

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 208.046.01 НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «МОСКОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМ. Г.Н. ГАБРИЧЕВСКОГО» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 11 февраля 2021 г. № 2.

О присуждении Гаркуша Юлии Юрьевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Биотехнология производства композиционных органокремнеземных магноиммуносорбентов и их применение для детекции возбудителей особо опасных инфекций» по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) принята к защите 04.12.2020 г. протокол № 3 диссертационным советом Д 208.046.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 10). Диссертационный совет утвержден Приказом Министерства образования и науки РФ № 714 / нк «О советах по защите докторских и кандидатских диссертаций» от 2 ноября 2012 г., приказ № 1577 / нк от 16.12.2016 част. изм.

Соискатель Гаркуша Юлия Юрьевна, 1979 года рождения, в 2001 году окончила Ставропольский государственный университет по специальности «Биология».

Гаркуша Ю.Ю. работает в Федеральном казенном учреждении здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека с ноября 2003 года в должности младшего научного сотрудника, с 2018 и по настоящее время – биологом научно-производственной лаборатории препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций. Прикреплена к научно-производственной лаборатории препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» для подготовки диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) без освоения программы подготовки научно-педагогических кадров (приказ №175А от 02.09.2016 г.).

Диссертация выполнена в научно-производственной лаборатории препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора.

Научный руководитель: Тюменцева Ирина Степановна, доктор медицинских наук (03.00.07), профессор, ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный

институт» Роспотребнадзора, научно-производственная лаборатория препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций, главный научный сотрудник.

Официальные оппоненты: Владимцева Ирина Владимировна – доктор биологических наук (03.00.23), профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Волгоградский государственный технический университет", кафедра "Промышленная экология и безопасность жизнедеятельности", профессор кафедры; Девдариани Зураб Леванович – доктор медицинских наук (03.02.03), профессор, Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, отдел информационного обеспечения научных исследований, главный научный сотрудник – дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в своем положительном заключении, подписанном кандидатом медицинских наук, Ротовым Константином Александровичем, лаборатория биологической безопасности, ведущий научный сотрудник, указала, что диссертация является завершённой 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. **Соискатель имеет** 25 работ опубликованных по теме диссертации, из них 5 работ опубликованы в рецензируемых научных изданиях, 3 публикации в других изданиях, 5 патентов РФ на изобретения, 12 публикаций в материалах конференций. Наиболее значительные работы: 1) Гаркуша, Ю.Ю. Разработка методов десорбции антигенов инфекционных патогенов с поверхности магнитоуправляемых микроразмерных частиц для их детекции в серологических и генетических исследованиях / Ю.Ю. Гаркуша, Е.Н. Афанасьев, И.С. Тюменцева, И.В. Жарникова, С.А. Курчева, Е.В. Жданова, О.Л. Старцева // Технологии живых систем. – 2013. – Т. 10, № 5. – С. 51-54; 2) Тюменцева, И.С. Оптимизация системы контроля биотехнологии медицинских иммунобиологических препаратов, выпускаемые ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора / И.С. Тюменцева, Е.Н. Афанасьев, С.А. Курчева, Ю.Ю. Гаркуша, А.А. Семирчева, О.Л. Старцева, Е.В. Жданова // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – №6. – С. 14-23; 3) Тюменцева, И.С. Разработка стандартных условий биотехнологии производства иммуномагнитного сорбента для экспресс-диагностики опасных инфекционных заболеваний / И.С. Тюменцева, Е.Н. Афанасьев, О.Л. Старцева, С.А. Курчева, И.В. Жарникова, Ю.Ю. Гаркуша, Е.В. Жданова, С.М. Кальной // Технологии живых систем. – 2017. – Т. 14, № 2. – С. 52-54; 4) Гаркуша, Ю.Ю. Определение стабильности основных показателей качества стандартного образца магносорбента / Ю.Ю. Гаркуша, И.С. Тюменцева, С.А. Курчева, О.Л. Старцева, И.В. Жарникова, А.Г. Кошкидько, А.С. Геогджаян // Здоровье населения и среда обитания. – 2018. – № 7 (304). – С. 48-51.

На автореферат поступило 3 положительных отзыва без замечаний от:

1) д.м.н. Алиевой Е. В., профессора кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом бактериологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 2) д.б.н. Тохова Ю. М., профессора кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 3) к.б.н. Ржепаковского И. В., заведующего межкафедральной научно-образовательной лабораторией экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии и иммунобиотехнологии, ведущего научного сотрудника, доцента кафедры прикладной биотехнологии Института живых систем ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет». В отзывах отмечено, что в ходе диссертационного исследования разработан алгоритм процессов и параметров биотехнологии производства магноиммуносорбента, что позволило создать стандартный образец композиционного микрогранулированного органокремнеземного сорбента, а на его основе сконструировать магноиммуносорбентную тест-систему для выявления возбудителя туляремии в иммуноферментном анализе; разработан способ элюции антигена возбудителя туляремии с МИС, что дало возможность исследовать материал в таких серологических реакциях как РНГА и РАЛ.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тематикой научных исследований, компетентностью в вопросах, рассмотренных в диссертации, большим опытом работы в усовершенствовании лабораторной диагностики особо опасных и других инфекций.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований разработан стандартный образец композиционного органокремнеземного магносорбента с целью стандартизации производственного выпуска и контроля диагностических препаратов. На его основе внедрена в практику магноиммуносорбентная тест-система для выявления возбудителя туляремии в иммуноферментном анализе. Предложена технология элюирования антигенов с иммобилизованной магнитной матрицы (органокремнеземного магноиммуносорбента), что дало возможность исследовать материал в серологических реакциях (РНГА и РАЛ). Доказана биотехнология производства туляремийного иммунопероксидазного конъюгата и раскрыт способ его консервации. Введены в обращение технические устройства: «Универсальная укладка для забора и транспортировки материала от людей, животных и из объектов окружающей среды для исследования на особо опасные болезни» и «Радиоуправляемая самоходная и плавающая портативная установка для экологического, эпидемиологического и микробиологического мониторинга объектов водной среды» с установленными на них «магнитными ловушками» с аффинным сорбентом, что повышает качество отбора материала для исследования и возможность его взятия в труднодоступных местах.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказана эффективность алгоритма процессов и параметров биотехнологии производства магноиммуносорбента, что позволило создать стандартный образец композиционного микрогранулированного магносорбента, применение которого предусматривается при конструировании и выпуске магноиммуносорбентных тест-систем на основе органокремнеземной матрицы. Применительно к проблематике диссертации результативно использован разработанный метод элюции антигена с поверхности магнитной иммобилизованной матрицы, позволяющий расширить возможности лабораторной диагностики инфекционных болезней и индикации их возбудителей и использовать аффинный сорбент многократно. Изложена возможность расширения биотехнологических

изысканий по конструированию специфических магноиммуносорбентов для детекции возбудителей различных инфекций бактериальной и вирусной природы. Раскрыты пути повышения чувствительности и специфичности таких серологических реакций как РНГА и РАЛ с помощью проведения избирательного концентрирования искомого патогена на аффинном магносорбенте с последующей десорбцией антигена. Изучены методы усовершенствования лабораторной диагностики туляремии, которые направлены на проведение исследований по применению магноиммуносорбентов. Проведена модернизация полученных соискателем результатов исследования и раскрыта необходимость к обращению на территории Российской Федерации следующих диагностических препаратов: «Набор реагентов тест-система диагностическая для выявления возбудителя туляремии в иммуноферментном анализе (ИФА)»; «Набор реагентов тест-система иммуноферментная магноиммуносорбентная для выявления возбудителя туляремии», на которые получены регистрационные удостоверения Росздравнадзора.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что на основе стандартного образца магносорбента и поликлональных туляреминых иммуноглобулинов класса G сконструирован магноиммуносорбент, который продемонстрировал при проведении многочисленных лабораторных и полевых испытаний высокую диагностическую ценность, возможность исследования сильно загрязненного материала неограниченного объема при выявлении *F. tularensis* в объектах окружающей среды.

Разработанный алгоритм процессов и параметров биотехнологии производства магноиммуносорбента позволяет получить конечный продукт со стандартными элементарным составом, физико-химическими и иммунобиологическими характеристиками. «Набор реагентов тест-система диагностическая для выявления возбудителя туляремии в иммуноферментном анализе (ИФА)»; «Набор реагентов тест-система иммуноферментная магноиммуносорбентная для выявления возбудителя туляремии» внедрены в производство и допущены к обращению на территории Российской Федерации. Определены основные параметры биотехнологических процессов производства композиционного органокремнеземного магносорбента. Созданный стандартный образец применяется при конструировании и выпуске магноиммуносорбентных тест-систем. Подобранный метод элюции антигена расширяет возможности лабораторной диагностики инфекционных болезней и индикации их возбудителей. Представлена нормативная документация, включающая программу разработки, инструкцию по применению и свидетельство на стандартный образец магносорбента, одобренная Ученым советом и утвержденная директором института. Стандартный образец магносорбента зарегистрирован в реестре стандартных образцов институт. На Ученом «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» утверждена нормативная документация: технические условия и пусковой регламент на «Набор реагентов магноиммуносорбент туляреминый с элюирующим буфером».

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что использованные современные методы характеризуются высокой чувствительностью, объективностью и соответствуют поставленным в работе цели и задачам. Теория исследования построена на известных данных и согласуется с опубликованными экспериментальными данными, посвященными изучению сорбентов. Идея базируется на разработке стандартного образца композиционного органокремнеземного магносорбента, и конструировании на его основе

тест-системы иммуноферментной магноиммуносорбентной, позволяющей повысить специфичность и чувствительность иммуноферментного анализа до 10 м.к./мл и наладить ее коммерческий выпуск. В ходе выполнения диссертационной работы использовано более 29 штаммов микроорганизмов II, III, IV групп патогенности. Установлено, что при конструировании специфических магноиммуносорбентов для детекции возбудителей инфекций бактериальной и вирусной природы необходимо использовать разработанный алгоритм процессов и параметров биотехнологии производства туляремийного магноиммуносорбента. Для повышения чувствительности и специфичности РНГА и РАЛ необходимо использовать предварительное избирательное концентрирование искомого патогена на магносорбенте с последующей десорбцией антигена одним из элюирующих буферных растворов. Для мониторинговых эпидемиологических исследований природных очагов туляремии использован «Набор реагентов тест-системы иммуноферментной магноиммуносорбентной» с целью повышения достоверности результатов иммуноферментного анализа.

Личный вклад соискателя состоит в получении научных результатов, изложенных в диссертации, осуществлялось на всех этапах работы и выразилось в анализе и обобщении литературных данных, выполнении всего объема микробиологических, физико-химических, иммунологических, иммунохимических, биофизических исследований. Соискатель лично провела статистическую обработку и анализ полученных данных, проанализировала полученные результаты, сформулировала выводы и практические рекомендации. Получение и исследование полевого материала проводились совместно с заведующим лабораторией природно-очаговых инфекций к.б.н. Котеневым Е.С. и сотрудником лаборатории, биологом Гнусаревой О.А. ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора. Проведение генетических исследований проводились вместе с заведующим лабораторией биохимии ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, к.х.н. Ковалевым Д.А. Удельную поверхность магносорбента, суммарный объем и радиус пор, количественную оценку магнитных свойств магносорбента проводили при содействии сотрудников Северо-Кавказского федерального университета на базе кафедры технологии наноматериалов Инженерного института: д.т.н., профессора Серова А.В., старшего преподавателя кафедры Блинова А.В.

На заседании 11 февраля 2021 года диссертационный совет принял решение присудить Гаркуша Юлии Юрьевне ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 5 докторов наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 18, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета,
доктор биологических наук, профессор



Алешкин Владимир Андрианович

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор
12.02.2021

Борисова Ольга Юрьевна