

## «УТВЕРЖДАЮ»

Заместитель директора по научно-технической  
работе Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки Сибирский  
федеральный научный центр  
агробиотехнологий Российской академии наук,  
кандидат химических наук

  
А.М. Захаренко

29 декабря 2021.

## ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу Трубицына Михаила Михайловича «Иммунобиологические свойства инактивированной эмульгированной вакцины против вирусного гепатита утят типа I», представленную в диссертационный совет Д 220.059.03 при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет 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 диссертации.** В последние годы в России наблюдается значительный рост продаж утиного мяса, что связано с появлением крупных утководческих хозяйств. На ограниченной территории происходит сосредоточение большого поголовья разновозрастных групп птицы, и постоянный приток новых партий суточного молодняка создает риск возникновения эпизоотий вирусного гепатита утят типа 1.

Вирусный гепатит утят типа 1 (ВГУ-1) – особо опасная инфекционная болезнь, характеризующаяся острым течением с преимущественным поражением печени, высокой смертностью утят до 6-недельного возраста. Широкое распространение ВГУ-1 в России и в мире обусловлено длительной персистенцией возбудителя в организме переболевшей птицы, его генетической вариабельностью, а также стационарным характером болезни.

Болезнь часто протекает в ассоциации с инфекциями вирусной и бактериальной этиологии, поэтому основой успешной борьбы с болезнью является вакцинопрофилактика.

Помимо необходимости импортозамещения, использование вакцины на основе живого аттенуированного вакцинного штамма, например, в составе эмбриональной вирусвакцины ВНИВИП, несет риски заражения микоплазмами, посторонними вирусами.

Развитие промышленного утководства, с одной стороны, необходимость перепрофилирования фермеров на выращивание утки, на фоне неэффективной конкуренции с крупными свиноводческими и хозяйствами и птицефабриками, с другой стороны, создают предпосылки для роста потребности в отечественных вакцинах.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.** Диссертантом проведен анализ литературы по проблеме вакцинопрофилактики вирусного гепатита утят типа 1, на основании которого были определены цель и задачи исследований. Научные положения, выводы и практические предложения, сформулированные в диссертационной работе Трубицына Михаила Михайловича, соответствуют поставленным цели и задачам, обоснованы фактическим материалом, включающим большой объем экспериментальных исследований с применением методик, соответствующих современному уровню развития науки. Сравнительный анализ антигенной активности прототипов вакцин против вирусного гепатита утят I типа (эмульгированной и сорбированной на гидроокиси алюминия) проведен в серии экспериментов на утках.

**Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций.** Работа выполнена за период с 2017 - 2019 гг. в отделе вирусологии и опухолевых болезней птиц Всероссийского научно-

исследовательского ветеринарного института птицеводства (ВНИВИП), совместно с Трефиловым Б.Б., Никитиной Н.В., Явдошак Л.И., Леоновым И.К., Дмитриевым К.Ю., в соответствии с научно-технической программой НИР № 0599-2019-0224.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений, так как исследования проведены на большом фактическом материале с использованием современных методов исследований, статистически обработаны и испытаны в производственных условиях. Результаты исследований представлены в таблицах и рисунках. Материалы диссертации отражены в 10 научных изданиях, из них 4 – в периодических изданиях, входящих в перечень российских научных рецензируемых журналов для опубликования основных результатов диссертаций, утвержденных ВАК Министерства образования и науки РФ, 2 патента Российской Федерации.

Результаты исследований по теме диссертации доложены и обсуждены на заседаниях Методического совета отдела вирусологии и ОБП и Ученого совета ВНИВИП (2017-2019); Международной научной конференции «Фундаментальные исследования» (Прага, 2018).

Научная новизна диссертационной работы заключается в том, что впервые разработана отечественная инактивированная эмульгированная вакцина против вирусного гепатита утят типа I. Отработана оптимальная схема получения вирусосодержащего сырья из вакцинного штамма «ВН-3» вируса гепатита утят. Штамм «ВН-3» вируса гепатита для производства вакцинных препаратов и диагностических наборов, депонирован в Государственной коллекции вирусов в НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского, ФГБНУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России под № 2859 и патентирован в РФ как «Штамм «ВН-3» вируса гепатита утят типа I рода *Avihepatovirus* семейства *Picornaviridae* для производства вакцинных препаратов и диагностических наборов, № 2675995, 08.05. 2018 [60]. Изучены режимы и кинетика инактивации вируса гепатита утят типа I

аминоэтилэтиленимином. Научно обоснован компонентный состав инактивированной сорбированной и эмульгированной вакцины, а также проведен сравнительный анализ антигенной активности различных форм вакцинного препарата, эффективность передачи антител у привитых уток в желтки яиц.

**Значимость для науки и практики проведенной соискателем работы** заключается в разработке отечественной инактивированной вакцины против вирусного гепатита утят 1-го типа, которая характеризуется формированием напряженного гуморального иммунитета в течение всего продуктивного периода, включая трансвариальную передачу антител потомству. На основе полученных результатов разработаны Методические положения «Вакцинация против вирусного гепатита утят типа I», технологии изготовления инактивированной вакцины и подготовки проекта нормативной документации на инактивированную вакцину против вирусного гепатита утят типа I. Получен патент РФ «Вакцина против вирусного гепатита утят типа I», № 2712948, 27.06.2019.

**Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом, замечания по оформлению диссертации.** Диссертационная работа Трубицына М.М. изложена на 113 страницах компьютерного текста и состоит из следующих разделов: введение; обзор литературы; собственные исследования, включающие материалы и методы, результаты исследований; обсуждение результатов; выводы; практические предложения; список литературы; список сокращений и приложение. Диссертация иллюстрирована 12 таблицами, 2 рисунками и 2 формулами, которые наглядно отражают результаты проведенных исследований. Список литературы включает 139 источников, из которых 76 - зарубежные.

В разделе «Введение» обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цель и задачи исследований, показаны новизна,

теоретическая и практическая значимость работы, из которых логически вытекают положения, выносимые на защиту. В разделе также отражены методология и методы исследований, степень достоверности и апробация результатов, личное участие соискателя, публикации результатов исследований и структура диссертации.

Раздел «Обзор литературы» содержит сведения об эпизоотической ситуации, распространении вирусного гепатита утят типа 1, причиняемом экономическом ущербе, методах борьбы с данным заболеванием. В разделе дана характеристика возбудителя болезни, описаны клинические и патоморфологические признаки, изложены аспекты иммунопрофилактики и диагностики. Обзор литературы имеет заключение и в целом отражает современное состояние проблемы. Изучение и анализ сведений, представленных в литературных источниках отечественных и зарубежных исследователей, позволили автору диссертационной работы обосновать актуальность, новизну работы, ее цель и задачи.

Глава «Собственные исследования» включает разделы «Материалы и методы исследований» и «Результаты собственных исследований».

В разделе 2.1. «Материалы и методы исследований» описаны объекты исследований, перечислены используемые в процессе проведения исследований среды, растворы, реактивы и пр. материалы, оборудование и приборы. В разделе дано краткое описание методов и методик исследований, которые соответствуют действующей нормативной документации и позволяют получать в ходе исследований достоверные результаты.

В разделе 2.2. «Результаты собственных исследований» изложены ход проведения и результаты исследований, проведенных соискателем. Результаты исследований представлены в соответствии с целью работы и поставленными задачами, иллюстрированы 12 таблицами, 2 рисунками и 2 формулами. Раздел разделен на 8 основных подразделов.

В подразделе 2.2.1. «Характеристика вакцинного штамма «ВН-3» вируса гепатита утят типа I» представлены данные о морфологических характеристиках предлагаемого штамма, уровне гомологии относительно вакцинного штамма КМИЭВ 16, чувствительности к различным физико-химическим воздействиям, культуральные характеристики штамма.

В подразделе 2.2.2. представлены результаты разработки технологии получения вирусосодержащего сырья, том числе данные по эффективности культивирования вируса на развивающихся утиных эмбрионах и культуре утиных фибробластов.

Подраздел 2.2.3. посвящен результатам исследований эффективности инактивации вируса аминоэтилэтиленимином.

Подраздел 2.2.4 содержит информацию о компонентном составе прототипов вакцин на основе гидроокиси алюминия и масляной эмульсии.

Подраздел 2.2.5 посвящен вопросу изменения физико-химических свойств вакцины, в зависимости от продолжительности хранения.

Подраздел 2.2.6 также описывает стабильность вакцинных препаратов при хранении, но в отношении сохранения антигенных/иммуногенных характеристик вакцины. Формирование поствакцинального иммунитета, при разных сроках хранения, изучено как методом ИФА, так и реакцией нейтрализации.

Подраздел 2.2.7 посвящен изучению динамики формирования поствакцинального иммунитета при использовании эмульгированной инактивированной вакцины, сорбированной на гидроокиси алюминия и живой вакцины на основе аттенуированного штамма.

В главе 3. «Обсуждение результатов исследований» проведен сравнительный анализ литературных данных и результатов исследований, полученных в ходе проведения работы.

В главе 4 подведены итоги проведенной работы, которые представлены в виде выводов и практических предложений. Выводы вытекают из поставленных задач и соответствуют тематике

диссертационной работы. В выводах отражены основные результаты проведенных исследований, на основе которых сформулированы практические предложения.

Диссертационная работа завершена списком сокращений, списком использованной литературы и приложением. В Приложении представлены документы, подтверждающие разработки и их внедрение (копии методических рекомендаций, справки о внедрении и др.). Содержание автореферата в полной мере отражает основные положения диссертационной работы.

### **Замечания, вопросы и предложения по диссертации**

При общей положительной оценке работы Трубицына Михаила Михайловича имеются некоторые замечания и вопросы, на которые хотелось бы получить ответы и разъяснения:

1. В разделе 2.2.1 (стр. 41) упомянуто молекулярно-генетическое исследование штамма ВН-3 однако, в разделе «Материалы и методы» не описана методология этой работы. В связи с этим просьба уточнить – в чем именно заключаются молекулярно-генетические различия между штаммом ВН-3 и КМИЭВ-16?

2. Почему для производства инактивированной вакцины был использован штамм вируса гепатита утят 1-го типа ВН-3 а не КМИЭВ 16?

3. На странице 58, в графиках не отражен разброс значений (рисунок 2).

4. Чем вы объясните тот факт, что в таблице 8, стр. 55, при одинаковых вируснейтрализующих титрах антител, наблюдаются разные уровни антител в ИФА?

5. На странице 61, фраза «уровень материнских антител в сыворотке крови суточных утят, полученных от вакцинированных уток, составил 100%» выглядит недостаточно понятно, просьба пояснить, что имелось ввиду.

6. Какова сравнительная эффективность образования вируснейтрализующих антител у разных типов вакцин, используемых в Вашей работе?

7. Каковы риски, на ваш взгляд, снижения эффективности вакцинопрофилактики в отношении менее антигенно-родственных штаммов, в контексте генетического разнообразия вируса вирусного гепатита утят 1-го типа в России и за рубежом?

Указанные замечания и вопросы не отражаются на общей положительной оценке работы, они связаны с интересом к данной проблеме и носят дискуссионный характер.


### **Заключение**

Диссертационная работа Трубицына Михаила Михайловича «Иммунобиологические свойства инактивированной эмульгированной вакцины против вирусного гепатита утят типа I», представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой содержится решение задач, имеющих существенное значение для промышленного птицеводства, вакцинопрофилактики экономически-значимой болезни. Работа выполнена на актуальную тему лично автором на высоком научном уровне и на достаточном для обобщения и выводов материале, полученном с использованием современных методов исследований. Считаю, что по актуальности, новизне исследований, научной и практической значимости диссертационная работа отвечает требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации 24 сентября 2013 г. № 842, а ее автор Трубицын Михаил Михайлович заслуживает ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.



Материалы диссертации, автореферата и настоящий отзыв рассмотрены и одобрены на межлабораторном совещании сотрудников Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СФНЦА РАН протокол № 8 от 28 декабря 2021 года.

Руководитель ИЭВСиДВ СФНЦА РАН,  
доктор ветеринарных наук,  
член-корреспондент РАН



Донченко Николай Александрович

Зав. сектором молекулярной  
биологии ИЭВСиДВ СФНЦА РАН,  
кандидат биологических наук

Афонюшкин Василий Николаевич

Подписи Донченко Н.А. и Афонюшкина В.Н. заверяю:  
учёный секретарь СФНЦА РАН,  
кандидат технических наук

Д.В. Шаповалов

630501, Новосибирская область, Новосибирский район, р.п. Краснообск,  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский  
федеральный научный центр агробιοтехнологий Российской академии наук  
(СФНЦА РАН), Тел. (383) 3481440, 3484462, факс (383) 3484462,  
e-mail: office@sfisca.ru, www.sfisca.ru.