

ОТЗЫВ

**на автореферат диссертации Симаковой Дианы Игоревны
на тему: «Конструирование видоспецифического антигенного полимерного
препарата для серологической диагностики псевдотуберкулеза»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических
наук по специальности 03.02.03- микробиология**

Сохраняющееся на протяжении многих лет пристальное внимание к псевдотуберкулезу обусловлено тем, что в Российской Федерации ежегодно регистрируют около 3 тысяч случаев данного заболевания. В настоящее время особую тревогу клиницистов вызывают неблагоприятные последствия перенесенной инфекции, вызванной *Yersinia pseudotuberculosis*, в частности, хронизация и формирование иммунопатологических синдромов с исходом в системный аутоиммунный процесс. Высокая частота формирования неблагоприятных исходов (10-55 %) при псевдотуберкулезе свидетельствует о том, что проводимые диагностика и лечение больных во многом интуитивны и недостаточно эффективны, что, вероятно, связано с непониманием «тонких» иммунопатогенетических механизмов формирования рецидивирующего, затяжного и хронического течения заболевания. Помимо многообразия клинических проявлений и отсутствия патогномоничных симптомов своевременной постановке диагноза «псевдотуберкулез» мешает и несовершенство современных средств лабораторной диагностики. В настоящее время с целью подтверждения диагноза заболевания применяют классический бактериологический метод, но эффективность его составляет лишь 7-10 %. Также для экспресс-диагностики в остром периоде заболевания используют метод полимеразной цепной реакции, однако в поздние сроки болезни его информативность снижается, поэтому в большинстве случаев подтверждение и постановка окончательного диагноза основывается на результатах серологических исследований, проводимых у нас в стране в форматах реакции агглютинации (РА) или реакции непрямой гемагглютинации (РНГА).

На сегодняшний день в качестве антигенов для РНГА и РА используют преимущественно липополисахариды, которые не всегда, особенно в ранний

период заболевания, обеспечивают желаемую чувствительность и специфичность серологических исследований. Кроме этого, воспроизводимость результатов в формате РНГА ограничивается кратковременной пригодностью нативных эритроцитов и зависит от ряда трудно контролируемых факторов. Поэтому, в настоящее время, с целью совершенствования и дополнения серодиагностики псевдотуберкулеза активно ведутся исследования новых антигенов, в частности, белковых, таких как белки наружной мембраны *Y. pseudotuberculosis*, которые играют важную роль на начальных этапах взаимодействия возбудителя с макроорганизмом (в процессах инвазии и начального размножения бактерии) и могут вызывать ранний гуморальный иммунный ответ.

В связи с этим работа Симаковой Дианы Игоревны, направленная на идентификацию специфических белковых антигенов *Y. pseudotuberculosis*, общих для эпидемически значимых сероваров, и конструирование на их основе стабильного видоспецифического полимерного иммунобиологического препарата для серодиагностики псевдотуберкулеза, является актуальной.

Цель и задачи исследования сформулированы корректно и соответствуют как изучаемой проблеме, так и избранному научному направлению.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость представленной работы не вызывают сомнений. Автором впервые с помощью MALDI-ToF-MS масс-спектрометрии охарактеризован белковые профили эпидемически значимых штаммов *Y. pseudotuberculosis*, выделен препарат белков наружной мембраны серовара O:1a, содержащий 4 основных иммунодоминантных белковых антигена с м.м. 41-43, 35-37, 25-27 и 16-17 кДа, с применением газовой хромато-масс-спектрометрии и иммуноблотинга показана белковая природа антигенного препарата, который использован для получения псевдотуберкулезного антигенного полимерного диагностикума. На основе латексных микросфер и комплекса белков наружной мембраны *Y. pseudotuberculosis* разработан новый серодиагностикум (приоритет подтвержден патентом на изобретение № 2430376) и показана возможность выявления с его помощью специфических антител к возбудителю псевдотуберкулеза в сыворотке крови от больных. На пути к

внедрению диагностикума в практику автором подготовлены и утверждены для него технические условия и инструкция по применению (протокол № 8 от 07.09.2017 г.), проведены испытания его экспериментальных серий на сыворотках животных и получено заключение о возможности использования диагностикума для выявления антител к возбудителю псевдотуберкулеза.

При исследовании 60-ти сывороток от пациентов и здоровых доноров (42 сыворотки от больных с клиническими проявлениями псевдотуберкулеза, 8 - от больных с гастроэнтерологическими заболеваниями, 10 - от здоровых доноров) экспериментальным диагностикумом с параллельным использованием зарегистрированного в РФ диагностикума («Берлез® диагностикум эритроцитарный псевдотуберкулезный антигенный сухой»), а также при исследовании гетерологичных сывороток (57 сывороток больных респираторным хламидиозом, 7 сывороток больных боррелиозом Лайма и 38 сывороток людей с аутоиммунным тиреоидитом) установлена высокая чувствительность, специфичность и возможность применения разработанного диагностикума в лабораторной диагностике псевдотуберкулеза у людей.

По теме диссертации опубликовано 22 работы, в том числе 3 - в периодических изданиях из «Перечня ведущих рецензируемых научных журналов, утвержденных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации», 1 патент на изобретение, в Госреестре РФ зарегистрирована 1 база данных «Псевдотуберкулез».

Автореферат оформлен в соответствии с требованиями ВАК РФ и содержит основные результаты и выводы диссертационной работы. В качестве замечания есть вопрос о том, когда разработанный диагностикум будет представлен на государственную регистрацию. Принципиальных замечаний по автореферату нет.

Анализ автореферата показал, что диссертационная работа Симаковой Дианы Игоревны «Конструирование видоспецифического антигенного полимерного препарата для серологической диагностики псевдотуберкулеза» является самостоятельным законченным научным исследованием, выполненным по актуальной проблеме современной микробиологии. Данная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней»,

утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года № 335, от 02 августа 2016 года № 748, от 29 мая 2017 года № 650, от 28 августа 2017 года № 1024, от 01 октября 2018 года № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Симакова Диана Игоревна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Главный научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, кандидат биологических наук

Бикетов Сергей Федорович

Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский район, поселок Оболенск.
телефон 8 (4967) 36-00-03, адрес электронной почты biketov@mail.ru

Подпись кандидата биологических наук Бикетова Сергея Федоровича заверяю:

Ученый секретарь Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, доктор биологических наук



Коломбет Любовь Васильевна