

УТВЕРЖДАЮ:

Директор ФГБНУ «Федеральный центр
токсикологической, радиационной
и биологической безопасности»,

А.И. Никитин

« 27 » 2017 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической
безопасности (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»)

Диссертация «Антимикробная активность и ростстимулирующее действие апифитопрепарата на культуры клеток животных» выполнена в лаборатории культуры клеток и питательных средах отдела биологической безопасности федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности «ФЦТРБ-ВНИВИ».

В период подготовки диссертации с 2013-2017года Чурина Зоя Геннадьевна являлась соискателем ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» отдела биологической безопасности, в настоящее время работает сотрудником научно-исследовательского отдела ФГБОУ ВО «Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана».

В 2001 году окончила федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» по специальности «Ветеринария».

Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2017 году федеральным

государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана».

Научный руководитель – Плотникова Эдие Миначетдиновна, доктор ветеринарных наук, доцент, заведующая лабораторией культуры клеток и питательных сред отдела биологической безопасности федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»).

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Актуальность проблемы. 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 производством лечебно-профилактических препаратов было предъявлено требование ограничения применения в производстве вакцинных препаратов на основе субстанций животного происхождения.

Вместе с тем, в настоящее время перспективным направлением в области биотехнологии, клеточной и генной инженерии является применение высокомолекулярных соединений (ВМС) – биополимеров, из которых наиболее высокой биологической активностью обладают 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. Исследованиями установлено, что внесение в ростовые (питательные) среды биополимеров (восковой моли) значительно усиливало пролиферацию культивируемых клеток животных – (лимфоцитов и спленоцитов) в условиях *in vitro*.

Учитывая, что сочетание апипродуктов с фитопрепаратами приводит к усилению биологического действия отдельных компонентов, сотрудниками ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» была разработана хитинсодержащая натуральная композиция «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 vitro*, есть полное основание предположить, что указанный апифитопрепарат может быть использован в качестве активатора метаболизма при культивировании клеток животных в искусственных условиях (*in vitro*) 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, а также в связи с актуальностью проблемы, нами проведены настоящие исследования.

Установлено, что хитинсодержащие продукты пчеловодства обладают метаболизм-, иммуно-, гемопоз – и ростостимулирующим действием в условиях *in vivo*. Однако влияние биополимеров, в частности, продуктов пчеловодства, на культивируемые клетки в условиях *in vitro*, единичны. Вопрос о влиянии хитинсодержащего апифитопрепарата на перевиваемые клетки животных для репродукции вирусов остается неизученным.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации.

Автором диссертации лично проведено большинство исследований по изучению возможности применения апифитоэкстракта из биологически активных продуктов пчеловодства в качестве биологической добавки в питательные среды при выращивании культур клеток и репродукции на них вирусов.

Доля автора в опубликованных работах – 85%. При выполнении отдельных этапов работы принимали участие к.в.н. Каримуллина И.Г.

Научная новизна работы. 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; впервые 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 перевиваемых линий клеток MDBK в питательной среде Игла MEM, содержащей 0,9–1,1 г/л апифитокомплекса, обеспечивающий через 48ч культивирования накопление клеток со степенью размножения $\mu t=3,32$ и индексом пролиферации ИП=5,3; впервые 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 MDBK, LEK и VERO, с добавлением в ростовую среду апифитоэкстракта из БАПП.

По результатам проведенных исследований разработаны «Методические рекомендации по получению и применению апифитоэкстракта для активации клеточных культур», утв. директором ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ».

Новизна научной исследований подтверждена положительным решением заявкой на изобретение на выдачу Патента от 22.12.2017г. № 2016150760 (081424).

Практическая значимость работы. В результате проведенных исследований разработана технология получения апифитоэкстракта из биологически активных продуктов пчеловодства (БАПП), а также сконструированы питательные среды на его основе, пригодные для культивирования клеток MDBK, LEK и VERO, обеспечивающие высокую ростовую активность клеток *in vitro* и репродукцию на них вирусов.

Специальность, которой соответствует диссертации. Диссертация соответствует паспорту специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология (п. 2. Теоретические и прикладные проблемы экологии микроорганизмов и вирусов; п. 3. Генетика и селекция, культивирование бактерий, вирусов, грибов. Создание новых штаммов микроорганизмов, разработка, стандартизация, технология и контроль производства биопрепаратов на основе патогенных микроорганизмов).

Апробация работы. Материалы диссертации доложены и обсуждены на заседаниях ученого совета ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» по итогам НИР за 2013–2017гг.; третьем Международном ветеринарном конгрессе «Ветеринария на пути инновационного развития агропромышленного комплекса». (Алматы, 2015г.); Международной научной конференции студентов, аспирантов и

молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны (Санкт-Петербург», 2015г.); Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э.Баумана. – (Казань, 2016г.); Влияние апифитопрепарата на микробные контаминанты культуральных сред. Журнал Ветеринарный врач (Казань, 2017г.).

Публикации результатов исследований.

Основные результаты исследований опубликованы в 5 научных работах, в том числе – 2 в изданиях, включенных в перечень ВАК Минобрнауки РФ. Диссертация «Антимикробная активность и ростстимулирующее действие апифитопрепарата на культуры клеток животных» Чуриной Зои Геннадьевны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 06.02.02 ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология.

1. Плотникова, Э.М. Влияние гамма - стерилизации питательных сред на рост и развитие культур клеток / Э.М. Плотникова, А.В. Иванов, Р.Н. Низамов, Г.В. Конюхов, Н.И. Гурьянов, **З.Г. Чурина** // Ветеринария. - 2015. - № 5. - С.57-58.*

2. Плотникова, Э.М. Способ повышения выживаемости облученных клеток MDBK, используемых при получении противовирусных вакцин / Э.М. Плотникова, Р.Н. Низамов, Р.Г. Фазлиахметов, **З.Г. Чурина** // Матер. 3 международного ветеринарного конгресса «Ветеринария на пути инновационного развития агропромышленного комплекса» - Алматы. - 2015. - С. 221-226.

3. Плотникова, Э.М. Биодобавка на основе апипродуктов в питательные среды для выращивания культур клеток и репродукции вирусов / Э.М. Плотникова, **З.Г. Чурина**, Р.Н. Низамов // Матер. Межд. научн. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны – Санкт-Петербург. – 2015. - С. 165-166.

качестве стимуляторов роста и развития животных / Ф.А.Медетханов, З.Г. Чурина, А.С. Соловьева // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана.– Казань.- 2016. Т.- 228(IV) - С.71-73.*

5. Чурина З.Г. Влияние апифитопрепарата на микробные контаминанты культуральных сред./ З.Г. Чурина // Ветеринарный врач-2017.-№4 С.25-29. *

Заключение принято на расширенном заседании отдела биобезопасности.

Присутствовали на заседании 17 чел. Результаты голосования: «за» – 17 чел., «против» – нет, «воздержалось» – нет, протокол № 9 от 26 декабря 2017 года.

Зам директора по НИР,
доктор ветеринарных наук, профессор



Василевский Николай
Михайлович