



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@vniivvm.ru; www.vniivvm.ru

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Стаффорд Виктории Васильевны на тему: «Патологоанатомическая характеристика и иммуногистохимическая диагностика вирусного репродуктивного и респираторного синдрома свиней», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.02 Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

Актуальность темы

Диссертационная работа Стаффорд Виктории Васильевны является результатом научных исследований, посвященных патологоанатомической характеристике и иммуногистохимической диагностике вирусного репродуктивного и респираторного синдрома свиней.

Репродуктивный и респираторный синдром свиней (РРСС) - одно из наиболее распространенных инфекционных заболеваний, наносящих значительный экономический ущерб свиноводству.

Актуальными являются вопросы о степени патологического влияния репродуктивного и респираторного синдрома на органы животного, распространении вируса в организме и его взаимосвязь с происходящими гистоморфологическими изменениями в органах. Данные вопросы осложняются наличием разнообразных патогенов, оказывающих большой спектр патологического влияния и осложняющих диагностику РРСС.

Поэтому изучение патоморфологических и иммуногистохимических

Вх. № 92
18 октября 2018 г.

характеристик репродуктивного и респираторного синдрома свиней в условиях эксперимента и при вспышках заболевания в свиноводческих хозяйствах является, несомненно, актуальной целью данной работы и определяющей значимость проведенных исследований.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций диссертации

Диссертационная работа выполнена в ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» (ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН).

Разработанная тест-система для иммуногистохимического выявления антигена нуклеокапсидного белка вируса репродуктивного и респираторного синдрома свиней на основе моноклональных антител была оценена при исследовании патологического материала от естественно инфицированных и экспериментально зараженных свиней.

Автором диссертации проведены исследования с применением материалов, методов и оборудования соответствующих современному уровню лабораторной диагностики.

По теме диссертации изучены 159 источников, из которых 37 – отечественные, 122 - зарубежные.

Диссертационная работа изложена на 120 страницах и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение результатов исследований, выводы, практические предложения, список литературы и приложения. Работа иллюстрирована 9 таблицами и 37 рисунками.

В приложениях представлены:

1. Патент «Способ диагностики репродуктивного респираторного синдрома свиней непрямым иммуногистохимическим анализом на основании моноклональных антител».

2. Методические указания «Иммуногистохимическая диагностика репродуктивно-респираторного синдрома свиней».

В характеристике работы обоснована актуальность решаемой проблемы, сформулированы цель и задачи работы, научная новизна, практическая значимость и основные положения диссертации, выносимые на защиту. Представлены сведения об апробации работы и публикациях автора, а также структуре и объеме диссертации.

Обзор литературы состоит из разделов, содержащих информацию о роли репродуктивного и респираторного синдрома свиней в инфекционной патологии свиней, биологической характеристике возбудителя, патогенезе, клинических и патологоанатомических признаках, иммунном ответе организма, методах диагностики и дифференциальной диагностики, методах иммунопрофилактики РРСС.

В разделе «Собственные исследования» представлены «Материалы и методы» и «Результаты исследований».

В разделе «Материалы и методы» дана характеристика штаммов - возбудителей репродуктивного и респираторного синдрома свиней, а также описаны гистологические и иммуногистохимические методы исследований, протокол получения моноклональных антител к гN белку вируса РРСС.

В разделе «Собственные исследования» были предусмотрены следующие задачи:

1. Выполнить экспериментальное заражение поросят референтным штаммом «Lelystad» и вирулентным штаммом «Западносибирский 13» вируса репродуктивного и респираторного синдрома свиней.

2. Изучить патологоанатомические изменения в органах поросят при экспериментальном заражении и у инфицированных свиней в естественных условиях.

3. Изучить гистологические изменения в органах и тканях при экспериментальном заражении и у естественно инфицированных свиней.

4. Разработать тест-систему для иммуногистохимического выявления антигена нуклеокапсидного белка вируса репродуктивного и респираторного синдрома свиней на основе моноклональных антител отечественного производства.

5. Определить распределение вируса в органах и тканях организма свиней с помощью иммуногистохимического метода у экспериментально зараженных свиней вирусом репродуктивного и респираторного синдрома и у животных в период вспышек заболевания в свиноводческих хозяйствах.

При решении поставленных задач были подобраны оптимальные условия для выполнения иммуногистохимического анализа проб внутренних органов свиней. Полученная тест-система была апробирована при исследовании проб патологического материала от экспериментально зараженных поросят и проб из хозяйств. Разработанная непрямая ИГХ тест-система отличается от зарубежных аналогов более коротким временем постановки реакции.

В результате анализа имеющихся отечественных моноклональных антител, определены наиболее специфичные к капсидному белку вируса репродуктивного и респираторного синдрома свиней антитела для выполнения непрямого ИГХ исследования.

По результатам проведенных исследований было показано, что основные патологические изменения сопровождаются накоплением вируса в легких (альвеолярные макрофаги) и бронхиальных лимфатических узлах (свободные макрофаги), а изменения, выявленные в других паренхиматозных органах, носят второстепенный характер.

Результаты, полученные при исследовании патологического материала с помощью разработанной тест-системы коррелируют с результатами ИФА и ПЦР. Таким образом, можно сказать, что метод иммуногистохимического выявления антигена вируса репродуктивного и респираторного синдрома свиней в тканях инфицированных свиней дополняет и расширяет возможности лабораторной диагностики болезней свиней.

Анализ полученных результатов позволяет сделать вывод, что они содержат не только научную новизну, но и практическую значимость, которая подтверждена при исследовании проб паренхиматозных органов поросят экспериментально зараженных на опытной базе ВИЭВ и естественно больных из свиноводческих хозяйств Московской, Смоленской, Ростовской и Тюменской областей.

Степень достоверности диссертационной работы и качество ее оформления. Диссертационная работа Стаффорд Виктории Васильевны является актуальной, завершенной научно-квалификационной работой, посвященной патологоанатомической характеристике и иммуногистохимической диагностике репродуктивного и респираторного синдрома свиней

Работа выполнена на высоком научно-методическом уровне, обладает научной новизной, теоритической и практической значимостью и оформлена в соответствии с современными требованиями.

Результатом экспериментальных исследований явились выбор бактериальных штаммов возбудителя рожи свиней, оптимизация питательной среды и технологических параметров получения антигена, разработка требований к волам продуцентам гипериммунной сыворотки, схемы иммунизации, технологии ее изготовления, оценки качества и лечебной эффективности применения. Дана характеристика различных факторов, влияющих на биологические свойства продукта, и определены критические точки контроля технологического процесса.

Экспериментальные данные и научные факты подвергнуты критическому анализу и обсуждены по всем направлениям проведенных исследований.

Выводы и практические предложения логически вытекают из результатов собственных исследований и обобщают весь объем информации, а автореферат соответствует содержанию диссертации.

В целом материал диссертационной работы представляет научный и практический интерес и является законченным исследованием, в котором решается важная научная проблема, имеющая существенное практическое значение для диагностики репродуктивного и респираторного синдрома свиней в условиях интенсификации животноводства. Основные результаты исследований обсуждены на конференциях и опубликованы в научной печати согласно требованиям ВАК РФ.

Выше изложенное позволяет дать работе положительную оценку. Вместе с тем по работе имеются некоторые замечания:

1. В разделе 3.2. Результаты собственных исследований проводится описание клинических признаков при экспериментальном заражении свиней различными штаммами вируса РРСС. Для наглядности полученных данных желательно было бы представить их в виде таблицы температуры тела и динамики падежа по группам животных.

2. В разделе 3.4. представлены данные по титрам накопления вируса РРСС органах. При этом нет информации в какой культуре клеток - желательно это указывать.

3. В разделе 3.6. в схеме № 3 Выполнения ИГХ реакции, пункте 10 написано: - Как правило, разведение АТ составляет 1:200. Рабочее Разведение любого компонента – это конкретная величина, которая определяется титрованием.

4. В разделе 3.6. после описания схем выполнения ИГХ реакции указано: - В результате, для выполнения ИГХ реакции на нативных срезах использовали схему №3, а для парафиновых срезов использовали схему №2. Если производили отбор из нескольких методик нужно шире обосновать этот выбор. Если проводили исследование по одной методике – просто указать эту методику.

Отмеченные недостатки не носят принципиального характера и не влияют на общую положительную оценку диссертации, представляющей законченное исследование, несомненно, содержащее научную новизну и

результатом которого явилась разработка метода иммуногистохимической диагностики РРСС, на основе отечественных моноклональных антител. С При помощи разработанного метода определены гистоморфологические изменения в паренхиме и строме легких, бронхиальных лимфатических узлов и других паренхиматозных органов при РРСС. Прослежена динамика диссеминации возбудителя в организме свиней.

Представленная работа полезна в научном и практическом плане и направлена на решение актуальных проблем отрасли.

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

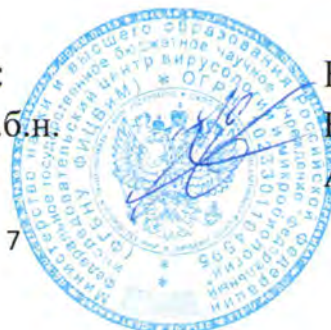
Диссертационная работа Стаффорд В.В выполнена на современном научно-методическом уровне и представляет собой научно-квалификационную работу выполненную на актуальную тему. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

По актуальности темы, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов и объему выполненных исследований диссертационная работа Стаффорд В.В. отвечает требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением правительства РФ от 24 сентября 2013 г за № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.02 Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, миология с микотоксикологией и иммунология.

Ведущий научный сотрудник
Научно-экспериментального отдела
ФГБНУ ФИЦВиМ,
кандидат ветеринарных наук

Живодеров
Сергей
Петрович

Подпись Живодёрова С.П. ЗАВЕРЯЮ:
ученый секретарь ФГБНУ ФИЦВиМ, к.б.н.



Балашова
Елена
Алексеевна