

Отзыв

на автореферат диссертационной работы **ТИМОШИЧЕВОЙ Татьяны Александровны**

«РАЗРАБОТКА МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ К ГЕКСОНУ АДЕНОВИРУСОВ ЧЕЛОВЕКА», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология

Актуальность темы.

Среди заболеваний, имеющих вирусную этиологию, респираторные инфекции занимают основное место. Наиболее важными из в патологии дыхательных путей занимают вирусы гриппа, респираторно-синцитиальный вирус и аденовирусы. Для аденовирусной инфекции нет сезонной зависимости – в отличие от других респираторных вирусов вспышки аденовирусной инфекции регистрируются в течение всего года. При этом отмечается развитие аденовирусной инфекции в организованных коллективах. При респираторной форме аденовирусной инфекции в первую очередь поражаются верхние дыхательные пути, возможно развитие осложнений в виде бронхитов, бронхолитов, пневмоний, энцефалитов, менингитов, миокардитов, особенно у пациентов с иммуносупрессией. Многообразие клинических форм аденовирусной инфекции определяет необходимость разработки эффективных средств диагностики этой инфекции. Использование точной диагностики дает возможность клиницистам своевременно поставить диагноз, что особенно актуально для пациентов из групп риска. В настоящее время для диагностики аденовирусной инфекции используют полимеразную цепную реакцию (ПЦР), иммуноферментный анализ (ИФА) и иммунофлуоресцентный (ИФЛ) метод с применением поликлональных специфичных сывороток. Чувствительность методов лабораторной диагностики аденовирусной инфекции по данным российских исследователей составляет 83,0% для ПЦР, 44,6% для ИФЛ и 48,7% для ИФА. Из указанных методов диагностика с использованием ПЦР является чувствительной и специфичной, но в то же время требующей технологического оснащения лаборатории и квалификации персонала. Проведение ИФА и ИФЛ более рутинно, однако для повышения чувствительности необходимо включение в состав диагностических тестов высокоспецифичных моноклональных антител (МКА).

Актуальность темы, ее разработка до начала исследования определило основную цель работы Татьяны Александровны – разработка панели моноклональных антител, способных выявлять аденовирусы, в том числе современные штаммы, в иммунологических реакциях. В соответствии с указанной целью, автором были поставлены, и в ходе работы успешно решены, следующие задачи:

1. Получить гибридомы, продуцирующие высокоспецифичные МКА к гексону аденовирусов, имеющему в своем составе обширный консервативный участок с родоспецифическими детерминантами;

2. Определить направленность и специфичность разработанных МКА. Отобрать наиболее перспективные МКА для детекции аденовирусных антигенов в различных иммунологических тестах;

3. Провести молекулярно-генетическое типирование аденовирусов, циркулирующих на территории Северо-Западного региона России;

4. Оценить диагностический потенциал разработанных МКА в отношении современных штаммов аденовирусов.

Для выполнения поставленных задач автором были использованы разные методы, включающие в себя вирусологические, иммунологические, молекулярно-генетические и биоинформационные. Совокупность всех использованных автором методов позволило ей провести комплексное исследование и решить все поставленные задачи. Работы, без сомнения, содержит **новые научные результаты**, к которым относится:

Впервые методом масс-спектрометрического анализа подтверждена аминокислотная последовательность гексона, использованного в качестве иммуногена для получения МКА.

Впервые для определения типов аденовирусов, циркулирующих на территории России, применено секвенирование методом Сенжера гена, кодирующего фибриллу.

Выявлено преобладание аденовирусов 4 и 7 типов в циркуляции среди населения Северо-Западного региона России за период 2014-2017 гг.

Разработана панель МКА, доказана их способность выявлять аденовирусы, принадлежащие к различным группам, в вирусологических и иммунологических реакциях.

Разработанные МКА 4В7 и МКА 6В12 включены в состав инновационного многопараметрического диагностического комплекса ТОРИ-ТЕСТ, позволяющего определять соответствующий этиологический агент и способствующего проведению рациональной противовирусной терапии и снижению неоправданного применения антибиотиков.

С научной новизной работы связаны ее **теоретическая и практическая значимость**, а именно:

Сформирована коллекция современных штаммов аденовирусов, два штамма аденовирусов 4 типа переданы в коллекцию вирусов гриппа и ОРВИ при ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России. Пополнение коллекции шестью современными штаммами аденовирусов дает возможность их использования, как в научных исследованиях, так и при создании модели аденовирусной инфекции *in vitro* для скрининга и тестирования потенциальных противовирусных препаратов.

Разработанные МКА 4В7 и МКА 6В12 могут быть использованы как при изучении этиологической структуры заболеваемости населения, в том числе в рамках осуществления надзора за гриппом и ОРВИ на территории России, так и для диагностики аденовирусной инфекции в практическом здравоохранении.

Разработанные МКА 4В7 и МКА 6В12 включены в состав многопараметрического диагностического комплекса ТОРИ-ТЕСТ для

детекции и прогноза тяжести течения острых респираторных инфекций (проект поддержан Министерством науки и высшего образования Российской Федерации, Соглашение № 075-15-2019-1241 от 10.06.2019 г. (ранее № 14.604.21.0180 от 26.09.2017 г.).

Разработанные МКА 6В12 рекомендованы для внедрения в производство отечественного препарата «Иммуноглобулин диагностический флуоресцирующий аденовирусный антигексоновый» взамен используемых в настоящее время гипериммунных поликлональных сывороток.

Степень достоверности и апробация результатов этой работы не вызывает сомнений. Все полученные в ходе исследования экспериментальные данные подвергались статистическому анализу.

Основные положения диссертации были представлены в докладах на отечественных и международных научных конференциях и симпозиумах: II и III Российском конгрессе лабораторной медицины (Россия, Москва, 2016, 2017), IX Ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням с международным участием (Россия, Москва, 2017), Международной научно-практической конференции «Молекулярная диагностика» (Россия, Москва, 2017), Международной научно-практической конференции «Молекулярная диагностика 2018» (Республика Беларусь, Минск, 2018), IV научно-практической международной конференции «Современные биотехнологии для науки и практики» (Россия, Санкт-Петербург, 2017), Научно-практической конференции с международным участием «Молекулярные основы эпидемиологии, диагностики, профилактики и лечения актуальных инфекций» (Россия, Санкт-Петербург, 2018), Российско-Китайском конгрессе по медицинской микробиологии, эпидемиологии, клинической микологии и иммунологии «XXII Кашкинские чтения» (Россия, Санкт-Петербург, 2019). По материалам диссертации опубликовано 16 научных работ, в том числе 5 статей, 3 из которых в изданиях, рекомендованных ВАК.

Выполненная работа по своей теоретической и практической значимости, новизне и актуальности соответствует требованиям п.9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013 г., (с изменениями от 21 апреля 2016 г.) предъявляемым к кандидатским диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Тимошичева Татьяна Александровна заслуживает присвоения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Заместитель руководителя производственного направления
ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»

д.м.н., профессор

Игнатьев Георгий Михайлович

Подпись Игнатьева Г.М. заверяю

Начальник управления персоналом

ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»



Матюшина Ольга Васильевна

Почтовый адрес: 108819 поселение Московский, посёлок Института полиомиелита, домовладение 8, корпус 1, город Москва
тел: +7 495 841-90-02

e-mail:marburgman@mail.ru ; ignatjev_gm@chumakovs.su