

## ОТЗЫВ

на автореферат Дураковой Оксаны Сергеевны «Совершенствование методических подходов для оценки специфической активности антигенов холерной химической вакцины» представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям

### 1.5.11. Микробиология и 1.5.6. Биотехнология


Холера продолжает оставаться одной из наиболее социально-значимых инфекций, вспышки которой постоянно регистрируются в разных регионах мира. По мнению экспертов в 2023 г. холерой могут заболеть более миллиарда человек. В связи с этим особую актуальность приобретает разработка и производство эффективных средств профилактики этого особо опасного заболевания. Диссертационная работа Дураковой Оксаны Сергеевны посвящена разработке новых методических подходов *in vitro* для проведения контрольных исследований по оценке качества антигенов и готовой лекарственной формы холерной вакцины. Поиск и внедрение в производство современных методических подходов к оценке свойств компонентов холерной химической вакцины, несомненно, представляют научный интерес и имеют важное практическое значение, поскольку обуславливают повышение качества, выпускаемого иммунобиологического лекарственного препарата.

В ходе выполненной работы был разработан универсальный методический подход на основе непрямого дот-иммуноанализа с использованием конъюгата на основе стафилококкового белка А, меченного коллоидным золотом, позволяющий определять специфическую активность антигенов в компонентах и готовой лекарственной форме холерной химической вакцины. Экспериментально доказана возможность замены методов *in vivo* определения специфической активности холерного токсина и холерогена-анатоксина на комплекс методов *in vitro*, позволяющих одновременно определить иммунохимическую и биологическую активность антигенов. Экспериментально обосновано применение перевиваемой клеточной линии СНО-К1 для определения специфической активности холерного токсина и холерогена-анатоксина в производстве холерной химической вакцины. С использованием комплекса методов (атомно-силовая микроскопия и трансмиссионная электронная микроскопия, полногеномное секвенирование, дот-иммуноанализ с использованием конъюгата на основе стафилококкового белка А, меченного коллоидным золотом, радиальный пассивный иммунный гемолиз) на всех этапах культивирования получены новые информативные характеристики культурально-морфологических свойств штаммов *Vibrio cholerae* 569В и М-41 и показана стабильность нуклеотидных последовательностей полного генома этих штаммов на всех стадиях производственного цикла, позволившие рекомендовать

альтернативный подход к оценке стабильности штаммов-продуцентов. Установлено, что применение сухой основы питательной среды – ферментативного гидролизата казеина обеспечивает стандартные условия для глубинного культивирования производственных штаммов *V.cholerae* 569В и М-41 и способствует стабильному увеличению в 1,5 раза выхода протективных антигенов, по сравнению со средой на основе основного раствора казеина. Определены условия максимальной продукции холерного токсина штаммами *V.cholerae* при культивировании в условиях биореактора, а также разработан новый способ выделения холерного токсина.

Автореферат дает полное представление о проделанной работе и оформлен в соответствии с установленными требованиями и соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. в редакции постановлений Правительства РФ от 30.07.2014 № 723, от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539, и отвечает требованиям, предъявляемым к диссертационным работам, а ее автор Дуракова Оксана Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.11 Микробиология и 1.5.6. Биотехнология.

Кандидат медицинских наук,  
ведущий научный сотрудник  
лаборатории бактериофагов,  
и.о. начальника отдела диагностических  
препаратов Федеральное казенное  
учреждение здравоохранения  
Ростовский-на-Дону противочумный  
институт Роспотребнадзора

 Гаевская Наталья Евгеньевна

Подпись Гаевской Н.Е. заверяю  
Начальник отдела кадров  
ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный  
институт Роспотребнадзора



Е.Е. Стоян

Адрес: 344002, г. Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40  
Телефон: 8 (863) 240-27-03  
Факс: 8 (863) 267-02-23  
E-mail: plague@aaanet.ru