

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Вятский государственный университет»
(ВятГУ)
г. К и р о в

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по науке и инновациям
федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Вятский государственный
университет», кандидат
сельскохозяйственных наук, доцент



С.Г. Литвинец

«10» июля 2020 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

**федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Вятский государственный университет»**

Диссертация «Разработка экспериментального образца иммунохроматографической тест-системы для выявления белка патогенности *CapA Helicobacter pylori*» выполнена на кафедре микробиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Вятский государственный университет».

В период подготовки диссертации соискатель Смирнова Дарья Николаевна являлась аспирантом кафедры микробиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Вятский государственный университет».

В 2017 году Смирнова Д.Н. окончила федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Вятский государственный университет» по направлению подготовки 06.04.01 Биология, направленность Микробиология и вирусология.

В 2017 году Смирнова Д.Н. поступила в аспирантуру в федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Вятский государственный университет» по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки, приказ о зачислении в аспирантуру от 30.08.2017 № 05-01/102-АСП, в настоящее время обучается на 3 курсе.

Справка об обучении по программе научно-педагогических кадров в аспирантуре с результатами сдачи кандидатских экзаменов при прохождении промежуточной аттестации выдана 10.07.2019 г. № 14.01-12/104 федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Вятский государственный университет».

Научный руководитель – Богачёва Наталья Викторовна, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры микробиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Вятский государственный университет».

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Оценка выполненной соискателем работы

Диссертация Смирновой Дарьи Николаевны является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, заключающейся в разработке экспериментального образца иммунохроматографической тест-системы для индикации белка CagA *H. pylori*. По объему исследования, научной новизне, теоретической и практической значимости работа соответствует требованиям п. 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Цель и актуальность проведенных исследований

Инфицированность населения бактерией *Helicobacter pylori* находится на высоком уровне как в России, так и во всем мире. При колонизации *H. pylori* в слизистой оболочке желудка развивается воспалительный процесс, который в преобладающем числе случаев протекает в форме хронического гастрита. В 20% случаев хронический процесс переходит в острую форму, что повышает риск развития язвенной болезни двенадцатиперстной кишки и желудка, аденокарциномы желудка.

Наиболее выраженные патологические процессы, связанные с повышенным риском опухолевой трансформации, вызывают штаммы *H. pylori*, вырабатывающие цитотоксин CagA, приводящий к нарушению целостности эпителия слизистой желудка, индуцирующий неконтролируемую пролиферацию лимфоидных и эпителиальных клеток, стимулирующий секрецию противовоспалительных цитокинов.

Распространенность злокачественных новообразований среди населения России находится на высоком уровне. Установлено, что инфицирование *H. pylori* является причиной 327 тыс. новых случаев рака желудка в год.

В связи с этим для скрининга лиц, инфицированных *H. pylori*, актуальна и перспективна разработка высокоспецифичных, чувствительных, простых и недорогих методов диагностики хеликобактериоза, к которым относятся иммунохроматографические тест-системы, позволяющие в короткий срок определить наличие в пробе детектируемого антигена.

В настоящее время в России отсутствуют иммунохроматографические тест-системы для выявления антигенов патогенности *H. pylori* отечественного производства, имеются зарубежные аналоги, не лишенные недостатков.

Все вышесказанное определяет актуальность и **цель настоящей диссертационной работы** – создать экспериментальный образец иммунохроматографической тест-системы для выявления высокопатогенных CagA-положительных штаммов *H. pylori*.

Тема диссертации утверждена приказом ректора федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Вятский государственный университет» от 10.11.2017 № 13-02/133-АСП.

Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации

Работа выполнена на базе кафедры микробиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Вятский государственный университет». Автор лично участвовал в планировании, проведении теоретических и экспериментальных исследований, а также анализе полученных результатов, оформлении статей, тезисов и патентов под руководством

профессора кафедры микробиологии, д.м.н., доцента Богачёвой Натальи Викторовны.

Степень достоверности результатов проведенных исследований

Достоверность результатов диссертационного исследования подтверждается достаточным количеством экспериментов, использованием современных методов исследования, которые соответствуют поставленным в работе задачам, воспроизводимостью результатов и применением методов статистического анализа. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, подтверждены статистически достоверными результатами, наглядно представленными на рисунках и в таблицах.

Материалы диссертации представлены и обсуждены на Всероссийской ежегодной научно-практической конференции «Общество, наука, инновации» (Киров – 2015, 2016, 2017 гг.); IX Международном конгрессе «Биотехнологии: состояние и перспективы развития» (Москва, 20-22 февраля 2017 г.); III Всероссийском научном форуме «Наука будущего – наука молодых» (Нижний Новгород, 12-14 сентября 2017 г.).

По результатам работы автор удостоена диплома финалиста конкурса молодых ученых на лучшую научно-исследовательскую работу – г. Москва, 2017 г.; диплома победителя программы «У.М.Н.И.К.» – 2017 г.

Новизна результатов проведенных исследований

1. Впервые разработана иммунохроматографическая тест-система, в состав которой вошли специфические иммунохимические компоненты отечественного производства, направленная на выявление белка CagA *H. pylori* в различном биологическом материале. Научная новизна подтверждена патентами на изобретение: № 2644466* «Способ получения наночастиц коллоидного золота со средним диаметром 25-30 нм» от 12.02.2018 г.; № 2642588 «Иммунохроматографическая тест-система для выявления патогенных штаммов *Helicobacter pylori*» от 25.01.2018 г.

2. Впервые с использованием комплекса статистических методов выполнен сравнительный анализ выявления CagA-положительных штаммов *H. pylori* иммунохроматографическим и молекулярно-генетическим методами, который позволяет утверждать о возможности использования иммунохроматографического

метода для отбора пациентов, нуждающихся в назначении и контроле рациональной антихеликобактерной терапии.

Теоретическая и практическая значимость, ценность научных работ соискателя

Теоретическая значимость работы заключается в систематизации данных об антигенном строении бактерии *H. pylori*, обосновании целесообразности выявления высокопатогенных штаммов *H. pylori*, секретирующих белок CagA, у лиц с заболеваниями желудочно-кишечного тракта.

Кроме этого, в работе проведен анализ оснащенности российского рынка иммунохроматографическими тест-системами для диагностики хеликобактериоза. Научно обоснована целесообразность разработки и использования иммунохроматографической тест-системы, состоящей из иммунохимических компонентов отечественного производства, для детекции патогенных штаммов *H. pylori* в различном биологическом материале пациентов в качестве экспресс-метода диагностики лиц, нуждающихся в обоснованном назначении антихеликобактерной терапии.

Систематизированы результаты научных исследований, направленные на поиск путей повышения специфичности и чувствительности иммунохроматографических тест-систем. Показана зависимость качества разрабатываемых иммунохроматографических тест-систем от оптимального размера наночастиц коллоидного золота, концентрации специфических иммунохимических компонентов, выбора состава и комбинаций буферных растворов, используемых для конструирования и тестирования, от состава мультимембранного композита.

Практическая значимость работы заключается в разработке иммунохроматографической тест-системы, предназначенной для выявления белка патогенности CagA *H. pylori* в культуре, выделенной из различного биологического материала (биопсийного материала желудка, кала и содержимого зубодесневых карманов), которая может быть использована для постановки диагноза хеликобактериоз, обоснованного назначения и контроля эрадикационной терапии.

По результатам работы сделаны следующие практические предложения:

1. Рекомендовать разработанный экспериментальный образец иммунохроматографической тест-системы для выявления белка CagA *H. pylori* к проведению клинических испытаний.

2. Рекомендовать применение пошаговой методики получения препарата коллоидного золота с размером частиц 25-30 нм для использования в научно-исследовательских целях.

3. Для повышения чувствительности иммунохроматографических тест-систем, предназначенных для детекции как инфекционных, так и неинфекционных антигенов, рекомендовать использование методики усиления иммунохроматографической тест-системы лактатом серебра и гидрохиноном.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем

Результаты диссертационного исследования Смирновой Д.Н. опубликованы в 17 научных работах (общим объёмом 124 п.л., вклад соискателя 58 п.л.), из них работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях (из перечня ВАК) – 5; патенты на изобретения зарегистрированные в установленном порядке - 4.

Основные научные результаты диссертации достаточно полно отражены:

1) в работах, опубликованных в следующих рецензируемых научных изданиях (из перечня ВАК):

1. Смирнова, Д.Н. Сравнительная оценка компонентов иммунохроматографических тест-систем, используемых для их разработки / Д.Н. Смирнова, К.А. Крупина, Н.В. Богачёва, И.В. Дармов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2017. – Т.62. – № 1. – С. 30-34.

2. Смирнова, Д.Н. Разработка экспериментального образца иммунохроматографической тест-системы для выявления белка патогенности CagA *Helicobacter pylori* // Д.Н. Смирнова, Н.В. Богачёва, И.В. Дармов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2018. – Т.63. – № 4. – С.242-246.

3. Богачёва, Н.В. Использование нанотехнологий для разработки иммунохроматографической тест-системы, предназначенной для скрининга *H. pylori*-ассоциированных заболеваний / Н.В. Богачёва, Д.Н. Смирнова, Е.П. Колеватых // Медицинский альманах. – 2018. – № 4. – С.109-114.

4. Чичерин, И.Ю. Экспериментальный хеликобактериоз у конвенциональных белых мышей при инфицировании возбудителем *Helicobacter pylori* / И.Ю. Чичерин, И.П. Погорельский, И.А. Лундовских, А.С. Горшков, М.Р. Шабалина, Д.Н. Смирнова, Н.В. Богачева // Инфекционные болезни. – 2018. – Т.16. – №2. – С. 77-85.

5. Смирнова, Д.Н. Обоснование чувствительности иммунохроматографического анализа в зависимости от локализации детектируемого антигена / Д.Н. Смирнова, Н.В. Богачёва // Вестник Пермского университета. Серия Биология. – 2019. – №3. – С. 309-313.

2) в полученных патентах на изобретения, патенты (свидетельства) на полезную модель, патенты на промышленный образец, патенты на селекционные достижения, свидетельства на программу для электронных вычислительных машин, базу данных, топологию интегральных микросхем, зарегистрированные в установленном порядке:

1. Богачёва, Н.В. Способ определения чувствительности *H. pylori* к антибиотикам / Н.В. Богачёва, Д.Н. Смирнова, И.В. Дармов // Патент на изобретение № 2588469 от 14.05.2015 г.

2. Богачёва, Н.В. Способ получения наночастиц коллоидного золота со средним диаметром 25-30 нм / Н.В. Богачёва, Д.Н. Смирнова, К.А. Крупина, И.В. Дармов // Патент на изобретение № 2644466 от 12.02.2018.

3. Богачёва, Н.В. Иммунохроматографическая тест-система для выявления патогенных штаммов *Helicobacter pylori* / Н.В. Богачёва, И.В. Дармов, Д.Н. Смирнова // Патент на изобретение № 2642588 от 25.01.2018.

4. Погорельский, И.П. Способ моделирования хеликобактериоза / И.П. Погорельский, И.Ю. Чичерин, И.А. Лундовских, Д.Н. Смирнова, Н.В. Богачёва // Патент на изобретение № 2690943 от 14.05.2018.

Научные результаты диссертации отражены также в следующих изданиях:

1. Смирнова, Д.Н. Разработка способа определения чувствительности *H. pylori* к антибиотикам с помощью уреазного теста в планшетах / Д.Н. Смирнова, Н.В. Богачёва, И.В. Дармов // Научный фонд «Биолог» Ежемесячный научный журнал. – 2015. – № 9(13). – С. 18-22.

Результаты диссертационного исследования докладывались на научных и научно-практических конференциях:

1. Смирнова, Д.Н. Экспериментальное определение минимальной подавляющей концентрации (МПК) изолятов *H. pylori* в жидких питательных средах / Д.Н. Смирнова, Н.В. Богачёва // Общество, наука, инновации. НПК - 2015: всероссийская ежегодная научно-практическая конференция: 13-24 апреля 2015 г., г. Киров // ВятГУ. – Киров, 2015. – С. 157-161.
2. Смирнова, Д.Н. Актуальность изучения антибиотикорезистентности *H. pylori* / Д.Н. Смирнова, Н.В. Богачёва // Общество, наука, инновации. НПК - 2015: всероссийская ежегодная научно-практическая конференция: 13-24 апреля 2015 г., г. Киров / ВятГУ. – Киров, 2015. – С. 154-156.
3. Смирнова, Д.Н. Анализ выбора компонентов, применяемых для разработки иммунохроматографических тест-систем / Д.Н. Смирнова, К.А. Крупина, Н.В. Богачёва, И.В. Дармов // Общество, наука, инновации. НПК – 2016: сборник статей: всероссийская ежегодная научно-практическая конференция 18-29 апреля 2016 г., г. Киров / ВятГУ. – Киров, 2016. – С. 258-264.
4. Крупина, К.А. Разработка методики получения коллоидного золота с размером наночастиц 30 нм / К.А. Крупина, Д.Н. Смирнова, Н.В. Богачёва, И.В. Дармов // Общество, наука, инновации. НПК – 2016: сборник статей: всероссийская ежегодная научно-практическая конференция 18-29 апреля 2016 г., г. Киров. / ВятГУ. – Киров, 2016. – С. 246-252.
5. Смирнова, Д.Н. Разработка алгоритма создания иммунохроматографической тест-системы для выявления белка CagA *H. pylori* / Д.Н. Смирнова, Н.В. Богачёва, И.В. Дармов // Общество, наука, инновации. НПК – 2017: сборник статей: всероссийская ежегодная научно-практическая конференция: 1-29 апреля 2017 г., г. Киров / ВятГУ. – Киров, 2017 – С. 176-183.
6. Смирнова, Д.Н. Иммунохроматографическая тест-система для выявления *Helicobacter pylori* / Д.Н. Смирнова, Н.В. Богачёва, И.В. Дармов // «Биотехнология: состояние и перспективы развития»: IX Международный конгресс 20-22 февраля 2017, г. Москва – Москва, 2017. – Т.2. – С. 548-550.
7. Смирнова, Д.Н. «Применение нанотехнологий для разработки иммунохроматографической тест-системы, предназначенной для диагностики

хеликобактериоза» // «Наука будущего - наука молодых»: сборник тезисов участников форума: III Всероссийский научный форум; 12.09. – 14.09 2017 г., г. Нижний Новгород – Москва, 2017. – С. 278-281.

Специальность, которой соответствует диссертация

Представленная диссертация Смирновой Д.Н. соответствует пункту 2 (Выделение, культивирование, идентификация микроорганизмов), пункту 3 (Морфология, физиология, биохимия и генетика микроорганизмов) и пункту 10 (Использование микроорганизмов в народном хозяйстве, ветеринарии и медицине) Паспорта научной специальности 03.02.03. Микробиология.

Итоговая оценка оригинальности текста диссертации Смирновой Д.Н. в системе «Антиплагиат. ВУЗ» составляет 67,12 %.

Диссертация «Разработка экспериментального образца иммунохроматографической тест-системы для выявления белка патогенности *CapA Helicobacter pylori*» Смирновой Дарьи Николаевны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03. Микробиология.

Заключение принято на заседании кафедры микробиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Вятский государственный университет»

Присутствовало на заседании 20 чел. Результаты голосования: «за» - 19 чел., «против» - 1 чел., «воздержалось» - 0 чел., протокол № 1 от «7» июля 2020 г.

Мартинсон Екатерина Александровна
к.т.н., доцент, директор института
биологии и биотехнологии федерального
государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
образования «Вятский государственный
университет»

