

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора ветеринарных наук, профессора Мельника Николая Васильевича на диссертационную работу **Чуриной Зои Геннадьевны** «Влияние антифитопрепаратов на перевиваемые линии культура клеток животных», представленной на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности: **06.02.02 - ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.**

Актуальность темы диссертации. В настоящее время развитие рынка новой биотехнологической продукции, получаемой с помощью Перевиваемых клеточных линий, сопровождается наращиванием объемов выпуска и потребления питательных сред, среди которых особое внимание привлекают среды на основе продуктов животного и растительного происхождения. Однако существует реальная опасность инфицирования прионами препаратов, полученных с использованием продуктов животного происхождения, поэтому государственными организациями, ведущими контроль за производствами лечебно-профилактических препаратов, было предъявлено требование ограничения применения в производстве вакцинных препаратов субстанций животного происхождения.

Вместе с тем, в настоящее время перспективным направлением в области биотехнологии, клеточной и генной инженерии является применение высокомолекулярных соединений (ВМС)- биополимеров наиболее высокой биологической активностью, из которых преобладают природные биополимеры-хитин и хитозан, полученные из ракообразных и насекомых (пчел), содержащие в своем составе белки, углеводы, аминокислоты, микро- и макроэлементы и обладающие метаболитстимулирующей, ростстимулирующей и бактерицидной активностью. Ряд исследований, и показали, что внесение в ростовые (питательные) среды биополимеров (восковой моли) значительно усиливало пролиферацию культивируемых

клеток животных - (лимфоцитов и спленоцитов) в условиях *in vitro* (Дьяконов Л.П., 2009).

Учитывая, что сочетание апипродуктов с фитопрепаратами приводит к усилению биологического действия отдельных компонентов, сотрудниками ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» была разработана хитинсодержащая натуральная биологическая активная кормовая добавка «Вита-Форце», которая является уникальной как по составу (более 400 химических соединений), так и биологическому действию (метаболизм-, рост-иммуностимулирующее, детоксицирующее, адаптогенное, антиоксидантное) в условиях *in vivo*, есть полное основание предположить, что указанный апифитопрепарат может быть использован в качестве активатора метаболизма при культивировании клеток животных в искусственных условиях (*in vivo*) для репродукции вирусов при изготовлении вакцинных препаратов.

Однако исследования по использованию апифитопрепаратов в качестве активаторов роста клеток *in vitro* единичны и не дают полного представления о роли апипродуктов в клеточной биотехнологии. В связи с тем, что активация клеточного метаболизма представляет одну из актуальных задач биотехнологии и в связи с малоизученностью вопроса о влиянии апифитопродуктов на рост и развитие клеток животных в искусственных условиях культивирования для вирусологических исследований и в связи с актуальностью проблемы, диссертантом проведены настоящие исследования.

Целью исследования являлось изучение возможности применения апифитоэкстракта из биологически активных продуктов пчеловодства (БАПП) в качестве биологической добавки в питательные среды для выращивания культур клеток и репродукции на них вирусов. В соответствии с поставленной целью необходимо было решить следующие задачи:

1. Получить апифитоэкстракт из биологически активной кормовой добавки «Вита-Форце».
2. Изучить ростстимулирующий эффект апифитоэкстракта на перевиваемые культуры клеток различных линий.

3. Изучить антимикробную активность апифитопрепарата по отношению к контаминантам питательных сред.

4. Оценить репродукцию вирусов инфекционного ринотрахеита (ИРТ) и парагриппа-3 (ПГ-3) КРС на перевиваемых линиях клеток MDBK, LEK, VERO, выращенных на апифитоэкстрактсодержащей питательной среде.

Научная новизна. На основании анализа биохимического состава и механизма действия природных биополимеров, в частности, хитина, хитозана и хитинсодержащих биологически активных продуктов пчеловодства (БАПП), обоснована возможность применения этих соединений в качестве активаторов метаболизма культивируемых клеток животных; экспериментально подтверждена возможность получения апифитоэкстракта из хитинсодержащих БАПП, с целью использования его в качестве ростстимулирующего фактора- биодобавки в питательные среды для культивирования клеток *in vitro*; методом этанолового экстрагирования БАПП получен апифитоэкстракт (АФЭ), содержащий 160 мг % сухих экстрактивных веществ; оптимизированы условия монослойного выращивания перевиваемой линий клеток МДВК в питательной сред Игла MEM, содержащей 0,9-1,1 г/л апифитокомплекса АФЭ, обеспечивающая через 48ч культивирования накопление клеток со степенью размножения $\mu t=3,32 \log$ и индексом пролиферации ИП=5,3; установлена возможность профилактики бактериальной контаминации различных линий клеток при культивировании их в АФЭ- содержащей питательной среде, исключая, тем самым, из технологического цикла применение антибиотиков в качестве антибактериальных субстанций; впервые проведена оценка репродукции вирусов ИРТ и ПГ-3 крупного рогатого скота на перевиваемых культурах клеток линий МДВК, LEK и VERO, с добавлением в ростовую среду апифитоэкстракта из БАПП.

Практическая значимость работы. В результате проведенных исследований диссертантом разработана технология получения апифитоэкстракта и определены оптимальные условия препарата для

стимуляции метаболизма культур клеток в условиях *in vitro*, а также сконструированы питательные среды на его основе, пригодные для культивирования клеток МДБК, LEK и VERO, обеспечивающие высокую ростовую активность клеток *in vitro* и репродукцию на них вирусов.

Достоверность результатов подтверждается сравнительными корреляционными исследованиями, их воспроизводимостью и статистическим анализом.

Научные выводы и практические предложения теоретически и экспериментально обоснованы, что подтверждается фактическими данными. Они логически вытекают из содержания работы, согласуются с поставленными целью и задачами.

Диссертантом выполнен значительный объем работы с использованием биохимических показателей, индекса пролиферации и репродукции вирусов на различных клеточных линиях, что подтверждает достоверность полученных результатов. Выводы обоснованы и объективно отражают материалы собственных исследований диссертанта.

Полученные диссертантом результаты открывают перспективу дальнейших интересных исследований в этой области и рекомендуются к использованию в ветеринарной лабораторной практике.

Следует отметить, что в рассматриваемой диссертационной работе Чуриной З.Г. нет существенных изъянов, которые могли бы снизить ее значимость для науки и практики, однако возникли отдельные вопросы, пожелания и замечания:

1. Каков механизм стимулирующего действия апифитоэкстракта на культуре клеток?

2. Какова стоимость апифитопрепарата «Вита-Форце» и кто его производит?

3. В своих исследованиях вы использовали MDBK культур клеток. Почему вы остановились именно на этих клетках?

Замечания. Принципиальных замечаний по работе нет.

Заключение. По своей актуальности, объему выполненных исследований, научно-практической значимости диссертация «Влияние апифитопрепаратов на перевиваемые линии культура клеток животных» соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Чурина Зоя Геннадьевна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата ветеринарных наук.

Президент Национальной ассоциации
организаций ветеринарно-биологической
промышленности «Ветбиопром»,
доктор ветеринарных наук, профессор,
член-корреспондент РАЕН,
Заслуженный ветеринарный врач РФ,
Лауреат Премии Правительства РФ.

Адрес: Москва, Садовая-Спаская, 11/1

Тел.: 8 (495) 411-83-70

e-mail: a-vbp@mail.ru

14 мая 2018 года



Николай Васильевич Мельник

Подпись Н.В. Мельника заверяю:

Советник ассоциации

«Ветбиопром»

Мария Викторовна Шабейкина