа, который можно использовать для оценки поствакцинального иммунитета у кур.

Личный вклад соискателя в исследования по теме диссертации был определяющим и в экспериментальной части работ, и в последующем анализе полученных результатов.

#### **5. Завершенность диссертации.**

Диссертационная работа изложена на 174 страницах компьютерного текста и содержит разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты исследований, обсуждение, выводы, практические предложения и список литературы. Материалы диссертации иллюстрированы 24 таблицами и 36 рисунками. Список литературы включает 228 источников, из них 67 – зарубежные.

Во введении автором обоснована цель исследований и определены задачи, требующие своего решения для ее достижения. Представлены сведения об апробации: основные положения диссертационной работы были доложены, обсуждены и получили положительную оценку на четырех международных научно-практических конференциях: «Актуальные проблемы инфекционных болезней молодняка и других возрастных групп сельскохозяйственных животных, рыб и пчел» (Москва, 2011г.); «Достижения молодых ученых в ветеринарную практику» (Владимир, 2012г.); «Состояние и перспективы развития ветеринарной



науки России» (Москва, 2013г.); «Ветеринарная наука в промышленном птицеводстве» (Санкт-Петербург, 2014 г.), а также на заседаниях Ученого Совета и методической комиссии ФГБНУ ВИЭВ в 2012-2014 гг.

В обзоре литературы изложены данные, характеризующие современное состояние рассматриваемой проблемы и возможные пути ее решения.

В разделе «Материалы и методы» указаны способы исследований, подтверждающие высокий методический уровень работы.

Собственные исследования выполнены на большом объеме экспериментального материала с использованием современных методов иммунологических исследований. Результаты собственных исследований включают в себя подробное описание всех этапов научно-исследовательских работ, начиная с получения высокоочищенного препарата иммуноглобулина Y, необходимого для проведения дальнейших экспериментов. Материалы изложены последовательно и логично, подробно описаны этапы работы по определению иммунологических показателей у кур после введения разных типов антигенов, дана их сравнительная оценка.

Обсуждение результатов собственных исследований в сопоставлении с данными литературы дополняет представленные материалы, подчеркивая их актуальность и новизну. В диссертации приведено 8 выводов, которые логически вытекают из полученных автором данных. Выводы соответствуют поставленным задачам и показывают, что цель исследований достигнута, и задачи успешно решены.

## **6. Подтверждение опубликования результатов в научной печати**

По материалам диссертации автором опубликовано 9 научных работ, в том числе 6 работ в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией.

## 7. Соответствие содержания автореферата материалам диссертации

Автореферат диссертационной работы Журавлевой М.С. «Количественная оценка показателей иммунного ответа у кур на различные типы антигенов» адекватно отражает содержание диссертации, написан лаконично.

## 8. Замечания и вопросы

1. Автор не указывает конкретного возраста птиц по каждому эксперименту и способов введения антигенов (кроме вакцины Н-120).
2. Желательно уточнить период времени между первым и повторным введением антигенов (вакцины) при изучении вторичного иммунного ответа.
3. Оценивали ли величину и специфичность иммунного ответа на вакцину против ИБК с помощью традиционных серологических реакций (ИФА, РТГА)?
4. Контрольные группы птиц оставались интактными или получали «плацебо», например, физраствор?
5. Громоздко сформулирован вывод 3, что в нем означает фраза «...при сохранении основных иммунологических критериев функционирования иммунной системы животных...»?
6. Вывод 8 об установлении обратной взаимосвязи не конкретен, т.е. если фагоцитарная активность увеличилась, а адгезивная способность спленоцитов снизилась, так и следовало бы указать. Как это связано «с конституционными закономерностями распределения функциональной нагрузки иммунной системой»?

К числу замечаний, возникших при прочтении диссертации, можно отнести некоторые орфографические и стилистические ошибки.

Однако сделанные замечания не носят принципиального характера и не снижают достоинств данной диссертации. Проведена большая теоретическая работа по анализу и обобщению огромного объема экспериментальных данных, что позволило автору внести существенный вклад в развитие иммунологии птиц.

