

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Гавриловой Юлии Кирилловны на тему «Разработка метода контроля уровня вируснейтрализующих антител на модели клеточных культур в производстве антирабического иммуноглобулина», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология

В России, несмотря на проведение профилактических мероприятий и тенденцию к снижению случаев заболевания среди людей, сохраняется напряженная эпидемиологическая и эпизоотологическая обстановка по бешенству. На сегодняшний день ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» является единственным производителем на территории нашей страны антирабического иммуноглобулина (АИГ), включенного в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского применения в случаях нанесения повреждения человеку больным или подозрительным на бешенство животным. Показателем защитных свойств АИГ является его «специфическая активность», для определения которой эксперты ВОЗ рекомендуют отказаться от использования лабораторных животных и применять методы *in vitro*. В связи с этим актуальность и перспективность проведенного диссертационного исследования по разработке метода *in vitro* с использованием клеточных культур не вызывает сомнения и соответствует концепции «Три R».

Автореферат построен по традиционной схеме и включает все необходимые структурные элементы: актуальность темы исследования; цели и задачи; научную новизну; теоретическую и практическую значимость работы; методологию и методы исследования; положения, выносимые на защиту; степень достоверности и апробацию результатов; личный вклад автора; публикации научных трудов. Поставленные автором задачи адекватны. Пять положений, выносимых на защиту, выполнены в полном объеме. Кроме того, автор указал связь работы с научными программами, выполненными на базе ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» в период с 2015 по 2021 гг. в рамках отраслевых НИР. Основное содержание работы кратко раскрывает содержание глав (разделов) диссертации. В заключении автореферата диссертации изложены итоги проведенного исследования, рекомендации по использованию полученных результатов. Все материалы, включенные в диссертацию, объединены ведущей идеей исследования, аргументированы, логически взаимосвязаны, изложены ясно и последовательно.

Достоверность диссертационного исследования обусловлена значительным объемом экспериментов и полученных в ходе исследования данных, их статистической обработкой, соответствием теоретическим данным, применением современных актуальных методов исследования, соответствующих цели и задачам работы. Эксперименты проведены на аттестованном оборудовании, контрольно-измерительные приборы, задействованные в ходе исследования, прошли метрологическую поверку.

Полученные результаты обладают несомненной научной новизной, часть исследований защищена патентом РФ 2673718 «Питательная среда для культивирования перевиваемых клеточных линий млекопитающих» (опубликован 29.11.2018 г., бюл. № 34). Теоретическая и практическая значимость работы не вызывает сомнений. Экспериментально обоснована эффективность применения метода с использованием клеточных культур. Гаврилова Ю.К. провела большую

работу по получению флуоресцирующих антирабических конъюгатов, включающую не только конъюгирование антител с флуоресцентными метками, но и совершенствование методов культивирования, разработку питательных сред для выращивания вируса и клеточных культур, оптимизацию иммунизации рибонуклеопротеином кроликов, выделение и очистку антигенов и антител. Эффективность применения сконструированных флуоресцирующих препаратов сопоставима с коммерчески доступным диагностическим антирабическим конъюгатом. Его использование обеспечивает высокую чувствительность при исследовании на клеточных культурах. По результатам проведенной работы автору удалось разработать метод определения специфической активности антирабического иммуноглобулина на культуре клеток, позволяющий сократить длительность проведения анализа по сравнению с реакцией нейтрализации *in vivo* с 14 суток до 3. Разработан и аттестован стандартный образец предприятия специфической активности антирабического иммуноглобулина для применения в реакции нейтрализации вируса на культуре клеток (серия 41-01-20), который внесен в реестр стандартных образцов предприятия, допущенных к применению в экспериментально-производственных подразделениях ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» согласно инструкции по применению. Таким образом, практическая ценность рассматриваемой работы очевидна. Кроме того, выполнены рекомендации ВОЗ по применению вторичных стандартных образцов для проведения рутинных исследований.

В диссертации отмечены как преимущества разработанного метода, заключающиеся в сокращении срока установления диагноза и возможности одновременного исследования большого числа проб, так и недостатки: наличие дорогостоящего оборудования, специализированного помещения для выращивания клеточных культур и специалистов по работе с клеточными линиями. Причем последнее свидетельствует о высоком уровне подготовки Гавриловой Ю.К., потому что работа с клеточными линиями требует не только хорошей теоретической подготовки, но и особой тщательности, творческого подхода. Юлия Кирилловна показала себя грамотным специалистом, способным решить поставленные задачи на высоком методическом уровне с привлечением современных биотехнологических, вирусологических, биологических, биохимических, биофизических иммунохимических и других методов исследования.

Список опубликованных по теме диссертации работ свидетельствует о полноте отражения содержания работы в научных публикациях. Диссертация иллюстрирована 17 рисунками и 5 таблицами. Единственное, хотелось бы обратить внимание, что в главе 3 при описании экспериментальных исследований в клеточной культуре Vero, культивируемой на различных питательных средах, результаты представлены в виде таблицы, хотя нагляднее было бы показать подобные изменения (характер роста, морфология клеток, образование и сохранение монослоя культуры и другие) на рисунке (фотографии). Так же и в главе 4 при установлении наиболее подходящей для детекции вируса бешенства клеточной культуры можно было бы сделать ссылку на фотографию клеточных культур Vero и ВНК-21. На мой взгляд, изменения в клеточных культурах больше отражает фотография, но, автор сделал выбор в пользу диаграмм, видимо, потому, что они позволяют быстро произвести логический вывод из большого количества полученных данных.

В целом, работа имеет завершённый характер, цель и все задачи выполнены, актуальность направления исследования очевидна, новизна полученных данных, их научная и практическая значимость подтверждены, объём выполненного и проанализированного экспериментального материала и уровень полученных результатов соответствует современным требованиям. Принципиальных замечаний нет. Хотелось бы пожелать Юлии Кирилловне и ее научному руководителю, чтобы разработанный методический прием был внедрен в производство иммунобиологического лекарственного средства «Имуноглобулин антирабический из сыворотки крови лошади жидкий» для определения его специфической активности *in vitro* при проведении выпускающего контроля качества производителем и подтверждения соответствия требованиям нормативной документации уполномоченными учреждениями Минздрава РФ с целью ввода в гражданский оборот.

Диссертационная работа Гавриловой Ю.К. «Разработка метода контроля уровня вируснейтрализующих антител на модели клеточных культур в производстве антирабического иммуноглобулина», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология, является завершённым научным трудом и по своей актуальности, новизне, научно-теоретической и практической значимости, достоверности и обоснованности выводов отвечает требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, отрасли науки «Биологические науки», паспорту специальности 1.5.6 – Биотехнология по пунктам 3 и 8; а ее автор, Гаврилова Юлия Кирилловна, безусловно, достойна присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук.

Старший научный сотрудник отдела научного
и учебно-методического обеспечения
ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный
институт Роспотребнадзора,
кандидат биологических наук



Оксана Федоровна Кретенчук

Адрес: 344002, г. Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, д. 117/40,
Тел.: (863) 240-27-03, Факс: (863) 267-02-23, E-mail: plague@aanet.ru,
Сайт: <http://antiplague.ru>

Подпись старшего научного сотрудника,
к.б.н. Кретенчук О.Ф. заверяю.

Начальник отдела кадров
ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный
институт Роспотребнадзора



Елена Евгеньевна Стоян

«2» марта 2022 г.