

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

комиссии диссертационного совета 64.1.002.01 при Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора по кандидатской диссертации Гавриловой Юлии Кирилловны на тему: «Разработка метода контроля уровня вируснейтрализующих антител на модели клеточных культур в производстве антирабического иммуноглобулина», выполненной в лаборатории профилактических иммуноглобулинов Федерального казенного учреждения здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология

Соответствие соискателя ученой степени требованиям, необходимым для допуска к защите. Гаврилова Ю.К. соответствует требованиям, изложенным в п. 3 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г.: имеет высшее образование, подтвержденное дипломом Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» по специальности «Биология» с квалификацией «Биолог», выполнила диссертационную работу на базе Федерального казенного учреждения здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, давшего положительное заключение по данной диссертации; сдала кандидатские экзамены, о чем предоставлена справка. ↘

Соответствие диссертации специальности, по которой совету предоставлено право защиты. Диссертация Гавриловой Ю.К. выполнена в рамках отраслевых научно-исследовательских работ ФКУЗ «РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора: 48-2-14 «Разработка и внедрение в производство МИБП новых решений, направленных на повышение качества препаратов и эффективности технологических процессов» (номер госрегистрации 01201457722), 70-2-17 «Разработка и совершенствование биотехнологий промышленного выпуска иммунобиологических средств профилактики и диагностики инфекционных заболеваний бактериальной и вирусной природы» (номер госрегистрации АААА-А16-116112810063-4), 83-2-20 «Совершенствование этапов производства и методов контроля лечебно-профилактических и диагностических препаратов» (номер госрегистрации АААА-А20-120012090035-1) и 89-2-21 «Научно-прикладные аспекты производства и совершенствования препаратов для иммунопрофилактики и диагностики опасных бактериальных и вирусных инфекций» (номер госрегистрации АААА-А21-121012090066-4), под руководством кандидата биологических наук Генералова Сергея Вячеславовича (специальность 1.5.6 – «Биотехнология»), на современном научно-методическом уровне с использованием биотехнологических, вирусологических, биологических, биохимических, биофизических, физико-химических, иммунохимических и статистических методов исследования. Члены комиссии считают, что диссертация Гавриловой Ю.К. соответствует 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 — «Изучение и разработка технологических режимов выращивания микроорганизмов-продуцентов, культур тканей и клеток растений и животных для получения биомассы, ее компонентов, продуктов метаболизма, направленного биосинтеза биологически активных соединений и других компонентов, изучение их состава и методов анализа, технико-экономических критериев оценки, создание эффективных композиций биопрепаратов и разработка способов их применения» и 8 — «Разработка научно-методических основ для применения стандартных биосистем на молекулярном, клеточном, тканевом и организменных уровнях в научных исследованиях, контроле качества и оценки безопасности использования пищевых, медицинских, ветеринарных и парфюмерно-косметических биопрепаратов».

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных автором. Выполнение требований к публикации основных научных результатов диссертации. По теме диссертаций опубликовано 16 научных работ, из них 4 статьи в журналах, входящих в базы данных международных индексов научного цитирования Scopus и Web of Science и в российских журналах, рекомендованные ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации, 1 патент на изобретение и 11 публикаций в иных изданиях, включая статьи рецензируемых журналов, сборники и материалы научных конференций, что является вполне достаточным для проведения защиты.

Автор самостоятельно провела информационный поиск, анализ литературных источников. Тема, цель, задачи, объекты, методы и план исследования определены автором совместно с руководителем. Автор принимала непосредственное участие на всех этапах выполнения диссертационной работы: поиске эффективных решений поставленных задач, постановке экспериментов и интерпретации результатов, оформлении научных статей и патента на изобретение, разработке методических документов, подготовке текста диссертации и автореферата.

Присвоения авторства чужого научного труда (плагиата), результатом которого может быть нарушение авторско-правового и патентного законодательства, в данной диссертации не обнаружено.

Диссертационная работа изложена на 132 страницах машинописного текста и включает следующие разделы: оглавление, введение, обзор литературы, основную часть, в которой изложены описание материалов и методов исследования, результаты экспериментальных исследований и их обсуждение, заключение, выводы, список сокращений и условных обозначений, список литературы. Список литературы включает 226 источников, в том числе 100 отечественных и 126 зарубежных авторов.

Актуальность выбранной темы определяется существующей необходимостью совершенствования метода контроля при определении специфической активности антирабического иммуноглобулина. Этот параметр характеризует защитные свойства

антирабического иммуноглобулина при его использовании для постэкспозиционной профилактики бешенства у людей. В настоящее время в российском производстве антирабического иммуноглобулина параметр «специфическая активность» определяют в реакции нейтрализации вируса бешенства на белых мышах. Основными характеристиками используемого метода контроля является высокая чувствительность, специфичность, длительность проведения исследования (14 сут), необходимость использования большого количества стандартных лабораторных животных и наличия мест для их содержания. Ввиду указанных особенностей, а также рекомендаций экспертов ВОЗ по бешенству, актуален поиск альтернативных способов определения уровня антирабических антител, среди которых наиболее чувствительными и специфичными являются методы, основанные на обнаружении вируса бешенства в клеточных культурах с применением флуоресцирующих антирабических конъюгатов. При этом целесообразным представляется использование конъюгатов антител к субъединицам вируса бешенства и флуорохромных красителей с высокой фотостабильностью. Получение подобных продуктов требует проведения исследований по совершенствованию методов культивирования, разработке питательных сред для выращивания вируса и клеточных культур, иммунизации животных, выделения и очистки антигенов и антител. Разработка и применение методов *in vitro* для определения специфической активности в производстве антирабического иммуноглобулина являются основными факторами гармонизации российских и международных фармакопейных документов, что дополнительно создает необходимость разработки соответствующего стандартного образца, как компонента единой аналитической системы.

Цель работы – разработка метода *in vitro* с использованием клеточных культур, перспективного для контрольных исследований специфической активности антирабических сывороток и препарата антирабического иммуноглобулина.

Научная новизна полученных результатов заключается в том, что для отечественного производства гетерологичного антирабического иммуноглобулина впервые разработан методический подход для количественного определения уровня специфических антител в антирабических сыворотках и готовом препарате антирабического иммуноглобулина на модели клеточных культур. Данный метод позволяет осуществлять контрольные исследования без использования лабораторных животных в более короткие сроки (3 сут) по сравнению с реакцией нейтрализации на белых мышах (14 сут).

Впервые изучены особенности роста интактной и инфицированной вирусом бешенства «Москва 3253_{Vero}» культуры Vero при использовании питательной среды на основе ферментативного гидролизата фибрина, такие как характер формирования монослоя, индекс пролиферации, динамика накопления вируса в клеточной культуре. Данная часть исследований защищена патентом РФ 2673718. Результаты исследований позволили обосновать применение указанной питательной среды для культивирования клеточных культур с целью получения рибонуклеопротеина вируса бешенства.

