

## УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального казенного  
учреждения здравоохранения  
Российского научно-исследовательского  
противочумного института «Микроб»  
Федеральной службы по надзору в сфере  
защиты прав потребителей и благополучия  
человека

академик РАН, д.м.н., профессор

В.В. Кутырев



«30» августа 2021 г.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

**Федерального казенного учреждения здравоохранения  
Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб»  
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и  
благополучия человека  
(ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора)**

Диссертация «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», выполнена в лаборатории профилактических иммуноглобулинов отдела профилактических препаратов ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора.

В период подготовки диссертации соискатель Гаврилова Юлия Кирилловна работала в ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора в должности младшего научного сотрудника лаборатории профилактических иммуноглобулинов, а затем в должности научного сотрудника той же лаборатории. В 2015 г. Гаврилова Ю.К. окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» по специальности «Биология». В 2015 г. прошла профессиональную переподготовку по специальности «Бактериология. Основы безопасной работы с

патогенными биологическими агентами (ПБА) I-II групп». В 2017 г. Гаврилова Ю.К. прошла повышение квалификации на курсах по программе «ПЦР в диагностике инфекционных болезней и индикации патогенных микроорганизмов». В октябре 2019 г. была прикреплена в качестве соискателя для выполнения диссертационной работы ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора.

В период 2018-2021 гг. сдала кандидатские экзамены, что подтверждается соответствующими справками Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» и Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова».

Научный руководитель: Генералов Сергей Вячеславович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактических иммуноглобулинов отдела профилактических препаратов ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, утвержден Ученым советом ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, протокол № 3 от 2 октября 2019 г.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертационная работа Гавриловой Юлии Кирилловны является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой представлены новые данные о возможности применения разработанного методического приема оценки качества препарата антирабического иммуноглобулина по спецификационному показателю «Специфическая активность». Работа соответствует всем требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Диссертационная работа Гавриловой Ю.К. соответствует отрасли науки «Биологические науки», паспорту научной специальности 03.01.06 – «Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)» по пункту 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 продуктов, изучение их состава и методов анализа, технико-экономических критериев оценки, создание эффективных композиций биопрепаратов и разработка способов их применения» и пункту 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»; а также проекту паспорта научной специальности 1.5.6. – «Биотехнология» по пункту 8 «Технологии производства вакцин, биологически активных препаратов, средств диагностики вирусных, бактериальных и грибных болезней» и пункту 9 «Стандартные биосистемы в научных исследованиях, контроле качества и оценке безопасности пищевых, медицинских, ветеринарных и парфюмерно-косметических биопрепаратов».

Совместно с руководителем к.б.н. Генераловым С.В. соискатель определил цели и задачи работы, методику экспериментов, а также подготовил материалы к публикации. Личное участие автора заключалось в нахождении эффективных решений поставленных задач, постановке экспериментов и интерпретации результатов, оформлении научных статей, патента на изобретение, разработке нормативных и методических документов, написании текста диссертации, автореферата. Некоторые экспериментальные исследования проведены вместе с д.б.н. Абрамовой Е.Г., к.м.н. Киреевым М.Н., к.б.н. Овчинниковой М.В., к.б.н. Лобовиковой О.А., к.б.н. Уткиным Д.В., к.б.н. Шарাপовой Н.А., Кирилловой Т.Ю., Спицыным А.В., Холматовым К.И., Волосевич В.В., Савицкой Л.В.

Достоверность результатов проведенных исследований базируется на достаточном количестве полученных опытных результатов, их согласованности с теоретическими данными, статистическом анализе итогов экспериментов и проведении измерений на оборудовании прошедшем метрологическую поверку и калибровку. Выводы диссертации теоретически и экспериментально обоснованы и согласуются с целью и задачами работы.

Новизна проведенных исследований состоит в следующем. Впервые для отечественного производства гетерологичного АИГ разработан методический подход *in vitro* для количественного определения уровня специфических антител в антирабических сыворотках и готовом препарате АИГ на модели клеточных культур. Данный метод позволяет осуществлять контрольные исследования в более короткие сроки и без использования лабораторных животных. Экспериментально обоснованы особенности культивирования инфицированных вирусом бешенства «Москва 3253<sub>Verо</sub>» клеточных культур Verо и ВНК-21 при использовании питательной среды на основе гидролизата фибрина. Приоритет исследований подтвержден патентом РФ 2673718 «Питательная среда для культивирования перевиваемых клеточных линий млекопитающих» (опубликован 29.11.2018 г., бюл. № 34). Результаты исследований позволили обосновать выбор питательной среды, используемой для культивирования инфицированных клеточных культур с целью получения рибонуклеопротеина вируса бешенства. Впервые предложены

схемы иммунизации кроликов, позволяющие получать сыворотки с высоким содержанием антител к рибонуклеопротеину вируса бешенства «Москва 3253<sub>Verо</sub>». Впервые показана возможность применения флуоресцирующих конъюгатов антител к рибонуклеопротеину вируса бешенства «Москва 3253<sub>Verо</sub>» при определении титра специфических антител в условиях производства препарата гетерологичного антирабического иммуноглобулина.

Практическая значимость работы заключается в том, что экспериментально обосновано применение питательной среды на основе гидролизата фибрина для культивирования клеточных культур и вируса бешенства, что будет способствовать развитию применения малоотходных технологий. Установлена эффективность использования наночастиц коллоидного золота при использовании их в качестве адъюванта на этапе иммунизации кроликов рибонуклеопротеином. Сконструированы конъюгаты флуоресцирующих антител к рибонуклеопротеину вируса бешенства для определения титра антител в антирабических сыворотках и иммуноглобулине в реакции нейтрализации вируса на клеточной культуре. Разработан и аттестован стандартный образец предприятия специфической активности антирабического иммуноглобулина для применения реакции нейтрализации вируса на культуре клеток (сер.41-01-20). Разработан метод контроля специфической активности антирабических сывороток и иммуноглобулина с применением клеточной культуры и вируса бешенства «Москва 3253<sub>Verо</sub>». Установлена согласованность результатов, полученных предлагаемым методом, с результатами контрольного метода определения специфической активности препарата антирабического иммуноглобулина – реакции нейтрализации вируса бешенства на белых мышах. Данное обстоятельство позволяет сделать вывод о возможности использования разработанного метода *in vitro* при определении специфической активности на этапах производства антирабического иммуноглобулина. На основании результатов исследований разработаны и утверждены директором ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» методические рекомендации: «Выделение нуклеопротеина из аттенуированного вируса бешенства» (одобрены Ученым Советом РосНИПЧИ «Микроб». Протокол № 5 от 19.12.2017); «Определение специфической активности антирабических сывороток и иммуноглобулина методом иммунофлуоресценции на клеточных культурах» (одобрены Ученым Советом РосНИПЧИ «Микроб». Протокол № 4 от 6.06.2018).

Материалы диссертации достаточно полно отражены в 16 опубликованных работах, из них 3 статьи из «Перечня изданий, которые входят в международные реферативные базы данных и системы цитирования и в соответствии с пунктом 5 правил формирования перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук,

на соискание ученой степени доктора наук», 1 статья в журналах из «Перечня ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук» по специальности 1.5.6. – «Биотехнология» по биологическим наукам, 1 патент на изобретение РФ 2673718 «Питательная среда для культивирования перевиваемых клеточных линий млекопитающих», 11 публикаций в иных изданиях, включая статьи рецензируемых журналов, сборники и материалы конференций.

Диссертация «Разработка метода контроля уровня вируснейтрализующих антител на модели клеточных культур в производстве антирабического иммуноглобулина» Гавриловой Юлии Кирилловны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.6. – «Биотехнология».

Заключение принято на заседании отдела профилактических препаратов совместно с сотрудниками отдела диагностических препаратов, отдела экспериментальных фармацевтических форм, отдела питательных сред, отдела биологического и технологического контроля, отдела стандартизации, качества и метрологии ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора. Присутствовало на заседании 28 чел. Результаты голосования: «за» – 28 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось» – 0 чел., протокол № 1 от 19.11. 2021 г.



доктор биологических наук, доцент  
Никифоров Алексей Константинович,  
заместитель директора по  
экспериментальной и производственной  
работе ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»  
Роспотребнадзора

«30» ноября 2021 г.