

## ВІДГУК

опонента, доктора медичних наук, професора, Кременчуцького Геннадія Миколайовича на докторську дисертаційну роботу Єлисеєвої І.В. *«Теоретично-прикладні основи одержання і застосування нативних антигенів *C.diphtheriae* для створення парентеральних та мукозальних протидифтерійних вакцин»*, подану до спеціалізованої вченої Ради Д64.618.01 ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України» на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія.

**Ступінь актуальності обраної теми.** Дисертація, яка читається з неослабною зацікавленістю, завжди присвячена новим ідеям. В даному випадку мова йде про різнопланові дослідження, які, незважаючи на широке коло порушених для вивчення питань, по спрямованості являють собою єдину наукову працю.

Дисертація відзначається авторським баченням вирішення проблеми підвищення ефективності профілактичної роботи проти поширення дифтерійної інфекції. В роботі обґрунтовано доктрину розробки попереджувальної системи специфічної профілактики, котра базується на створенні нових вакцинних препаратів та застосуванні в розширеному обсязі заходів, спрямованих проти розвитку бактеріоносійства.

Автор цілком справедливо вважає, що існуюча система протиепідемічних заходів стосовно дифтерії безумовно забезпечує зниження захворюваності до спорадичного рівня, але мало впливає на інтенсивність циркуляції збудника серед населення, що приводить до поширення легких та безсимптомних форм інфекції. Це є головною причиною формування територіальних, іноді в межах багатьох регіонів та навіть країни, резервуарів інфікованих осіб, вплив яких на розвиток епідемічного процесу важко передбачити.

Проблема боротьби з персистенцією збудника дифтерії залишається на сьогоднішній день не вирішеною і відноситься до проблем можливого розв'язування в майбутньому. Дана дисертація значно наближає це майбутнє. Робота привертає увагу тим, що вона присвячена не удосконаленню існуючої системи, а створенню нової мережі заходів, які лише частково базуються на досвіді минулого. Перш за все автор дисертації в якості основного положення доктрини визначив розробку способу одержання нативних антигенів з протективними властивостями. Про необхідність переходу від вакцин, приготовлених за допомогою хімічних реагентів, на профілактичні засоби, що не модифікуються хімічними чинниками відомо з матеріалів багатьох наукових джерел. Проте на сьогоднішній день відсутні методи, які на практиці з успіхом застосовуються з цією метою замість хімічних технологій. Саме з вирішення цього питання починається експериментальна частина роботи.

Дисертант в роботі виходила з основних положень сучасної теорії імунітету, яка ґрунтується на положенні про те, що відповідь на будь-який чужорідний елемент екзогенної і ендогенної природи розвивається в результаті взаємодії компонентів системи природженого імунітету і адаптивного імунітету, що потребує розробки нових підходів до створення вакцинних препаратів. Способи одержання протективних антигенів за допомогою технологічних прийомів зворотної вакцинології та протеомної технології, також за допомогою використання генетичних методів поки що не знайшли широкого застосування в силу великих фінансових витрат.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дослідження за темою дисертації проведені в рамках п'яти науково-дослідних робіт на базі лабораторії профілактики краплинних інфекцій ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова НАМІ України» впродовж 2005-2019 р.р.: «Вивчення ад'ювантних властивостей поверхневих антигенів, безстіночних клітин, фрагментів ДНК умовно-патогенних коринебактерій» (№ держреєстрації 010511001110), «Біологічна

характеристика антигенів збудників дифтерії, кашлюку та туберкульозу, виділених за допомогою фізико-хімічних методів» (№ держреєстрації 0108U001295), «Підвищення безпечності та ефективності вакцинопрофілактики дифтерії і кашлюку шляхом перорального щеплення з подальшим проведенням парентеральної вакцинації» (№ держреєстрації 0111U004734), «Дослідження імуногенності дифтерійного анатоксину сумісно з поверхневими антигенами diphtheriae і методи подвійного контролю їх безпечності» (№ держреєстрації 0114U000246), «Визначити вплив кашлюково-дифтерійних антигенів на клітинно-опосередкований імунітет та обґрунтувати концептуальні положення створення вакцин у форсуючому режимі» (№ держреєстрації 0117U002276). Дисертант була відповідальним виконавцем зазначених тем.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації підтверджується наявністю чітко сформульованої програми і завдань дослідження, об'єктами яких були музейні штами коринебактерій ДУ «ІМП НАМН»: *Corynebacterium diphtheriae*, var. *mitis*, tox- (штам № 58), *C. xerosis* (штам № 47), *C. pseudodiphtheriticum* (штам № 49), *C. diphtheriae* var. *gravis*, tox+ № 255, *C. diphtheriae* var. *gravis*, tox+, massachussets, *C. diphtheriae* var. *gravis*, tox+, виділений при профілактичному обстеженні, а також *Lactobacillus plantarum* (штам № 10); одержані з них бактеріальні антигенні препарати; нативний очищений дифтерійний анатоксин; експериментальні комбіновані дифтерійні вакцини з бактеріальним компонентом; післявакцинальний гуморальний дифтерійний імунітет; неспецифічний імунний захист організму. Предметом дослідження були визначені ад'ювантні, адгезивні, імуногенні властивості, специфічна нешкідливість нативних бактеріальних поверхневих антигенів збудника дифтерії, одержаних за допомогою дезінтеграції мікроорганізмів фізичними чинниками як основи для створення парентеральних та мукозальних

комбінованих дифтерійних вакцин. Застосований широкий спектр методів дослідження, адекватних поставленій меті та завданням дослідження, а саме: бактеріологічні (культивування штамів *C. diphtheriae*, накопичення мікробної маси коринебактерій для подальшої дезінтеграції, дослідження мікрофлори слизової оболонки носу піддослідних тварин); дезінтеграція мікроорганізмів фізичними чинниками (ультразвук, ЕМВ НЗВЧ); метод рідинної гель-хроматографії (очищення експериментальних антигенних препаратів); біохімічні (склад експериментальних антигенних препаратів); серологічні (РПГА з сироватками крові вакцинованих тварин); імунологічні (визначення активності фагоцитозу, показників пошкодження нейтрофілів, рівня циркулюючих імунних комплексів, шкірних алергічних реакцій, феномену Артюса); біологічні (вакцинація, зараження, специфічна нешкідливість експериментальних вакцин); аналітичні та медико-статистичні (аналіз одержаних результатів та обчислення їх достовірності), та статистична обробка даних забезпечили одержання достовірних та репрезентативних результатів для об'єктивних висновків, який забезпечується чималим обсягом 33 мурчаків. Проведено біохімічний аналіз 186 зразків експериментальних антигенних препаратів. Білки антигенних фракцій досліджуваних препаратів (26 зразків) характеризували за молекулярною масою методами електрофорезу та гель-хроматографії. В РПГА досліджено 645 зразків крові піддослідних кролів. Визначений вплив на адгезивні властивості тест-об'єктів у 35 препаратах. Визначено активність фагоцитозу у 48 зразках крові; показники комплементу – у 13 зразках; поставлено 20 реакцій імунолейкоцитолізу; у 37 зразках крові визначено рівні ЦК.

Представлені в роботі наукові положення, висновки і рекомендації ґрунтуються на фактичних матеріалах дисертаційного дослідження.

Проведений аналіз та узагальнення даних при оцінці отриманих результатів власних досліджень логічні та обґрунтовані, висновки відповідають завданням, які поставив дисертант. Викладення матеріалу дисертації є послідовним, логічним, відповідним до поставленої мети, супроводжується

достатньою кількістю рисунків та таблиць, які наглядно ілюструють одержані результати та висновки на їх основі.

Матеріали та методи повністю відповідають поставленим меті та задачам, на яких базується виконана робота. В методичному плані дослідження проведені на високому рівні з використанням сучасних методик. Можна тільки висловити побажання завершити до клінічні дослідження кандидат-вакцин клінічним вивченням їх ефективності.

**Достовірність результатів і їх новизна.** Показано, що існуюча стратегія специфічної вакцинопрофілактики, що націлена на екстенсивний шлях масового охоплення населення щепленнями, не перешкоджає поширенню дифтерійної інфекції через здорових бактеріоносіїв та легкі, не діагностовані, форми інфекції, і потребує перегляду. Для підвищення ефективності вакцинопрофілактики дифтерії вперше в світі запропоновано комбіновану дифтерійну кандидат-вакцину з бактеріальним компонентом без хімічного ад'юванту гідроксиду алюмінію.

Вперше, на основі застосування фізичних факторів дезінтеграції бактерій, розроблено технологію одержання нативних, хімічно не змінених, поверхневих антигенних комплексів збудника дифтерії з ад'ювантною та імуногенною дією як біологічних платформ для нового класу комбінованих парентеральних та мукозальних дифтерійних вакцин.

Обґрунтовано оптимальний продуктивний режим дезінтеграції мікробних клітин одержання препарату поверхневих антигенів *C. diphtheriae*: застосування триразового ступінчастого опромінення мікробної суспензії середньочастотним ультразвуком малої потужності при оптичній щільності вихідної суспензії 4,0 од. McF. Показано, що підвищення потужності ультразвуку понад 15 Вт/см<sup>2</sup> призводить до більш глибокого руйнування мікробних клітин, про що свідчить істотне збільшення нуклеїнових кислот у препараті. Також показано дезінтегруючу дію на бактеріальні клітини 4-годинного електромагнітного випромінювання надзвичайно високої частоти (61 ГГц). Вперше показано, що усі одержані експериментальні препарати

субклітинних комплексів *C.diphtheriae* чотирьох рівнів дезінтеграції мікробних клітин та ступені очищення (дезінтеграція, супернатант, супернатант фільтрований, очищені за допомогою рідинної препаративної гель-хроматографії білкові фракції) у значній мірі стимулюють дифтерійний гуморальний імунітет при введенні з нативним очищеним дифтерійним анатоксином в парентеральних, пероральних і комбінованих схемах щеплення, але вони відрізняються за ступенем реактогенності. Доведено, що очищені білкові фракції характеризуються відсутністю будь-яких шкірних реакцій в дослідах на лабораторних тваринах.

Запропоновані та реалізовані практичні шляхи запобігання розвитку шкірних реакцій на експериментальну комбіновану дифтерійну вакцину, а саме: зменшення концентрації білку у бактеріальному антигенному компоненті 2-3-го рівня дезінтеграції мікробних клітин із визначенням мінімальної ефективної дози. Вперше реалізовано принцип пероральної антиген-специфічної імунотерапії щодо застосування десенсибілізуючих комбінованих схем щеплення і показано, що попереднє пероральне введення компонентів експериментальної комбінованої дифтерійної вакцини усуває формування шкірної реакції у кролів при наступному внутрішньошкірному їх введенні.

Показано ефективність пероральної бустер-імунізації як у складі первинного щеплювального комплексу, так і при віддаленій (через рік) ревакцинації, а також можливість зменшувати до 5 разів подальшу дозу дифтерійного анатоксину на основі первинної пероральної вакцинації НОДА болюсною дозою: рівень анитоксинів у РПГА у піддослідних кролів збільшувався понад 4 розведення. Показано специфічну нешкідливість експериментальних серій досліджуваних дифтерійних бактеріальних антигенних препаратів, одержаних у виробничих умовах, у тестах визначення загальнотоксичної та дермонекротичної дії, а також у тесті лейкоцитоліза, визначення рівня циркулюючих імунних комплексів. Встановлено ефективну

та безпечну дозу бактеріального компонента експериментальної комбінованої дифтерійної вакцини (0,02-0,14 мг/мл).

Вперше показано, що експериментальні бактеріальні антигенні препарати, виготовлені авторським способом з мікробних культур різних представників коринебактерій, а саме: *C.diphtheriae*, var.gravis, tox+, *C.diphtheriae* var. mitis, tox-, *C.pseudodiphtheriticum*, *C.xerosis*, а також *Lactobacillus* spp. істотно підсилюють процеси фагоцитарної активності нейтрофілів ( $t > 2$ ;  $P = 0,05$ ). Вперше показано, що дослідний бактеріальний антигенний препарат, виготовлений із штаму *C.diphtheriae*, var.gravis, tox+, достовірно підвищував показники фагоцитарної активності нейтрофілів у кролячій крові після другої і третьої вакцинації з інтервалом 1 місяць у порівнянні з дією першого антигенного стимулу ( $t > 2$ ;  $P = 0,05$ ).

Вперше показано антиколонізаційну активність експериментальних антигенних препаратів шляхом двотижневого моніторинга елімінації збудника з слизових носу щеплених досліджуваними кандидат-вакцинами кролів, заражених інтраназально культурою *C.diphtheriae*, на основі запропонованого способу моделювання транзитного дифтерійного бактеріоносійства. Встановлено, що основою анти-адгезивної спрямованості комбінованої кандидат-вакцини є можливість впливу за допомогою фізичних факторів на адгезивні властивості культури *C.diphtheriae*, про що свідчить також антиадгезивна активність сироваток крові кролів, щеплених дослідними антигенними препаратами.

**Практичне значення отриманих результатів полягає в тому, що науково обґрунтовано принципи застосування комбінованих дифтерійних вакцин з бактеріальним компонентом як перспективного заходу щодо підвищення безпеки вакцинопрофілактики дифтерії, перешкоджання бактеріоносійству та циркуляції збудника серед населення в парентеральних, пероральних та комбінованих схемах імунізації при здійсненні екстреної профілактики в осередках захворювання на дифтерію та для бустер-імунізації населення. Одержані експериментальні зразки антигенних препаратів з**

імуногенною та ад'ювантною дією. Розроблено і апробовано на Харківському виробництві АТ «Біолік» технологічну схему процесу одержання комбінованих дифтерійних вакцин з бактеріальним компонентом у виробничих умовах з використанням відходів дифтерійного виробництва; дано наукове обґрунтування технологічного процесу їх виготовлення. Запропоновано макет аналітико-препаративної установки для ультразвукової дезінтеграції мікробної маси виробничого штаму, призначений для одержання нативних антигенів бактеріальних клітин у єдиному технологічному процесі у промислових об'ємах виробництва. Практичне значення отриманих результатів підтверджується наявністю 3 патентів України на корисну модель: «Спосіб отримання бактерійного дифтерійного антигену»: патент України № 86891, «Спосіб моделювання транзитного дифтерійного бактеріоносійства»: патент України № 112583, «Спосіб підвищення резистентності слизових оболонок дихальних шляхів організму до інфікування збудником дифтерії (в експерименті)»: патент України № 111081. Основні матеріали й положення дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес і наукову роботу кафедри клінічної мікробіології та імунології Харківської медичної академії післядипломної освіти, кафедри молекулярної та медичної біофізики ХНУ ім. В.О. Каразіна, кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії НТУ «Харківський політехнічний інститут»), АТ «Біолік», про що є шість актів впровадження.

#### **Відповідність дисертації профілю спеціалізованої вченої ради.**

Дисертація за актуальністю обраної теми, змістом та обсягом матеріалу, науковою новизною, практичним значенням відповідає спеціальності 03.00.07 - мікробіологія та профілю спеціалізованої вченої ради Д64.618.01.

**Характеристика розділів, оцінка змісту дисертації, її завершеність в цілому.** Дисертація викладена українською мовою, побудова дисертації традиційна: вона складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 11 розділів власних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел та трьох додатків. Матеріали викладені в



логічний формі. Загальний обсяг дисертації – 435 сторінок; обсяг основної частини 312 сторінок. Список використаних джерел складається з 600 посилань.

В роботі представлено авторське бачення стратегії стосовно профілактичної роботи проти дифтерії, яка включає стимуляцію природженого імунітету, застосування адгезинів, можливість проведення бустер-імунізації, контроль безпечності профілактичних препаратів.

Літературний огляд написаний з всебічним аналізом та авторським узагальненням. Можливо, надмірно деталізований розгляд особливостей епідемічного процесу дифтерії в різних країнах, але така інформація, нехай не зовсім пов'язана з темою, надає більш глибоке розуміння авторського бачення вирішення поставлених в дисертації проблем.

В дисертації представлено обґрунтування нового метода виділення нативних антигенів, які розташовані на поверхні клітинної стінки збудника дифтерії. Перевага даного технологічного прийому виражається в простоті виконання часткової дезінтеграції мікробних клітин і високою біологічною активністю одержаних поверхневих структур.

В розділах показано, що виділені антигени відносяться до комплексів, до складу яких входять білки, пептиди, в невеликих концентраціях вуглеводи та ліпіди, а також тейхоєві кислоти. Біохімічні дослідження різних зразків дезінтегратів дали схожі результати з невеликими відхиленнями. Ідеологічно дана робота слідує дослідженням Шмельової О. О. Але спільні за напрямком роботи суттєво відрізняються в методичному виконанні. В попередніх роботах Шмельовою О. О. запропоновано бактеріальну ліофілізовану вакцину «Кодивак», у складі якої використовували структурні компоненти клітинних стінок симбіонтних коринебактерій *C. diphtheriae tox -*, одержані за допомогою ультразвукової дезінтеграції, тоді як автором дисертації в якості бактеріального препарату запропоновано розчинні поверхневі антигени *C. diphtheriae tox +* в якості ад'юванту до дифтерійного анатоксину.

Як виявилось, поверхневі антигени мають унікальні властивості. Вони проявляють здатність підсилювати формування більш напруженого антитоксичного імунітету, що дає можливість не використовувати в технології одержання в промислових масштабах хімічні сорбенти. По даним літератури, сорбентам відводиться значна роль у токсичній дії дифтерійних вакцин.

Автор вперше запропонувала нативні адгезини і показала в експериментальних дослідженнях ефективність застосування їх сумісно з анатоксином при відтворенні на лабораторних тваринах моделі персистуючої форми дифтерійної інфекції – транзитного бактеріоносійства. Ця частина роботи претендує на світову новизну.

Слід відзначити фрагмент дисертації, присвячений проблемі, яка широко обговорюється в наукових публікаціях. Вона стосується багатьох інфекцій, проти яких проводиться щеплення. Вчених турбує зниження впливу бустер-імунізації на напруженість колективного імунітету у вакцинованих дітей та дорослих. Вирішення цієї складної проблеми автор роботи бачить в розробці та застосуванні пероральних вакцин для бустер-імунізації.

Проблема бустер-імунізації має відношення не тільки до вакцинації проти дифтерії. Застосування профілактичних препаратів вплинуло на інтенсивність циркуляції патогенів при багатьох інфекційних захворюваннях. Тому приведені в розділі підходи до вирішення даної проблеми по відношенню до профілактичної роботи проти дифтерії на основі бустер-імунізації за допомогою пероральних вакцин може набути узагальнюючого значення.

Як показано в досліджах, такі вакцини на основі поверхнево-клітинних антигенів збудника дифтерії здатні посилювати напруженість антитоксичного імунітету у лабораторних тварин. Очевидно мова йде про стимулювання гуморального імунітету, а також природжених захисних механізмів. Цей розділ, незважаючи на пошукову спрямованість, може

набути з часом фундаментального та практичного значення в підвищенні ефективності профілактичної роботи.

В дисертації приділено значну увагу питанню безпечності кандидат-вакцини на основі поверхневих антигенів. Для цього обґрунтовано методику контролю за проявом шкірних токсичних реакцій. Як видно із приведених результатів, запропоновані оціночні критерії дозволяють більш точно надати інформацію про вплив вакцинних препаратів на макроорганізм після щеплення.

Автореферат по змісту відповідає представленим в дисертації матеріалам. Робота написана хорошою літературною мовою. Результати роботи опубліковані в англomовній монографії за кордоном та у 46 наукових працях. Принципових зауважень щодо змісту дисертації немає, а внесені при рецензуванні уточнення автором враховані.

#### **Повнота викладу одержаних результатів в опублікованих працях.**

Результати дисертації опубліковано в 47 наукових працях, серед них 1 монографія, видана за кордоном англійською мовою, 27 статтях (25 – у наукових фахових журналах, 1 – у збірці матеріалів міжнар. наук.-практ. конф, 22 – включено до міжнародних наукометричних баз), 3 патенти України на корисну модель, 17 тез доповідей у матеріалах наукових форумів, з'їздів та конференцій. В тому числі на Першому національному форумі імунологів, алергологів, мікробіологів, паразитологів (за участю міжнародних спеціалістів) (Харків, 16-17 травня 2019 р.); міжнародній науково-практичній конференції «Охорона та захист здоров'я людини в умовах сьогодення» (Київ, 2-3 листопада 2018 р.); з'їзді Товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського (Одеса, вересень 2017 р.); науково-практичній конференції «Здобутки та перспективи у боротьбі з інфекційними захворюваннями (мікробіологія, ветеринарія, фармація) (Харків, 18-19 травня 2017 р.); науково-практичній конференції, присвяченій щорічним Читанням пам'яті академіка Л. В. Громашевського та 120-річчю ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського

Національної академії медичних наук України». (Київ, 12-13 жовтня 2016 р.); 8-му національному з'їзді фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (Харків, 13-16 вересня 2016 р.); The II International Scientific Conference on Microbiology and Immunology-the development outlook in the 21st century (Kyiv, April 2016); науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів «Актуальні питання боротьби з інфекційними захворюваннями», присвяченій 170-річчю з дня народження І. І. Мечникова (Харків, травень 2015 р.); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Епідеміологічні дослідження в клінічній та профілактичній медицині: досягнення та перспективи», присвяченій 210-й річниці Харківського національного медичного університету та 85-річчю кафедри епідеміології (Харків, 12-13 березня 2015 р.); 4-й Міжнародної науково-практичної конференції «Современные достижения фармацевтической технологии и биотехнологии» (Харьков, 16-17 октября 2014 г.); науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів «Стратегія і тактика боротьби з інфекційними захворюваннями» (Харків, 17-18 жовтня 2012 р.); науково-практичній конференції «Довкілля і здоров'я» (Тернопіль, 27-28 квітня 2012 р.); XV з'їзді українського науково-медичного товариства мікробіологів, епідеміологів та паразитологів ім. Д. К. Заболотного «Проблеми та еволюція епідемічного процесу і паразитарних систем провідних інфекцій сучасності» (Харків, 23-25 листопада 2011 р.); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми епідеміології, мікробіології та гігієни» (Львів, 20-21 травня 2010 р.); XII з'їзді товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського (Ужгород, 25-30 травня 2009 р.); науково-практичній конференції «Епідеміологія, сучасні методи діагностики та профілактики гострих інфекцій дихальних шляхів» (Київ, 7-8 лютого 2007 р.); науковій конференції «Пошук та розробка нових профілактичних і лікувальних протимікробних засобів, антисептиків, дезінфектантів та пробіотиків» (Харків, 20-21 листопада 2006 р.); міжнародної наукової

конференції «Стратегія и тактика боротьбы с інфекционными захворюваннями» (Харьков, 23-24 октября 2001 г.).

Є деякі питання до дисертанта:

1. Як ви пояснюєте, що застосування мінерального ад'юванта – гелю гідроксиду алюмінію в комплексі з бактеріальними антигенами дифтерії не впливало на динаміку титрів антитіл?
2. Як ви вважаєте, який механізм стимуляції антигенних препаратів № 3 і №4 (*C. pseudodiphtheriticum* (№ 3), *Lactobacillus* spp. (№ 4) на показники фагоцитоза *C. diphtheriae* і, навпаки, інгібуючого ефекту препарату №2, приготованого з штаму *C. xerosis*, на той же показник в експерименті у кроликів.
3. Як ви думаєте, чому препарати отримані з плазмолізом бактеріальної маси в гіпертонічному сольовому розчині перед обробкою ультразвуком стимулювали фагоцитоз тест-культури *C. diphtheriae* більшою мірою ніж аналогічні препарати, отримані без плазмолізу?
4. Відсутність яких компонентів в ацелюлярних антигенних препаратах знижувало їх реактогенність *in vivo* в порівнянні з антигенними препаратами *C. diphtheriae* отриманими із зруйнованих ультразвуком і відмитих мікробних клітин?
5. Чи визначалася різниця у фізико-хімічній структурі поверхневих антигенів *C. diphtheriae* в порівнянні з експериментальними зразками, отриманих із глибоких структур клітин збудника (клітинні стінки, лізат протопластів), а також антигенів отриманих з допомогою хімічних реагентів (ЕДТА, ектерицид), у зв'язку з тим, що останні не впливали на посилення гуморального імунітету проти дифтерії та активність фагоцитозу *C. diphtheriae*?
6. Як ви пояснюєте синергічну дію комплексу бактеріального антигену з очищеним дифтерійним анатоксином щодо пригнічення колонізації *C. diphtheriae* в експерименті у кроликів у порівнянні з тваринами імунізованих анатоксином?

Дисертаційна робота Єлисеєвої І.В. «Теоретично-прикладні основи одержання і застосування нативних антигенів *C.diphtheriae* для створення парентеральних та мукозальних протидифтерійних вакцин», що представлена до захисту в спеціалізовану Раду Д64.618.01 ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України» на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук, є самостійною завершеною науково-дослідженою працею, що містить наукові положення та науково обґрунтовані результати.

Дисертаційна робота Єлисеєвої І.В. за актуальністю, науковою новизною отриманих результатів теоретичною та практичною цінністю є такою, що відповідає вимогам щодо докторських дисертацій, які визначено п.11-12 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року № 567 (із змінами внесеними згідно з постановою Кабінету Міністрів України від 19.08.2015 р. № 656 від 30.12.2015 р. № 1159, від 27.07.2016 р. № 657) та наказом Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 р. № 40 «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», а її автор – Єлисеєва Ірина Віталіївна заслуговує присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 0300.07 – мікробіологія.

Професор кафедри мікробіології,  
вірусології, імунології та епідеміології  
ДУ "Дніпровська державна  
медична академія МОЗ України",  
доктор медичних наук. професор

*Григоренко*  
Кременчуцький Г.М.

