



Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
Федеральное казенное учреждение здравоохранения

«РОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ПРОТИВОЧУМНЫЙ ИНСТИТУТ «МИКРОБ»
(ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора)

ул. Университетская, д. 46, г. Саратов, 410005. Тел.: (845-2) 26-21-31. Факс: (845-2) 51-52-12.

E-mail: rusrapi@microbe.ru Сайт: microbe.rospotrebnadzor.ru

ОКПО 01898109 ОГРН 1026402676112 ИНН / КПП 6452024470 / 645201001

24 НОЯ 2020

№ 04-30-330/33-2164-2020

На № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ

директор Федерального казенного
учреждения здравоохранения
«Российский научно-исследовательский
противочумный институт «Микроб»
Федеральной службы по надзору в сфере
защиты прав потребителей и
благополучия человека,
академик РАН,
докт. мед. наук, профессор,
В.В. Кутырев

« ____ »

2020 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

**Федерального казенного учреждения здравоохранения «Российский
научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»
Роспотребнадзора о научно-практической значимости диссертации Смирновой
Дарьи Николаевны, выполненной на тему: «Разработка экспериментального
образца иммунохроматографической тест-системы для выявления белка
патогенности CagA *Helicobacter pylori*» на соискание ученой степени кандидата
биологических наук
по специальности 03.02.03 – Микробиология.**

Актуальность темы диссертационной работы

По данным литературных источников более 50% населения планеты заражены возбудителем хеликобактериоза, который в течение нескольких десятилетий может перманентно находиться в организме человека, не вызывая ощутимых симптомов заболевания. Со временем бактерии *Helicobacter pylori* становятся причиной таких болезней, как хронический гастрит, язва желудка и двенадцатиперстной кишки или злокачественного поражения желудочно-кишечного тракта. Считается, что одним из главных факторов патогенеза язвы желудка в 80% случаев является именно этот

микроорганизм, который в более чем 90% случаев приводит также к развитию язвы двенадцатиперстной кишки. В связи с этим эффективная лабораторная диагностика хеликобактериоза имеет важное значение для проведения эрадикационной терапии с целью профилактики указанных выше соматических болезней, имеющих инфекционную этиологическую природу. В настоящее время к одному из наиболее перспективных, быстрых и технически простых диагностических приемов относится иммунохроматографический тест с использованием нитроцеллюлозных мембран, фиксированных в виде полоски на твердом носителе, который нашел широкое распространение для определения специфических маркеров некоторых физиологических и патологических состояний организма человека в качестве простого и доступного метода внелабораторной диагностики. Поскольку отечественные иммунохроматографические тест-системы для выявления белка CagA, являющегося специфическим маркером заражения человека высокопатогенным *H. pylori* отсутствуют, то проведенные Д.Н.Смирновой исследования, несомненно, весьма актуальны, так как имеют прямое отношение к усовершенствованию лабораторной диагностики поражений желудочно-кишечного тракта человека вызываемых указанным выше микроорганизмом.

Научная новизна диссертационного исследования

Научная новизна диссертационного исследования Д.Н.Смирновой подтверждена четырьмя патентами на изобретения. Причем помимо патента на саму «Иммунохроматографическую тест-систему для выявления патогенных штаммов *H. pylori*» автором получены патенты на оригинальные способы определения чувствительности хеликобактерий к антибиотикам и моделирования хеликобактериоза, имеющих непосредственное отношение к научно-исследовательской работе с этой широко распространенной по всему миру инфекцией.

Кроме этого, разработана подробная пошаговая методика получения наночастиц коллоидного золота, используемого для мечения специфических моноклональных антител, являющихся ключевым отечественным компонентом разработанной диссертантом иммунохроматографической диагностической тест-системы.

Впервые с помощью комплекса статистических приемов проведен сравнительный анализ эффективности иммунохроматографического и молекулярно-генетического методов обнаружения патогенных штаммов возбудителя хеликобактериоза, достоверно свидетельствующий об их равнозначной диагностической ценности при отборе пациентов, нуждающихся в лечении, а также контроле результативности антихеликобактерной терапии.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость диссертационной работы заключается в научном обосновании необходимости выявления высокопатогенных штаммов *H. pylori*, содержащих белок Сag А, у лиц с заболеваниями поражающими слизистую желудочно-кишечного тракта (желудок и двенадцатиперстная кишка). Установлено влияние размера наночастиц коллоидного золота, концентрации иммунохимических компонентов, состава и комбинаций буферных растворов, состава мультимембранного композита, используемых в процессе конструирования иммунохроматографической тест-системы, на ее качество.

Практическая значимость диссертации связана с разработкой экспериментального образца иммунохроматографической тест-системы, с помощью которого удастся обнаружить при исследовании чистой культуры *H. pylori*, выделенной из биологического материала зараженных хеликобактериозом пациентов, штаммы, содержащие специфический для этого возбудителя белок патогенности СagА. Полученные результаты открывают хорошие перспективы для внедрения разработанной диссертантом иммунохроматографической тест-системы в практическую медицину.

Поскольку диссертация выполнялась в образовательном учреждении, то результаты, полученные Д.Н.Смирновой, закономерно внедрены в образовательный процесс на кафедрах микробиологии ФГБОУВО «Вятский государственный университет» и ФГБОУВО «Кировский ГМУ» Минздрава России и подтверждены документально соответствующими актами внедрения.

Рекомендации по использованию результатов диссертации

Результаты диссертационного исследования могут быть рекомендованы для внедрения в практику здравоохранения. Д.Н.Смирновой помимо разработки образца

иммунохроматографической тест-системы для обнаружения штаммов *H. pylori*. фактически проведены его успешные ограниченные лабораторные испытания. Таким образом, открыта реальная возможность по дальнейшему внедрению диагностической тест-системы в практику: изготовление 3-х серий иммунохроматографической тест-системы для идентификации высокопатогенных штаммов *H. pylori*, подготовка соответствующей нормативной документации и проведение регламентированных испытаний для государственной регистрации диагностического препарата.

Следует также рекомендовать использование усовершенствованных диссертантом методических приемов по получению препарата коллоидного золота и способа повышения чувствительности иммунохроматографического анализа, как в научных исследованиях, так и при разработке диагностических иммунохроматографических тест-систем для практического здравоохранения и ветеринарии.

Обоснованность и достоверность научных положений

и выводов диссертации

Достоверность полученных диссертантом результатов и обоснованность основных научных положений определяется достаточно большим объемом проведенных экспериментальных исследований, использованием широкого спектра современных методических приемов, включающих в себя микробиологические, иммунохимические, молекулярно-генетические, биохимические методы. Достоверность полученных научных данных, выводов и рекомендаций подтверждается также воспроизводимостью результатов и применением адекватных методов статистического анализа.

Оценка структуры, содержания, соответствия требованиям,

предъявляемым к диссертациям

Диссертация Д.Н.Смирновой соответствует классическому плану построения и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, включающих в себя материалы и методы, 3 главы экспериментальных исследований, заключение, выводы, рекомендации по использованию результатов работы, список сокращений, а также три приложения с результатами исследования биологических проб от

добровольцев и акты внедрения результатов диссертации. Работа изложена на 137 страницах компьютерного текста, содержит 28 таблиц и 14 рисунков. Список литературы включает в себя 114 источников. Из них отечественных – 88, зарубежных – 26.

Содержание диссертации соответствует теме исследования. Выводы согласуются с целью и поставленными задачами, научно обоснованы, логически вытекают из полученных результатов.

Диссертация написана литературным языком, достаточно хорошо выверена – практически отсутствуют опечатки и неудачно построенные предложения.

По материалам диссертации опубликовано 6 статей, из них – 5 в российских журналах из перечня, рекомендованного ВАК РФ, в которых отражены наиболее значимые результаты проведенного исследования.

Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации.

Личный вклад автора

Весь объем проведенных исследований, включающий планирование диссертационной работы, проведение теоретических и экспериментальных исследований, анализ полученных результатов, написание статей, тезисов, оформление заявок на изобретение, проведен лично автором.

Вопросы и замечания к диссертационной работе:

1. Разработанный экспериментальный образец иммунохроматографической тест-системы предназначен для идентификации патогенных штаммов *H. pylori*, выделенных из биологического материала, полученного от пациентов, больных хеликобактериозом. В связи с этим, на наш взгляд, теряет смысл определение чувствительности сконструированной иммунохроматографической тест-системы, с точки зрения ее практического применения, так как патогенность определяется с использованием чистой и бактериологически подтвержденной культурой *H. pylori*. Таким образом, нет необходимости в определении индикационных возможностей (чувствительности) иммунохроматографического теста. При этом нивелируются его главные «козыри» перед другими методическими приемами – простота технического исполнения и экспрессность анализа (10-15 мин). Надо полагать, что в будущих исследованиях по внедрению разработанной тест-системы, отмеченных

автором в разделе «Рекомендации по использованию результатов работы», будет предусмотрено определение наличия антигена патогенности CagA непосредственно в образцах биологических проб, контаминированных *H. pylori*, где оно вполне уместно.

2. Для оценки специфичности экспериментальной иммунохроматографической тест-системы, Д.Н.Смирнова использовала только культуру одного вида условно-патогенных бактерий (*Proteus vulgaris*), которые вызывают заболевания желудочно-кишечного тракта и присутствуют в кишечнике здорового человека. Культуры одного вида микроорганизмов явно недостаточно для определения специфичности, хотя для экспериментальной, но все же диагностической тест-системы, которая в перспективе претендует на практическое внедрение федерального уровня. Очевидно, что для определения специфичности тест-системы нужно было использовать, хотя бы нескольких других видов токсинсодержащих возбудителей кишечных инфекций. При этом, справедливости ради, следует отметить, что диссертантом, для контроля специфичности разработанной иммунохроматографической тест-системы для идентификации патогенных штаммов возбудителя хеликобактериоза был также использован наиболее адекватный, с нашей точки зрения, методический подход с применением нескольких CagA⁺ штаммов *H. pylori*.

3. Нет необходимости выделять отдельную подглаву 1.7 в обзоре литературы «Актуальность разработки иммунохроматографической тест-системы». Она в полной мере отражена, как и положено по ГОСТу Р 7.0.11. во введении диссертации в разделе «Актуальность темы исследования». Этим же документом не предусмотрено включение в диссертацию «Списка публикаций автора». Он, как и определено указанным выше документом находится в автореферате диссертации.

4. Таблица 11 в главе 3.1 лишняя. Информации по тексту диссертации в одну строку вполне достаточно, чтобы понять, что номера проб соответствовали номеру добровольца.

5. В главе 3.2.2. нет необходимости описывать стадии молекулярно-генетической диагностики и принцип ПЦР. Это прерогатива предыдущей 2 главы, а здесь нужно представить полученные результаты и их оценить.

6. Таблицы 24 и 25 скорее рисунки, а не таблицы.

Отмеченные замечания и вопросы, в целом, не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы, имеющую важное прикладное значение для практического здравоохранения.

Заключение

Диссертационная работа Д.Н.Смирновой «Разработка экспериментального образца иммунохроматографической тест-системы для выявления белка патогенности CagA *Helicobacter pylori*» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной для отечественного здравоохранения научно-практической задачи, связанной с конструированием диагностической иммунохроматографической тест-системы для идентификации высокопатогенных штаммов возбудителя хеликобактериоза, являющихся причиной развития тяжелых поражений желудка и двенадцатиперстной кишки, своевременное обнаружение которых снижает риск их возникновения.

По актуальности избранной темы, объему и методическому уровню проведенных исследований, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов данная работа соответствует требованиям ВАК РФ «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, с изменениями, опубликованными в Постановлениях Правительства РФ от 24.04.2016 г. № 335, от 02.06.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Смирнова Дарья Николаевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Отзыв на диссертацию обсужден и одобрен на межлабораторной конференции отдела диагностики инфекционных болезней ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, протокол № 116 от 17.11.2020 г.

Девдариани Зураб Леванович, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отдела информационного обеспечения исследований Федерального казенного учреждения здравоохранения «Российский научно-

исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

410005, г. Саратов, Университетская, 46

Телефон: +7 (8452) 26-21-31

E-mail: rusrapi@microbe.ru



Бойко Андрей Виталиевич, доктор медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории оперативной диагностики Федерального казенного учреждения здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

410005, г. Саратов, Университетская, 46

Телефон: +7 (8452) 26-21-31

E-mail: rusrapi@microbe.ru



Подписи д.м.н., профессора Девдариани З.Л. и д.м.н., доцента Бойко А.В. заверяю:

Начальник отдела кадров ФКУЗ «РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора Шумигой О.В.



Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

410005, г. Саратов, Университетская, 46

Телефон: +7 (8452) 26-21-31

E-mail: rusrapi@microbe.ru

Web-сайт: <http://www.microbe.ru>