

Отзыв

на автореферат диссертационной работы 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, 1.5.6 – Биотехнология

В Российской Федерации препаратом, предназначенным для профилактики холеры является «Вакцина холерная бивалентная химическая, таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой» производства ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора. В соответствии с Промышленным Регламентом, определение специфической активности холероген-анатоксина в составе вакцины проводится методами *in vivo* с использованием лабораторных животных. Согласно рекомендациям ВОЗ актуальной задачей является замена методов определения специфической активности антигенов с использованием лабораторных животных на высокочувствительные, воспроизводимые методы *in vitro*. Также актуальным является вопрос повышения стабильности штаммов-продуцентов компонентов холерной вакцины и стабильности продукции «целевого продукта».

В связи с вышеуказанным, актуальность темы Дураковой О.С., посвященной совершенствованию биотехнологических подходов, которые служат основой оценки свойств специфических компонентов и готовой лекарственной формы холерной химической вакцин, контроля стабильности штаммов-продуцентов, не вызывает сомнений.

В ходе работы научно обоснована и экспериментально подтверждена возможность определения специфической активности холерного токсина, холероген-анатоксина и О-антигена на этапах производства холерной химической вакцины *in vitro*, что позволяет отойти от использования лабораторных животных. В качестве методов контроля предложены: иммуноферментный анализ, дот-иммуноанализ, радиальный пассивный иммунный гемолиз. Установлена высокая степень корреляции методов *in vitro* по отношению к регламентированным методам *in vivo*. Молекулярно-генетическими методами и с использованием морфометрического анализа на основе атомно-силовой и электронной микроскопии установлена стабильность штаммов *Vibrio cholerae*, используемых при изготовлении холерной химической вакцины, при культивировании на питательной среде на основе сухого ферментативного гидролизата казеина. Методами *in vitro* установлена стабильность продукции специфических антигенов. Разработана оригинальная методика последовательного применения методов ультрафильтрации, ЛПС-адсорбции и гель-хроматографии, которая позволяет

получать препарат холерного токсина, соответствующий требованиям к СОП «Тест-токсин холерный». На основе полученных данных разработан алгоритм оценки показателей активности антигенов в составе холерной химической вакцины с использованием комплекса методов (ПЦР, ИФА, ДИА, РПИГ, теста с перевиваемой клеточной линией). Предложенные биотехнологические подходы внедрены в производство и использованы при разработке промышленных регламентов. В ГКПБ депонированы два штамма *V. cholerae*, как производственные линии, используемые для изготовления холерной химической вакцины.

Материалы диссертационного исследования доложены и обсуждены на 12-ти российских и международных конференциях. По результатам диссертации опубликовано 26 научных работ, из которых 9 статей в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ для защиты диссертаций.

Принципиальных замечаний к диссертационной работе Дураковой О.С. нет.

На основании анализа диссертации, цели и задач исследования, положений, выносимых на защиту, сделанных выводов, считаю, что работа соответствует требованиям, предъявляемым ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук по специальностям 1.5.11 микробиология и 1.5.6. биотехнология, а ее автор Дуракова О.С. заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук.

Доктор биологических наук,
профессор кафедры микробиологии
и физиологии растений
биологического факультета ФГБОУ
ВО «Саратовский национальный
исследовательский государственный
университет имени Н.Г.

Чернышевского»
410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83
Телефон: +7(8452)511630
E-mail: biofac@info.sgu.ru

Уткин Денис Валерьевич

Подпись д.б.н., профессора ФГБОУ ВО «Саратовский национальный
исследовательский государственный университет имени Н.Г.

Чернышевского» Уткина Дениса Валерьевича заверяю:

Ученый секретарь Ученого совета

СГУ, канд. хим. наук

«30» 08 2023 г.



Федусенко Ирина Валентиновна