

В диссертационный совет Д350.002.01 на базе
Федерального бюджетного учреждения науки
«Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии»
Федеральной службы по надзору в сфере
защиты прав потребителей и благополучия человека
142279, Московская область,
Серпуховский район, пос. Оболенск

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Смирновой Дарьи Николаевны «Разработка экспериментального образца иммунохроматографической тест-системы для выявления белка патогенности CagA *Helicobacter pylori*» представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – Микробиология.

Диссертационное исследование Смирновой Д.Н. посвящено актуальной проблеме совершенствования иммунохимических средств диагностики хеликобактериоза, а именно разработке иммунохроматографической тест-системы для выявления белка CagA *H. pylori*. В диссертационной работе представлены результаты отдельных исследований, направленных на достижение указанной цели и выполненных в соответствии со сформулированными задачами. Новизна полученных результатов подтверждена патентами на изобретения, следует отметить теоретическую значимость анализа и обобщения литературных и собственных экспериментальных данных. Автором накоплен обширный материал в достаточно разнородных областях экспериментальных исследований, необходимых для разработки тест-системы. Диссертационная работа Смирновой Д.Н. выполнена с использованием современных методов исследования.

Вместе с тем, выбор белка CagA *H. pylori* в качестве целевого антигена для иммунохимического выявления возбудителя не представляется оправданным. Как отмечает автор диссертации, этот белок, служащий одним из важных факторов патогенности *H. pylori*, не является поверхностным компонентом бактериальной клетки, что изначально предполагает низкую чувствительность любой разрабатываемой иммунохимической тест-системы, предназначенной для выявления цельных клеток в исследуемых препаратах. Как известно, используемые в диагностических целях иммунохроматографические тест-системы, как правило, менее чувствительны по сравнению с иными альтернативными методами иммунохимического анализа. Вместе с тем, они позволяют определять в исследуемых пробах бактериальные клетки в концентрации сотни тысяч – немногие миллионы в одном миллилитре, а водорастворимые антигены в концентрации нанограммы – десятки нанограммов в одном миллилитре. Чувствительность предлагаемой автором тест-системы даже превышает 1 миллиард клеток в миллилитре, то есть на три порядка меньше. Поскольку наличие во взятых стандартными методами пробах (материале зубодесневых карманов, биоптате слизистой желудка, кале) бактерий *H. pylori* в количествах, превышающих пороговое значение чувствительности, практически нереально, такая тест-система не может быть использована для выявления возбудителя непосредственно в исходных пробах. В этой связи, для идентификации возбудителя с помощью предлагаемой тест-системы необходимо выделение и накопление культуры возбудителя с использованием селективной питательной среды в течение нескольких дней. Кроме того, для оценки специфичности диагностических тест-систем принято использовать близкородственные микроорганизмы в концентрациях, на 2-3 порядка (а не в несколько раз, как это представлено в

диссертации) превышающих пороговое значение чувствительности. Поэтому заключение о специфичности тест-системы не может быть признано достаточно убедительным. Следует отметить, что существуют коммерческие иммунохроматографические тест-системы (РЭД *Helicobacter pylori*, NovaMed), предназначенные для экспрессного выявления в нативной пробе (каловые массы) возбудителя хеликобактериоза и дающие результаты анализа, по данным производителей, хорошо согласующиеся по чувствительности и специфичности с альтернативными иммунологическими и лабораторными методами исследования. Если недостаточную выявляемость бактерий с помощью предлагаемой тест-системы еще можно обосновать внутриклеточной локализацией целевого антигена, то объяснить ее низкую чувствительность при тестировании водорастворимого коммерческого белка CagA (125-500 мкг/ мл) очень сложно – даже иммунохроматографические тест-системы, характеризующиеся не самой высокой чувствительностью из числа иммунохимических тест-систем, выявляют белковые антигены в концентрациях, на 4-5 порядков меньших. Предлагаемая автором тест-система, составляющая основную суть и цель диссертационной работы, в таком виде не может иметь практической значимости в лабораторных исследованиях. Не представлено также обоснования перспектив ее кардинального совершенствования для нужд инфекционной медицины. Ведь востребованность такой тест-системы определяется необходимостью экспрессного и достаточно чувствительного выявления в биопробах цельных микробных клеток *H. pylori*, а не одного из антигенов возбудителя. Для последнего вполне достаточно уже имеющихся широко апробированных и намного более чувствительных методов анализа.

В связи с вышеизложенным, несмотря на актуальность, новизну, теоретическую значимость отдельных результатов исследований, их объем, затраченные автором усилия, диссертационная работа Смирновой Д.Н. не соответствует критериям, установленным п. 9 Положения о присуждении учёных степеней.

Старший научный сотрудник Центра превосходства «Фармацевтическая биотехнология» ФГБОУ ВО «Вятский государственный университет»

доктор медицинских наук профессор
Бывалов Андрей Анатольевич



Адрес: 610000, г. Киров, ул. Московская, д. 36, тел. (8332)-64-10-59

Подпись Бывалова А.А. заверяю

