

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова

Г.М.Н. член-корреспондент РАН

О.Л. Свитич

_____ 2021 года



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ НАУЧНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», г. Москва, на диссертационную работу Гостищевой Светланы Евгеньевны по теме «Совершенствование биотехнологии производства и оценки качества вакцины чумной живой», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Актуальность темы диссертационного исследования

Периодическая активизация природных очагов чумы на территории Российской Федерации может способствовать осложнению эпидемиологической ситуации. Стабильное эпидемиологическое благополучие поддерживается проведением иммунизации контингентов риска вакциной чумной живой на основе штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ. В настоящее время эта вакцина остается наиболее эффективным профилактическим противочумным препаратом, обеспечивающим у привитых развитие иммунитета продолжительностью до 1 года.

Производство вакцины чумной живой в России осуществляется более семидесяти лет. В настоящее время актуальны научные исследования, направленные на совершенствование биотехнологии с целью повышения жизнеспособности и стабилизации препарата при хранении.

Модернизация биотехнологии производства направлена на совершенствование стандартизации препарата путем подбора полноценных питательных сред.

имеющих низкую себестоимость, совершенствование этапов изготовления препарата при неизменности основных биотехнологических стадий. Применение новых технологий контроля качества вакцины является приоритетным при совершенствовании производства иммунобиологических препаратов.

Новизна результатов исследования и их значимость для науки и практической деятельности

В ходе диссертационного исследования сконструирована питательная среда на основе ферментативного гидролизата кукурузного экстракта сгущенного (ГКЭС). Среда полноценна по компонентному составу и эффективна при культивировании вакцинного штамма *Y.pestis* EV, в том числе и при промышленном выпуске чумной вакцины.

Представлено научное обоснование применения «метода объединенного смыва» в биотехнологии производственного процесса вакцины чумной живой на этапе приготовления полуфабриката, позволяющего создавать идентичные условия для микробных клеток в процессе их синхронизации, что способствует повышению качества препарата по показателю жизнеспособности.

Экспериментально обосновано применение клеточного антигенспецифического теста *in vitro* (КАСТ), основанного на выявлении маркеров активации лимфоцитов (CD 25, HLA-DR) при стимуляции специфическим антигеном, для оценки иммуногенной активности вакцины чумной живой.

Практическая значимость результатов исследования подтверждена 3 патентами, а также разработкой и утверждением документов: Пускового регламента на производство Питательного агара для культивирования микроорганизмов (ГКЭС), двух методических рекомендаций и двух Изменений в ПР на производство вакцины чумной живой.

Достоверность и обоснованность научных положений и выводов диссертации

Научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, обоснованы результатами экспериментальных исследований. Достоверность

научных положений и выводов подтверждается длительным сроком наблюдений, использованием современных адекватных методов исследования и статистической обработкой полученных результатов, соответствующих задачам исследования. Для достижения целей и задач работы применяли микробиологические, иммуноцитометрические и физико-химические методы.

Оценка структуры и содержания, соответствия требованиям, предъявляемым к диссертациям

Диссертационная работа Гостищевой С.Е. построена традиционно, состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, включающих материалы и методы, глав 3, 4 и 5 собственных исследований, выводов, заключения, списков сокращений и использованной литературы. Рукопись диссертационной работы изложена на 123 страницах компьютерного текста и иллюстрирована 6 рисунками и 15 таблицами. Список литературы включает 173 источника, из них 118 отечественных и 55 зарубежных.

Содержание диссертации свидетельствует о решении намеченных задач, завершении исследования и достижении поставленной цели. Во «Введении» диссертации представлена актуальность темы исследования и степень ее разработанности, сформированы цель и задачи, отражены научная новизна, теоретическая и практическая значимость, методы исследования, положения, выносимые на защиту, степень достоверности, апробация результатов и личный вклад соискателя.

«Обзор литературы» состоит из двух глав, посвященных изучению возможных путей совершенствования биотехнологии производства вакцины чумной живой и анализу современных методов определения противочумного иммунитета.

В главе «Материалы и методы исследования» подробно описаны методы исследования, использованные в работе. Диссертантом дана подробная характеристика чумных штаммов, реактивов, лабораторных животных, питательных сред и оборудования.

Глава 3 посвящена конструированию питательной среды из ферментативного гидролизата кукурузного экстракта сгущенного для

культивирования вакцинного штамма *Y. pestis* EV. Автором показана эффективность данной питательной среды, ее низкая себестоимость обуславливает целесообразность ее внедрения для масштабированного производства чумной вакцины.

В главе 4 обоснована целесообразность совершенствования биотехнологического этапа приготовления вакцинной взвеси. Проведенные исследования показали, что препарат вакцины чумной живой, полученный «методом объединенного смыва», имеет хорошие показатели жизнеспособности и сохраняет стабильность регламентированных показателей в течение всего срока годности.

В главе 5 приведены результаты исследований по изучению возможности применения клеточного антиген-стимулированного теста *in vitro* для контроля иммуногенной активности производственных серий чумной вакцины. Проведенные исследования образцов крови вакцинированных людей позволяют сделать вывод о перспективности применения данного подхода для количественной оценки иммунологической эффективности вакцин против чумы.

В Заключение диссертации подводятся итоги работы. Выводы последовательно и логично вытекают из анализа результатов приведенного диссертационного исследования и соответствуют поставленным задачам.

По теме диссертации опубликованы 24 научные работы, из них 3 в периодических изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, получено в соавторстве 3 патента РФ на изобретение.

Автореферат содержит основные положения и отражает суть выполненной работы.

Рекомендации по использованию результатов диссертации

Результаты диссертационного исследования имеют практическую значимость для промышленного выпуска вакцины чумной живой. Внедрение в производство питательной среды ГКЭС обеспечивает высокий выход биомассы вакцинного штамма и повышает показатель жизнеспособности готового продукта.

Важным практическим аспектом является разработка и внедрение «метода объединенного смыва», при котором полученный препарат вакцины чумной живой,

сохраняет стабильность регламентированных показателей в течение всего срока годности и имеет лучшие показатели жизнеспособности при длительных сроках хранения, что подтверждает целесообразность использования данной методики в промышленном производстве препарата.

Использование клеточного антигенспецифического теста *in vitro* и технологии цитометрического анализа открывает возможность количественного определения поствакцинальной специфической антигенной реактивности лимфоцитов. В перспективе предложенный подход можно использовать в качестве дополнительного контрольного теста при изучении степени иммуногенности новых (кандидатных) вакцин против чумы в сравнении с коммерческими препаратами.

Заключение

Диссертация Гостищевой Светланы Евгеньевны, выполненная на тему «Совершенствование биотехнологии производства и оценки качества вакцины чумной живой», представляемая к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), представляет собой самостоятельную законченную квалификационную работу, в которой на основании проведенного исследования решена актуальная научная задача по совершенствованию биотехнологии производства и оценки качества чумной вакцины, в том числе: разработана и апробирована для промышленного производства чумной вакцины питательная среда на основе ферментативного гидролизата кукурузного экстракта стуженного; оптимизирована биотехнология производственного процесса; обоснована возможность применения метода КАСТ для контроля качества вакцины чумной по показателю иммуногенности.

Диссертация и автореферат полностью соответствуют требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в редакции Постановления РФ от 01.10.2018, с изм. от 26.05.2020), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а диссертант заслуживает присвоения ученой степени

кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Отзыв подготовила д.м.н., профессор Михайлова Наталья Александровна.
Отзыв рассмотрен, обсужден и одобрен на заседании Ученого Совета ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, протокол № 2, от 17.06.2021 года.

Руководитель научного направления
по иммунобиотехнологии ФГБНУ НИИВС им.
И.И. Мечникова, д.м.н., профессор


Наталья Александровна Михайлова

Почтовый адрес: 105064, г. Москва, Малый
Казенный переулок, д. 5А
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»
Тел.: +7 (495) 917-49-00

Адрес электронной почты: mech.inst@mail.ru

Подпись Н.А. Михайловой заверяю,

Зам. директора

ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова

к.м.н.




О.В. Артемьева