

ОТЗЫВ

официального оппонента Клюкиной Валентины Ивановны на диссертационную работу Абрамовой Елены Геннадьевны "Совершенствование биотехнологии производства гетерологичного антирабического иммуноглобулина", представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Актуальность избранной темы диссертации. По оценке Всемирной Организации Здравоохранения, бешенство входит в пятерку инфекционных болезней общих для человека и животных, наносящих наибольший социальный и экономический ущерб. Ежегодно в мире после укусов животными, больными бешенством, погибает до 70 тыс. человек, половина из которых приходится на детей (WHO Expert Consultation on Rabies, 2013). Современная стратегия борьбы с бешенством заключается в профилактике инфицирования человека и животных с применением антирабических препаратов. По данным ВОЗ, более 15 млн. человек в мире ежегодно получают антирабическое лечение. В медицинские учреждения Российской Федерации ежегодно в связи с контактами с больными бешенством животными обращаются свыше 400 тыс. человек, половине из которых назначают курс специфического антирабического лечения.

Учитывая, что в России до 1990г. антирабический гетерологичный иммуноглобулин не производился, разработка комплекса научно обоснованных современных биотехнологических решений производства и совершенствования качества антирабического иммуноглобулина имеет важное научно-практическое и социальное значение. На основании выше изложенного, диссертационная работа Абрамовой Е.Г., направленная на решение проблемы обеспечения населения отечественным иммунобиологическим лекарственным средством для постэкспозиционной профилактики бешенства, весьма своевременна и актуальна.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации подтверждена тем, что диссертантом проведена полная и объективная оценка технологий производства и перспективы применения антирабических лекарственных препаратов в России и за рубежом, дан анализ их достоинств и недостатков, сформулированы цели и задачи исследований и получены важные для науки и практики результаты.

Научная новизна и практическая значимость полученных автором результатов заключается в расширении и углублении знаний в области биотехнологии производства противовирусных иммуноглобулиновых препаратов. Научная новизна и приоритет разработок автора подтверждена 3 патентами на изобретения.

Теоретическое значение диссертационной работы состоит в том, что в ней изложен системный подход к исследованию проблемы повышения качества гетерологичного иммуноглобулина на стадиях производства и применения.

Практическая значимость работы несомненна, полученные автором данные использованы при разработке нормативно-технической документации, а также методических рекомендаций. Результаты работы внедрены в производство иммунобиологических лекарственных препаратов, что вносит значительный вклад в развитие здравоохранения и укрепление санитарно-эпидемиологического благополучия Российской Федерации.

В целом, научные положения, выводы и рекомендации вытекают из результатов собственных исследований, их достоверность не вызывает сомнений. Текст автореферата адекватно передает содержание диссертационной работы.

Диссертационная работа Абрамовой Е.Г. выполнена в рамках Федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009–2014 годы)»,

изложена на 289 страницах компьютерного текста, включает обзор литературы, 7 глав собственных исследований, заключение, выводы и список литературы, состоящий из 565 источников, 297 из которых зарубежные.

В обзоре литературы (глава 1,2), изложенном на 28 страницах, дана характеристика современных особенностей распространения бешенства в России и мире, а также антирабических лекарственных препаратов, выпускаемых в России и за рубежом. Особое внимание диссертант уделила актуальным тенденциям развития биотехнологии производства противовирусных иммунобиологических лекарственных средств. Автор показал перспективность применения клеток VERO при культивировании вируса бешенства, раскрыла сущность и достоинство высокочувствительного и специфичного метода ПЦР для количественного определения вируса бешенства, а также дала сравнительную характеристику методов очистки, концентрирования и определения специфической активности антирабической сыворотки и иммуноглобулина. Глубокий анализ данных литературы по изучаемой проблеме, свидетельствует о высоком уровне теоретической подготовки диссертанта, что послужило основанием адекватного выбора цели исследования и методически верного решения поставленных задач.

Основная часть собственных исследований (главы 3-10), изложена на 143 страницах текста диссертации и посвящена описанию материалов, методов и результатов исследований, которые представлены в 39 таблицах и 57 рисунках. Анализ этого раздела показывает, что диссертант Абрамова Е.Г. хорошо владеет арсеналом современных вирусологических, молекулярно-генетических, иммунохимических, биохимических, физико-химических методов, направленных на совершенствование технологий промышленного производства гетерологичного антирабического иммуноглобулина. Полученные данные обработаны методом вариационной

статистики с использованием компьютерных программ Statistica 6, Microsoft Office Excel 2003.

Результаты, представленные в разделе «Собственные исследования», свидетельствуют о высоком профессиональном уровне исследователя. Автором оптимизированы условия культивирования и показано преимущество и перспективность роллерного способа масштабного культивирования производственного штамма вируса бешенства «Москва 3253» на клетках перевиваемой линии Vero в сравнении с суспензионным и псевдосуспензионным способами репродукции. Разработана система мероприятий с применением метода ПЦР по предупреждению контаминации микоплазмами клеточной культуры, вирусосодержащей жидкости, фракции иммуноглобулинов и сывороток крови.

Показана целесообразность концентрирования культуральной суспензии вируса бешенства методом тангенциальной ультрафильтрации с применением мембран не более 300 кДа для получения высокоиммуногенного антигена для иммунизации лошадей-продуцентов.

Значительные результаты получены автором при разработке молекулярно-генетического способа ПЦР-РВ, основанного на гибридизационно-флуоресцентном учете результатов, для количественной оценки содержания вируса бешенства на всех этапах культивирования и в материале для иммунизации. Научная новизна данной разработки подтверждена 2 патентами РФ на изобретения: «Рекомбинантный штамм *Escherichia coli* TG1(pRV_{Moscow3253}G-L) для получения ПЦР-стандартов и набор ПЦР-стандартов для определения концентрации вируса бешенства штамма «Москва 3253» в рабическом антигене» и «Способ количественного определения фиксированного вируса бешенства штамма «Москва 3253».

Исследуя возможности определения специфической активности иммунных сывороток и препаратов антирабического иммуноглобулина диссертант модифицировал методику постановки и показал пригодность dot-

хроматографического анализа с конъюгатом гликопротеина вируса бешенства и наночастицами коллоидного золота в прямом варианте и конъюгатом наночастиц золота и белка *A Staphylococcus aureus* в непрямом варианте dot- анализа для оценки уровня вируснейтрализующих антител. Научная новизна подтверждена патентом РФ: «Диагностикум и тест-система для определения активности антирабических сывороток и препарата гетерологичного антирабического иммуноглобулина *in vitro* методом дот-иммуноанализа».

К важным научно-практическим результатам можно отнести результаты обоснования технологических параметров сублимационного высушивания антирабического иммуноглобулина и его F(ab')₂-фрагментов-лиофилизата для внутримышечного введения. Полученные автором данные о молекулярных параметрах антирабического иммуноглобулина позволили расширить перечень показателей качества препарата, включенных в спецификацию фармакопейной статьи предприятия на антирабический иммуноглобулин. Аттестованный по Международному образцу стандартный образец специфической активности гетерологичного антирабического иммуноглобулина внедрен в производство.

Основные результаты диссертационной работы прошли апробацию на 20 международных научно-технических конференциях, отражены в 46 опубликованных работах, в том числе 18 статей в журналах, включенных в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий»; использованы при подготовке 13 методических рекомендаций, 1-го изменения в фармакопейную статью предприятия на антирабический иммуноглобулин Р N002639/01-250210, утвержденного Министерством здравоохранения Российской Федерации, 2-х изменений в промышленный регламент ПР № 01898109-47-15 на производство иммуноглобулина антирабического из сыворотки крови лошади, утвержденных директором РосНИПЧИ «Микроб».

Принципиальных замечаний по работе нет. Оценивая в целом диссертационную работу Е.Г.Абрамовой положительно, как высокопрофессиональное научное исследование, демонстрирующее разностороннюю подготовку автора, в качестве пожеланий рекомендуем:

1. Для оценки специфической активности антирабических сывороток и препаратов антирабического иммуноглобулина следовало бы использовать высокочувствительный и высокоспецифичный метод иммуноферментного анализа, который включен в фармакопейную статью (ОФС.1.7.2.0033.15) и рекомендован для подтверждения качества иммунобиологических лекарственных препаратов. Преимущество непрямого варианта ИФА в сравнении с разработанным автором dot-иммуноанализом с наночастицами коллоидного золота, заключается в стандартизации компонентов, автоматическом количественном учете результатов на оборудовании, что позволяет исключить субъективную визуальную оценку результатов.

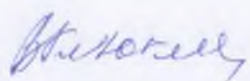
2. В материалах диссертации отсутствует раздел «Приложения» с актами проведенных исследований, копиями патентов, разработанной документацией и др., наличие которых подтвердило бы достоверность полученных диссертантом результатов.

Заключение. Диссертационная работа Елены Геннадьевны Абрамовой «Совершенствование биотехнологии производства гетерологичного антирабического иммуноглобулина» является самостоятельной законченной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком методическом уровне с использованием современных методов исследований, в которой решена важная научная проблема, имеющая важное социально-экономическое и практическое значение, направленное на обеспечение населения РФ отечественным иммунобиологическим препаратом для профилактики бешенства.

Учитывая актуальность проблемы, научную и практическую значимость полученных результатов, научно-методическую зрелость диссертанта,

считаю, что представленная диссертационная работа соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ №842 от 29.09.2013г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор Елена Геннадьевна Абрамова заслуживает присуждения искомой степени по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Официальный оппонент, доктор биологических наук, профессор, Лауреат премии правительства РФ в области науки и техники, заведующий отделом иммунологии «ФГБНУ ВНИТИБП»
141142, Московская обл., Щелковский р- н, пос. Биокомбината, «ФГБНУ ВНИТИБП»
Тел.(факс): 8(496) 56-7-32-63 e-mail: vnitibp@mail.ru


Клюкина Валентина Ивановна

Подпись Клюкиной В.И. заверяю:
Ученый секретарь «ФГБНУ ВНИТИБП»,
кандидат биологических наук


Фралов Юрий Дмитриевич

«7 марта» 2018года

