

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Евдокимовой Вероники Вячеславовны
«Разработка препаратов моноклональных антител для идентификации и
дифференциации холерных вибрионов O1, O139 серогрупп
иммуноферментными методами»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических
наук по специальности 03.02.03 – микробиология

В лабораторной диагностике особо опасных инфекций, в том числе и холеры, диагностические тест-системы на основе поликлональных и моноклональных антител (МКА) применяются достаточно широко, однако поиск инструментов для быстрого и точного выявления продолжается. В задачи научных исследований входит также разработка более доступных экспрес-методов, которые в дальнейшем нашли бы место в схеме лабораторной диагностики этих заболеваний.

Для идентификации и дифференциации холерных вибрионов O1 серогруппы в настоящее время регламентировано использование диагностических антител лошадиного происхождения, а O139 серогруппы – кроличьих антител. Однако высокая степень структурного сходства O-полисахаридов холерных вибрионов Инаба и представителей *Brucella* sp., *Salmonella* sp., *Yersinia enterocolitica* 09, а также устойчивая тенденция увеличения числа штаммов холерных вибрионов не O1/не O139, агглютинирующихся холерной сывороткой O1, затрудняет диагностику холеры. Все это свидетельствует о необходимости разработки новых надежных диагностических тест-систем, желательно экономически не затратных, создание которых невозможно без высокоактивных специфических антител, в том числе и моноклональных, направленных к различным поверхностным структурам и факторам патогенности холерного вибриона.

Диссертация Евдокимовой В.В. посвящена решению научной проблемы по получению МКА к диагностически значимым антигенам *Vibrio cholerae* O1 и O139 и конструированию на их основе тест-систем с визуальным учетом результатов.

Научная и практическая ценность диссертации определяется расширением спектра имеющихся гибридом за счет получения новых, продуцирующих МКА к поверхностным антигенам холерных вибрионов. Евдокимовой В.В. были получены гибридомы-продуценты МКА, направленные к эпитопам белков наружной мембраны холерных вибрионов O1, O139, две из которых задепонированы. Панель этих МКА включает две

группы: одни узнают штаммы *V. cholerae* O1, O139 с генотипом *tcpA+*, другие взаимодействуют со штаммами *V. cholerae* O1, O139, независимо от этого гена. Диссертантом разработаны и апробированы лабораторно-экспериментальные серии холерных видоспецифических моноклональных пероксидазных конъюгатов для идентификации и дифференциации штаммов холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп в прямых методах ИФА. Причем этапы изготовления пероксидазных конъюгатов были оптимизированы применительно к используемым МКА, что заключалось в многократном пассировании гибридом в условиях *in vitro* и *in vivo* для накопления культуральной и асцитической жидкостей с моноклональными иммуноглобулинами, выборе буферных растворов, оптимальных значений температуры, соотношения пероксидазы хрена и антител, применении наиболее эффективных стабилизаторов при лиофилизации препаратов. Модификация этих этапов позволила создать диагностический набор «Иммуноглобулины моноклональные диагностические, меченные пероксидазой хрена, сухие для серологической идентификации *Vibrio cholerae* O1 и O139 (*in vitro*) методом ИФА и дот-ИФА», на который разработаны и утверждены Ученым советом института нормативно-технические документы. Диссертантом подобраны условия постановки ИФА и дот-ИФА в стационарных и полевых условиях, без приборного оснащения, что значительно удешевляет диагностику холеры и сокращает время анализа. Оценка специфичности разработанного Набора реагентов на достаточном количестве штаммов в ТИФА и дот-ИФА показала перспективность использования последнего в качестве экспресс-метода с визуальным учетом результатов для идентификации и дифференциации холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп.

Материалы диссертации отражены в 16 научных работах, из них 3 в периодических изданиях из перечня ведущих рецензируемых научных журналов, утвержденных ВАК РФ. Результаты исследований были представлены на научных конференциях (всероссийских и институтских).

Цель работы, поставленные задачи, использование методических подходов для их достижения, положения, выносимые на защиту и выводы связаны основной идейной линией и не противоречат друг другу.

Личный вклад соискателя состоит в участии во всех этапах работы: от получения гибридом и МКА до конструирования на их основе диагностических тест-систем. Подготовка основных публикаций по выполненной работе осуществлена как лично автором, так и при ее непосредственном участии.

По актуальности темы, фактическому материалу, его объему и новизне, достоверности и обоснованности выводов, научно-теоретической и практической значимости диссертационная работа **Евдокимовой Вероники Вячеславовны** «Разработка препаратов моноклональных антител для идентификации и дифференциации холерных вибрионов O1, O139 серогрупп иммуноферментными методами» отвечает требованиям п. 9. Постановления Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 «О порядке присуждения ученых степеней» (с изменениями Постановления Правительства Российской Федерации от 28 августа 2017 г. № 1024 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 - микробиология.

Заведующая кафедрой микробиологии
и вирусологии № 2 федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Ростовский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации доктор медицинских наук
(03.02.03-микробиология), профессор *Г. Харсеева* Галина Георгиевна Харсеева

344022, Россия, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29
тел. +7 (863) 2504190
e-mail: galinagh@bk.ru

Подпись Харсеевой Галины Георгиевны заверяю

Ученый секретарь ~~ученого совета~~
ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России,
доктор медицинских наук, доцент



Н. Сапронова
Наталья Германовна Сапронова