

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Абрамовой Елены Геннадьевны «Совершенствование биотехнологии производства гетерологичного антирабического иммуноглобулина» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология

Бешенство остается одной из важнейших проблем как здравоохранения, так и ветеринарии. Эпидемическая опасность данной инфекции определяется абсолютной летальностью и повсеместным распространением. Является десятой по значимости причиной смерти людей в структуре инфекционных заболеваний и регистрируется более чем в 150 странах. В России ежегодно в связи с контактами с больными или подозрительными на бешенство животными около 200 тысяч человек получают курс специфической антирабической терапии, включающей применение комбинированного введения антирабического иммуноглобулина и антирабической вакцины.

Антирабический гетерологичный иммуноглобулин (АИГ) представляет собой белковую фракцию сыворотки крови лошади, гипериммунизированной фиксированным вирусом бешенства. Производство АИГ было начато в ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» в 2004 году по восстановленной технологии разработанной еще в 70-е годы прошлого века, что являлось, по видимому, причиной выявления побочных реакций у пациентов после его введения. Таким образом, совершенствование технологии производства и, в конечном счете, повышение качества АИГ является важнейшей научно-практической задачей и предопределяет актуальность, научную и практическую значимость выполненной работы.

Для решения этой задачи был предложен комплекс научно обоснованных современных биотехнологических решений, позволяющий оптимизиро-

вать технологию промышленного производства АИГ. Разработаны технологические параметры масштабного культивирования производственного штамма на клетках перевиваемой линии. Разработана оригинальная методика очистки и концентрации культуры. Предложены оригинальные методические подходы для количественной оценки вирусного материала с применением полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов. Научная новизна данных исследований подтверждена патентами на изобретения № 2511029 РФ «Рекомбинантный штамм *Escherichia coli* TG1(pRVMoscow3253G-L) для получения набора ПЦР-стандартов и набор ПЦР-стандартов для определения концентрации штамма вируса бешенства «Москва 3253» в рабическом антигене» и № 2511440 РФ «Способ количественного определения фиксированного вируса бешенства штамма «Москва 3253».

Экспериментально обоснованы условия получения очищенного гликопротеида из производственного штамма для конструирования высокоспецифичной иммунохимической тест-системы с использованием наночастиц коллоидного золота для оценки активности антирабических сывороток и иммуноглобулина. Приоритетность исследований подтверждена получением патента на изобретение № 2360252 РФ «Диагностикум и тест-система для определения активности антирабических сывороток и препарата гетерологичного антирабического иммуноглобулина *in vitro* методом дот-иммуноанализа». Разработана оригинальная модульная система очистки и стерилизации раствора антирабического иммуноглобулина баромембранными методами с использованием фильтрационных материалов отечественного производства, внедренная в промышленный выпуск препарата (промышленный регламент ПР № 01898109-47-15).

Научно обоснованы технологические параметры сублимационного высушивания в промышленных условиях антирабического иммуноглобулина и его F(ab')₂-фрагментов и получена новая форма выпуска гетерологич-

ного антирабического иммуноглобулина – лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного введения. Получены сведения о тепловых свойствах раствора антирабического иммуноглобулина и обоснована конечная температура замораживания препарата. Научно обоснован выбор оптимального протектора и доказана стабильность свойств лиофилизированного антирабического иммуноглобулина при длительном хранении.

Рекомбинантный штамм *Escherichia coli* TG1(pRV_{Moscow3253}G-L), содержащий фрагмент G-Лобласти генома штамма Москва 3253, депонирован в Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб». Предложенные инновационные альтернативные технологии для количественного определения вируса бешенства и антител к нему *in vitro* позволят сократить количество животных для проведения контрольных тестов и снизят себестоимость препарата.

По материалам проведенных исследований разработаны методические рекомендации: «Определение активности антирабических сывороток и препарата гетерологичного антирабического иммуноглобулина *in vitro* в дот-иммуноанализе», одобренные Ученым советом РосНИПЧИ «Микроб» и утвержденные директором РосНИПЧИ «Микроб» 10.04.2009 г.; «Культивирование фиксированного вируса бешенства «Москва 3253» на перевиваемой клеточной линии *Vero*», одобренные Ученым советом РосНИПЧИ «Микроб» и утвержденные директором РосНИПЧИ «Микроб» 24.09.2010 г.; «Определение уровня антител к вирусу бешенства в сыворотках лошадей-продуцентов и человека в непрямом варианте дот-иммуноанализа с применением неферментного диагностикума», одобренные Ученым советом РосНИПЧИ «Микроб» и утвержденные директором РосНИПЧИ «Микроб» 06.05.2011 г.; «Количественное определение фиксированного вируса бешенства штамма «Москва 3253» в вирусосодержащем материале методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов», одобренные Ученым советом РосНИПЧИ «Микроб» и утвер-

жденные директором РосНИПЧИ «Микроб» 10.11.2011 г.; «Концентрирование инактивированной суспензии культурального фиксированного вируса бешенства «Москва 3253» методом тангенциальной ультрафильтрации», одобренные Ученым советом РосНИПЧИ «Микроб» и утвержденные директором РосНИПЧИ «Микроб» 10.11.2011 г.; «Разработка лиофилизированной формы гетерологичного антирабического иммуноглобулина», одобренные Ученым советом РосНИПЧИ «Микроб» и утвержденные директором РосНИПЧИ «Микроб» 23.12.2011 г.; «Культивирование фиксированного вируса бешенства штамма «Москва 3253» суспензионным методом на перевиваемой клеточной линии *Vero*», одобренные Ученым советом РосНИПЧИ «Микроб» и утвержденные директором РосНИПЧИ «Микроб» 24.12.2011 г.; «Культивирование фиксированного вируса бешенства «Москва 3253» псевдосуспензионным методом на перевиваемой клеточной линии *Vero*», одобренные Ученым советом РосНИПЧИ «Микроб» и утвержденные директором РосНИПЧИ «Микроб» 24.12.2011 г.; «Выделение гликопротеида из фиксированного вируса бешенства штамма «Москва 3253», одобренные Ученым советом РосНИПЧИ «Микроб» и утвержденные директором РосНИПЧИ «Микроб» 01.06.2012 г.; «Культивирование фиксированного вируса бешенства «Москва 3253» на перевиваемой клеточной линии *Vero* роллерным способом», одобренные Ученым советом РосНИПЧИ «Микроб» и утвержденные директором РосНИПЧИ «Микроб» 27.11.2013 г.; «Проведение баромембранного процесса депирогенизации раствора антирабического иммуноглобулина», одобренные Ученым советом РосНИПЧИ «Микроб» и утвержденные директором РосНИПЧИ «Микроб» 30.12.2014 г.; «Стерилизующая фильтрация раствора антирабического иммуноглобулина», одобренные Ученым советом РосНИПЧИ «Микроб» и утвержденные директором РосНИПЧИ «Микроб» 09.12.2015 г.; «Предварительная фильтрация и диализ раствора антирабического иммуноглобулина», одобренные Ученым

советом РосНИПЧИ «Микроб» и утвержденные директором РосНИПЧИ «Микроб» 23.12.2016 г.

Все это свидетельствует о несомненной практической значимости выполненной работы.

Необходимо отметить высокий методический уровень проведенных исследований, что подтверждается внушительным комплексом примененных биотехнологических, вирусологических, микробиологических, биологических, иммунохимических, молекулярно-генетических, биохимических, физико-химических, биофизических и статистических методов исследования.

Достоверность полученных результатов обеспечена методологической обоснованностью основных положений работы, логичностью проведенных исследований, адекватностью широкого набора методов исследования поставленным задачам, достаточным объемом и репрезентативностью приведенных материалов.

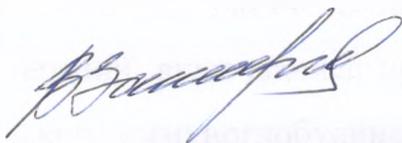
Результаты исследований были широко представлены на конференциях международного, всероссийского и регионального уровней. По материалам диссертации опубликовано 46 печатных работы, в том числе 18 в журналах, рекомендованных ВАК.

Автореферат написан в соответствии с общепринятыми требованиями, содержит иллюстративный материал, отражающий основные результаты исследований. Положения, выносимые на защиту, обоснованы полученными данными. Выводы полностью соответствуют поставленным целям и задачам.

Таким образом, диссертация Абрамовой Елены Геннадьевны «Совершенствование биотехнологии производства гетерологичного антирабического иммуноглобулина» является завершенным научно-квалификационным исследованием. Разработанные в диссертации теоретические положения и практические результаты по своей совокупности можно квалифицировать

как крупное научное достижение и решение важной народнохозяйственной проблемы по обеспечению безопасности населения и лекарственной независимости государства. По актуальности избранной темы, научной новизне полученных результатов, практической значимости, объему выполненной работы и уровню внедрения полученных результатов данная работа соответствует требованиям Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлениями Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. и № 335 от 21.04.2016 г., а соискатель достоин присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология.

Заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии с курсом клинической микробиологии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор



Замараев Валерий Семенович

400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1
E-mail: vszamarayev@mail.ru
Тел.: 9047782898

