

УТВЕРЖДАЮ
Директор Федерального казенного
учреждения здравоохранения «Волгоградский
научно-исследовательский противочумный
институт» Федеральной службы по надзору
в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека
доктор медицинских наук, доцент



А.В. Топорков

«11» января 2021 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального казенного учреждения здравоохранения «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по диссертационной работе Гаркуша Юлии Юрьевны на тему: «Биотехнология производства композиционных органокремнеземных магноиммуносорбентов и их применение для детекции возбудителей особо опасных инфекций», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 «Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)»

Актуальность темы диссертации

Диссертационная работа Юлии Юрьевны Гаркуша посвящена вопросам разработки параметров биотехнологических процессов производства композиционного органокремнеземного магносорбента при изготовлении туляремийных иммунопероксидазных конъюгатов для выявления *F. tularensis*. Методы иммуномагнитной сепарации находят широкое применение в области лабораторной диагностики инфекционных болезней и санитарно-эпидемиологических исследований, т.е. там, где требуется высокочувствительная детекция инфекционного агента в сложных (контаминированных, загрязненных ингибиторами и т.д.) образцах с низкой концентрацией патогена. Повышенный интерес к использованию магнитных

носителей представляется правомерным, так как лежит в русле передовых тенденций создания полностью автоматизированных систем экспресс-диагностики патогенных микроорганизмов. Чрезвычайно высокая чувствительность связывания и особые физико-химические свойства магнитных микрочастиц послужили основой разработки и внедрения в практику магноиммуносорбентных тест-систем для выявления возбудителей особо опасных и других инфекций бактериальной и вирусной природы в различных лабораторных методах, в том числе в ИФА. Актуальность данного направления исследований несомненна и определяется прежде всего тем, что сегодня несмотря на широкое применение сорбционных материалов различной химической природы в медицине, фармакологическом производстве, экологии и др. в Российской Федерации отсутствуют коммерческие препараты на основе магносорбентов для диагностики инфекционных заболеваний, в том числе и особо опасных. Для унификации производственного выпуска диагностикумов, основанных на сорбционной технологии, необходимо разработать стандартные условия биотехнологических процессов. Одним из важных направлений в проведении стандартизации является создание стандартных образцов, предназначенных для воспроизведения единиц величин, характеризующих состав и свойства всех компонентов, значения которых предварительно установлены в результате метрологической аттестации, что обеспечит воспроизводимость получаемых результатов исследований и возможность их сравнительной оценки.

Успешные экспериментальные разработки по магноиммуносорбентам показали перспективность и необходимость этих препаратов, но не завершились их промышленным освоением и внедрением в практику. По всей видимости, сложившееся положение связано с существующим широким разнообразием сорбционных материалов, биотехнологических приемов и технологических сложностей приготовления магноиммуносорбентов.

Таким образом, тема диссертационной работы Гаркуша Юлии Юрьевны, посвященная стандартизации биотехнологических процессов производства композиционного органокремнеземного магносорбента при изготовлении туляремийных иммунопероксидазных конъюгатов, актуальна и представляет значительный научный и практический интерес.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В диссертационном исследовании Гаркуша Юлии Юрьевны впервые стандартизирован элементный состав микрогранулированного магносорбента на основе алюмосиликата и отработан процесс его производства, определены контрольные и критические точки, что позволяет получать продукт с постоянными заданными свойствами. По разработанной технологии впервые создан стандартный образец композиционного органокремнеземного магносорбента с целью унификации производственного выпуска и контроля диагностических препаратов, основанных на аффинной сорбционной технологии. Опираясь на технологическую схему изготовления стандартного образца магносорбента, определены основные параметры для иммобилизации специфических иммуноглобулинов на его поверхности для получения аффинного магносорбента (магноиммуносорбента).

Автором сконструирована магноиммуносорбентная тест-система для выявления возбудителя туляремии в иммуноферментном анализе, которая значительно повышает специфичность и чувствительность метода, и, как следствие, достоверность получаемых результатов исследования.

Диссертантом подобрана технология элюирования антигенов с иммобилизованной магнитной матрицы (органокремнеземного магноиммуносорбента), что впервые дало возможность после проведения магнитной сепарации искомого патогена исследовать материал в реакции непрямой гемагглютинации и реакции агглютинации латекса.

Автором диссертации разработана биотехнология производства туляремийного иммунопероксидазного конъюгата и эффективный способ его консервации.

Несомненной заслугой автора стало создание технических устройств: «Универсальная укладка для забора и транспортировки материала от людей, животных и из объектов окружающей среды для исследования на особо опасные болезни» (патент РФ на полезную модель № 125976 от 20.03.2013 г.) и «Радиоуправляемая самоходная и плавающая портативная установка для экологического, эпидемиологического и микробиологического мониторинга объектов водной среды» (патент РФ на полезную модель № 133834 от 27.10.2013 г.). В этих устройствах используются специальные «магнитные ловушки» с фиксированным на них аффинным сорбентом, что существенно повышает качество отбора материала для исследования и возможность его взятия в труднодоступных местах заданного или неограниченного объема.

Связь новизны исследования с планами соответствующих отраслей науки

Основные разделы диссертационной работы Гаркуша Юлии Юрьевны выполнены на базе научно-производственной лаборатории препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций Федерального казенного учреждения здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в рамках двух научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ: «Разработка стандартного образца предприятия (СО) магносорбента» (№ ГР 01201456169) и «Разработка магноиммуносорбента туляремийного с элюирующими растворами для серологических и генетических исследований» (№ ГР 01201169579) совместно с д.м.н., профессором Афанасьевым Е.Н., д.б.н. Жарниковой И.В., к.б.н. Ждановой Е.В., к.б.н. Старцевой О.Л.

Значимость для науки и практики данных, полученных автором диссертации

Полученные в ходе выполнения диссертационной работы новые данные значимы в научном и прикладном отношении. Разработанный алгоритм процессов и параметров биотехнологии производства магноиммуносорбента позволяет получить конечный продукт со стандартными элементарным составом, физико-химическими и иммунобиологическими характеристиками. Создан стандартный образец Федерального казенного учреждения здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека композиционного микрогранулированного магносорбента (регистрационный № 007-9388-2015), применение которого предусматривается при конструировании и выпуске магноиммуносорбентных тест-систем на основе органокремнеземной матрицы. Подобран метод элюции антигена с поверхности магнитной иммобилизованной матрицы, который позволяет расширить возможности лабораторной диагностики инфекционных болезней и индикации их возбудителей. Разработанные методы регенерации магноиммуносорбента после проведения элюции позволяют использовать аффинный сорбент многократно, что значительно снижает материальные и трудовые затраты.

Получены регистрационные удостоверения Росздравнадзора на следующие препараты, которые допущены к обращению на территории Российской Федерации: набор реагентов тест-система диагностическая для выявления возбудителя туляремии в иммуноферментном анализе (ИФА) (по ТУ 9388-010-01 897080-2009, № ФСР 2010/06744 от 26.12.2012 г.); набор реагентов тест-система иммуноферментная магноиммуносорбентная для выявления возбудителя туляремии (по ТУ 9388-006-01897080-2012, № ФЗН 2013/429 от 04.04.2013 г.). Составлена нормативная документация, включающая программу разработки, инструкцию по применению и свидетельство на стандартный образец магносорбента, одобренная Ученым советом и утвержденная директором института (протокол № 5 от 18.06.2015 г.). Стандартный образец магносорбента зарегистрирован в реестре

стандартных образцов Федерального казенного учреждения здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, регистрационный номер 007-9388-2015. На Ученом Совете Федерального казенного учреждения здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека утверждена нормативная документация: технические условия (ТУ) 9388-039-01897080-2013 и пусковой регламент (ПУР) № 01897080-28-13 на «Набор реагентов магноиммуносорбент туляремийный с элюирующим буфером» (протокол № 8 от 03.09.2013 г.).

Достоверность и апробация результатов исследования, в том числе публикации в рецензируемых изданиях

О достоверности результатов работы свидетельствует использование современных методов исследования, которые характеризуются высокой чувствительностью, объективностью, соответствуют поставленным в работе цели и задачам. Использование указанных методов позволило впервые разработать стандартный образец композиционного органокремнеземного магносорбента, на его основе сконструировать тест-систему иммуноферментную магноиммуносорбентную, позволяющую повысить специфичность и чувствительность иммуноферментного анализа до 10 м.к./мл и наладить ее коммерческий выпуск.

Апробация диссертационной работы состоялась на расширенном заседании научно-производственной лаборатории препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций Федерального казенного учреждения здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол № 1 от 15.05.2019 г.).

Материалы диссертации обсуждены, доложены и опубликованы в материалах научно-практической школы-конференции молодых ученых и

специалистов научно-исследовательских организаций Роспотребнадзора (25-27 мая 2010 г., г. Оболенск, Московская область); Всероссийской научно-практической конференции «Современные проблемы военной медицины, обитаемости и профессионального отбора» (17-18 ноября 2011 г., г. Санкт-Петербург); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы болезней, общих для человека и животных» (23-24 мая 2012 г., г. Ставрополь); XI Международной научно-практической конференции «Современные технологии в совершенствовании мер предупреждения и ответных действий на чрезвычайные ситуации в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера» (16-17 октября 2012 г., г. Саратов); Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов научно-исследовательских организаций Роспотребнадзора «Актуальные проблемы профилактической медицины, среды обитания и здоровья населения» (2013 г., г. Уфа); Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 95-летию ФБУН ННИИЭМ им. академика И.К. Блохиной Роспотребнадзора (28 мая 2014 г., г. Нижний Новгород); Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Актуальные проблемы эпидемиологии и профилактической медицины» (22-24 октября 2014 г., г. Ставрополь).

Диссертантом опубликовано 25 печатных работ, из них 5 статей в рецензируемых изданиях, 5 патентов Российской Федерации.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Цель и задачи исследования, поставленные автором, основные положения, выносимые на защиту, полностью соответствуют выводам, представленным в диссертации.

Разработанный алгоритм процессов и параметров биотехнологии производства туляремийного магноиммуносорбента рекомендуется использовать при конструировании специфических магноиммуносорбентов

для детекции возбудителей инфекций бактериальной и вирусной природы. Для повышения чувствительности и специфичности таких серологических реакций как РНГА и РАЛ рекомендуется проведение предварительного избирательного концентрирования искомого патогена на аффинном магносорбенте с последующей десорбцией антигена одним из растворов: 1 % раствор пепсина, рН 6,2; 2 % раствор твин 20, рН 5,6; 0,03 М раствор калия едкого, рН 11,4; 60 % раствор ацетонитрила, рН 8,5; ТРИС-ЭДТА буфер, рН 8,9.

Для мониторинговых эпидемиологических обследований природных очагов туляремии рекомендуется использовать «Набор реагентов тест-системы иммуноферментной магноиммуносорбентной для выявления возбудителя туляремии» с целью повышения достоверности как положительных, так и отрицательных результатов иммуноферментного анализа.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Гаркуша Юлии Юрьевны «Биотехнология производства композиционных органокремнеземных магноиммуносорбентов и их применение для детекции возбудителей особо опасных инфекций», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 - «Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)», является завершенной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной задачи по разработке стандартных условий и параметров биотехнологии производства и системы контроля качества композиционных органокремнеземных микрогранулированных магносорбентов, используемых в лабораторной диагностике особо опасных инфекций, имеющей существенное значение для развития медицины и здравоохранения.

Диссертационная работа Гаркуша Юлии Юрьевны «Биотехнология производства композиционных органокремнеземных магноиммуносорбентов и их применение для детекции возбудителей особо опасных инфекций», по

актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года № 335, от 02 августа 2016 года № 748, от 29 мая 2017 года № 650, от 28 августа 2017 года № 1024, от 01 октября 2018 года № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Юлия Юрьевна Гаркуша заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – «Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Отзыв заслушан и одобрен на межлабораторной конференции ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (протокол № 1 от 28.12.2020 г.)

Ведущий научный сотрудник лаборатории биологической безопасности Федерального казенного учреждения здравоохранения «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, кандидат медицинских наук, доцент



Ротов Константин Александрович

Адрес: 400131, г. Волгоград, ул. Голубинская, 7

Тел. 8(8442)37-37-74

E-mail: vari2@sprint-v.com.ru

Подпись Ротова Константина Александровича заверяю

Ученый секретарь Федерального казенного учреждения здравоохранения «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека



Корсакова Ирина Игоревна

« 12 » января 2021 г.