

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор
Федерального государственного бюджетного
учреждения «Детский научно-клинический
центр инфекционных болезней
Федерального медико-биологического агентства»
Заслуженный деятель науки РФ, академик РАН,
доктор медицинских наук, профессор

Лобзин Ю.В.



«15» ноября 2019 г.

ОТЗЫВ

ведущего учреждения, ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», на диссертацию **Тимошичевой Татьяны Александровны** «Разработка моноклональных антител к гексону аденовирусов человека», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология в диссертационный совет Д 001.043.01 при ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России

Актуальность темы исследования

В России ежегодно регистрируется около 50 миллионов случаев инфекционных заболеваний. До 95% из них приходится на острые респираторные вирусные инфекции (Европейское руководство ВОЗ по эпиднадзору за гриппом среди людей, 2011). Наиболее важное место в развитии патологии дыхательных путей занимают вирусы гриппа, респираторно-синцитиальный вирус и аденовирусы. В отличие от других респираторных вирусов, аденовирусы поражают помимо детей и лиц старшего возраста молодых людей из организованных коллективов, в частности военных подразделений.

На долю аденовирусной инфекции приходится более половины всех ОРВИ среди военнослужащих (O'Shea M.K., 2013, Львов Н.И., 2016) и до

трети – среди детского населения (Яцышина С.Б., 2015). Описаны случаи смертельных исходов аденовирусной пневмонии среди детей, а также среди военнослужащих армий России, Канады и США. При респираторной форме аденовирусной инфекции в первую очередь поражаются верхние дыхательные пути, возможно развитие осложнений в виде бронхитов, бронхиолитов, пневмоний, энцефалитов, менингитов, миокардитов, особенно у пациентов с иммуносупрессией. Многообразие клинических форм аденовирусной инфекции определяет необходимость разработки эффективных средств дифференциальной диагностики этой инфекции. Использование точных диагностических тестов даст возможность клиницистам своевременно поставить диагноз, что особенно актуально для пациентов из групп риска. Число имеющихся в настоящее время быстрых и чувствительных тестов для дифференциальной диагностики аденовирусной инфекции недостаточно для назначения своевременной противовирусной терапии. Существенно повысить эффективность лабораторной диагностики аденовирусной инфекции позволит разработка и включение в состав диагностических тестов высокоспецифичных моноклональных антител (МКА).

МКА являются незаменимыми инструментами как в фундаментальных исследованиях, так и в клинической лабораторной диагностике. Использование специфичных к респираторным вирусам МКА при конструировании диагностических тест-систем обеспечивает высокую чувствительность анализа, а также необходимый уровень стандартизации препаратов. Для получения МКА широкого спектра, способных выявлять аденовирусы различных типов, циркулирующих среди людей, в качестве иммуногена целесообразно использовать высококонсервативный белок гексона, являющегося общим белком для всех аденовирусов человека.

Целью диссертационной работы Тимошичевой Татьяны Александровны являлась разработка МКА, способных выявлять современные штаммы аденовирусов в различных иммунологических реакциях. Разработка

отечественных высокочувствительных тест-систем на основе МКА – это актуальная задача, решение которой направлено на повышение уровня дифференциальной диагностики аденовирусной инфекции, как при изучении этиологической структуры заболеваемости населения, так и при диагностике аденовирусной инфекции в практическом здравоохранении.

Научная новизна исследования и степень обоснованности научных положений.

Рассматриваемая диссертация содержит новые данные, полученные с помощью классических методов вирусологии и современных методов молекулярной и клеточной биологии.

Автор впервые применила метод масс-спектрометрического анализа для подтверждения аминокислотной последовательности гексона, использованного в качестве иммуногена для разработки МКА.

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

При анализе циркуляции аденовирусов среди населения Северо-Западного региона за период 2014-2017 гг. была выявлена доминирующая роль аденовирусов 4 и 7 типов.

В процессе работы автору удалось разработать панель МКА с доказательством ее способности выявлять аденовирусы различных типов в вирусологических и иммунологических реакциях.

Разработанные панели МКА 4В7 и МКА 6В12 были включены в состав инновационного многопараметрического диагностического комплекса ТОРИ-ТЕСТ, дающего возможность определять конкретного этиологического агента, что в свою очередь позволяет проводить адекватную противовирусную терапию, ведущую к снижению неоправданного применения антибиотиков.

Достоверность полученных результатов, выводов, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа Тимошичевой Т.А. выполнена на высоком научно-методическом уровне с применением вирусологических, биохимических, молекулярно-биологических, иммунологических и биоинформационных методов исследования и анализа. Автором выделен гексон аденовируса 6 типа, который был использован для получения высокоспецифичных МКА с последующим исследованием свойств разработанных МКА и их конъюгатов с пероксидазой хрена, биотином и ФИТЦ в опытах с лабораторными штаммами аденовирусов 3, 4, 6 и 19 типов. Для изучения диагностических свойств разработанных МКА в отношении современных штаммов аденовирусов проведен отбор клинических образцов от больных ОРВИ, а идентификацию аденовирусов в исследуемом биологическом материале проводили с помощью ПЦР в реальном времени. Генотипирование обнаруженных аденовирусов осуществляли методом секвенирования по Сенжеру последовательности участка генома, кодирующего фибриллу, и дальнейшего сравнительного анализа с последовательностями, депонированными в международной базе NCBI GenBank. Автором установлено преобладание аденовирусов 4 и 7 типов в этиологической структуре аденовирусной инфекции на территории Северо-Западного региона России в 2014-2017 гг. Диагностические свойства разработанных МКА исследованы в иммунологических реакциях с клиническими образцами. Показано, что МКА 4В7 и МКА 6В12 выявляют современные штаммы аденовирусов в различных вариантах иммуноферментного анализа и методом иммунофлуоресценции. Полученные результаты демонстрируют перспективность включения разработанных МКА в состав современных диагностических тестов.

Значимость полученных результатов для науки и практики

В ходе выполнения работы 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 современными

штаммами аденовирусов даст 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 инновационного многопараметрического диагностического комплекса ТОРИ-ТЕСТ для детекции и прогноза тяжести течения острых респираторных инфекций.

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

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

Диссертационная работа Тимошичевой Татьяны Александровны является завершенной научно-квалификационной работой и посвящена разработке моноклональных антител к гексону аденовирусов человека. Работа представляет собой цельное многостороннее исследование, написана хорошим литературным языком и правильно структурирована. Для обзора литературы использованы современные данные, большинство источников относится к последним годам. Результаты исследований представлены четко и логично. Работа в достаточной степени иллюстрирована рисунками и таблицами. Автореферат полностью отражает содержание диссертации. Материалы диссертационного исследования опубликованы в журналах и представлены на международных научных конференциях. По материалам диссертации опубликовано 16 научных работ, в том числе 5 статей, 3 из

которых в изданиях, рекомендованных ВАК и 11 в тезисах различных научных конференциях. Опубликованные данные полностью соответствуют представленным в диссертационной работе результатам. Очевиден личный вклад автора, как в экспериментальной части исследований, так и на аналитическом этапе.

Заключение

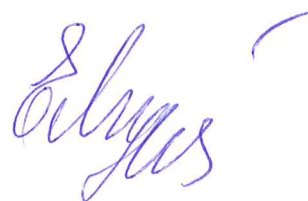
Диссертация «Разработка моноклональных антител к гексону аденовирусов человека» Тимошичевой Татьяны Александровны по актуальности, объему выполненных исследований, методическому уровню, научной новизне и практической значимости полученных результатов полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335), предъявляемым к кандидатским диссертациям, и рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании проблемной комиссии ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», 14 ноября 2019г. (Протокол №9)

Руководитель отдела вирусологии
и молекулярно-биологических методов
исследования ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России

д.б.н. Мурина Елена Александровна

Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова д.9
тел. 9 303 90 13, e-mail – Lemur@niidi.ru



Подпись Муриной Е.А. заверяю
Ученый секретарь ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России
Доцент Волжанин В.М.

