

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии

Роспотребнадзора, академик РАН,

доктор медицинских наук, профессор

В. Г. Акимкин

«30 » сентября 2021 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека о научно-практической значимости диссертации Руниной Анастасии «Новые рекомбинантные белки – антигены *Treponema pallidum* для серологической диагностики сифилиса», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 - микробиология.

Актуальность темы исследования

В настоящее время сифилис является социально-значимым заболеванием, диагностика которого осложняется большой долей скрытых форм данного заболевания. Выявление таких случаев ведется с помощью непрямых лабораторных методов, т.е. методов серодиагностики, которые, в частности, определяют антитела к белкам *Treponema pallidum* в сыворотке крови пациентов. Для применения трепонемных серологических тестов необходимо использование антигенов возбудителя сифилиса, однако невозможность культивирования бледной трепонемы ставит задачу разработки рекомбинантных белков, проявляющих антигенные свойства. Чувствительность трепонемных тестов может варьироваться в зависимости от формы сифилиса. Увеличение количества антигенов является одним из актуальных направлений совершенствования трепонемных тестов, так как расширяет спектр определяемых антител, что повышает чувствительность и достоверность результатов серологического исследования.

Научная новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научная новизна работы заключается в предложенном перечне потенциальных антигенов *T. pallidum*, отобранных с применением биоинформационических методов. В экспрессионные конструкции клонированы гены, кодирующие отобранные белки Trp0277,

Tr0319, Tr0453, Tr0684, Tr0965 и Tr1038 *T. pallidum*. Полученные с их помощью штаммы-продуценты были успешно использованы для гетерологической экспрессии соответствующих рекомбинантных белков, которые далее применялись в серологических реакциях с образцами сыворотки больных различными формами сифилиса и здоровых пациентов. На основании полученных значений чувствительности и специфичности была показана ценность применения каждого из исследуемых белков. Новой разработкой диссертационной работы стал иммуночип, содержащий как уже используемые в клинической лабораторной диагностике антигены Tr15, Tr17, Tr47 и TmpA, так и новые, полученные из штаммов-продуцентов, рекомбинантные антигены *T. pallidum* (патент РФ на полезную модель №181902(У1) от 26.07.2018). Кроме этого, был разработан алгоритм обработки результатов исследований на иммуночипе, который позволяет вероятностно дифференцировать ранний и поздний скрытый сифилис по спектру определяемых антител в крови пациента.

Теоретическая и практическая значимость работы

Несомненная теоретическая и практическая значимость работы заключается в создании штаммов-продуцентов рекомбинантных белков Tr0277, Tr0319, Tr0684, Tr0965, Tr0453 и Tr1038 *T. pallidum*, которые были депонированы в НБЦ «Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов» при ФГУП «ГНИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов» НИЦ «Курчатовский институт» (регистрационные номера №13267, №13266, №13268, №13458, №13457 и №13459), что дает возможность их дальнейшего применения в научных и диагностических целях. Также значимым является практическое применение полученных рекомбинантных белков для создания иммуночипа для специфической диагностики сифилиса на базе ООО «Биочип ИМБ» при ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН (Акт внедрения №54/04-10/2018 от 04.10.2018). Применение данного иммуночипа в качестве метода серологического исследования трепонемных антител дает возможность повысить надежность диагностики сифилиса и получить дополнительную информацию о вероятной форме скрытого сифилиса.

Связь работы с планом соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Диссертационная работа выполнена в рамках фундаментальных и прикладных научных проектов ФГБУ «ГНИЦДК» в соответствии с Государственным заданием

Минздрава России по темам «Поиск новых диагностически значимых антигенов возбудителя сифилитической инфекции» (2012-2017 гг.) и «Разработка набора реагентов для специфической диагностики сифилиса» (2018-2020 гг.). Результаты исследований вошли в отчеты по указанным темам, в научные публикации и патент РФ на полезную модель.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Предлагается возможность применения иммуночипа с расширенной панелью антигенов *T. pallidum* для скрининга пациентов на сифилис, а также для уточнения результатов других серологических тестов с ограниченным набором диагностических антигенов. Дополнительно рекомендуется применять разработанный иммуночип для вероятностной дифференциации скрытых форм сифилиса для уточнения схем лечения и ведения пациентов с бессимптомным течением данного заболевания.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация Руниной А. соответствует паспорту специальности 03.02.03 – микробиология (биологические науки).

Достоверность и апробация результатов исследования

Степень достоверности результатов диссертационной работы подтверждается проверкой последовательности полученных экспрессионных систем путем секвенирования по Сенгеру и идентификацией полученных рекомбинантных белков методом время-пролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS). Также достоверность результатов ИФА и нРИФ подтверждают соответствующие контрольные реакции. Статистическая обработка данных соответствует поставленным задачам.

Результаты диссертации представлены на IV и V Российском конгрессе лабораторной медицины (2–4 октября 2018 г., 11–13 сентября 2019 г., Москва), Всероссийских научно-практических конференциях с международным участием «Молекулярная диагностика 2017» (18–20 апреля 2017 г., Москва) и «Молекулярная диагностика 2014» (18–20 марта 2014 г., Москва), VII Международной школе молодых учёных по молекулярной генетике «Геномика и биология живых систем» (14–18 ноября 2016 г., Москва), а также на XIV–XVIII Всероссийских съездах дерматовенерологов и косметологов (2014–2018 гг., Москва). По результатам диссертации опубликовано 9 статей в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, из них 4 статьи в рецензируемых журналах

систем научного цитирования *Scopus / Web of Science*. Получен 1 патент РФ на полезную модель.

Содержание и оформление диссертации

Диссертация Руниной А. построена по традиционному плану и содержит введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследований, заключение, выводы и список литературы. Диссертационная работа изложена на 163 страницах машинописного текста, включает 15 таблиц и 39 рисунков. Список литературы содержит 193 источника, из них 172 публикации в отечественных и зарубежных журналах, 10 книг, 2 патента, 1 диссертация и 8 интернет-ресурсов. Описанные в работе результаты исследований свидетельствуют о выполнении поставленных задач и достижении цели работы. Выводы обоснованы и логично вытекают из представленных результатов.

Автореферат соответствует ГОСТ 7.0.11-2011 и полностью отражает содержание представленной диссертационной работы.

Заключение

Диссертационная работа Руниной Анастасии на тему «Новые рекомбинантные белки – антигены *Treponema pallidum* для серологической диагностики сифилиса», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология, выполненная под руководством доктора медицинских наук, профессора Дерябина Дмитрия Геннадьевича, является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача по разработке и применению новых рекомбинантных белков *Treponema pallidum* в качестве антигенов, что имеет существенное значение для развития практического здравоохранения и развития науки микробиологии.

Таким образом, можно сделать заключение, что диссертационная работа Руниной Анастасии на тему «Новые рекомбинантные белки – антигены *Treponema pallidum* для серологической диагностики сифилиса» по своей актуальности, новизне и практической значимости соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. в редакции постановления Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016 г., №748 от 02.08.2016 г., №1024 от 28.08.2017, №1168 от 01.10.2018 г.), а ее

автор достоин присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология (биологические науки).

Ведущая организация подтверждает, что соискатель не является ее сотрудником и не имеет научных работ по теме диссертации, подготовленных на базе ведущей организации или в соавторстве с ее сотрудниками.

Отзыв на диссертационную работу А. Руниной был заслушан, обсужден и одобрен на заседании Ученого совета ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора 24.08.2021г., протокол №7.

Заведующая лабораторией молекулярной
диагностики и эпидемиологии инфекций
органов репродукции ФБУН ЦНИИ
Эпидемиологии Роспотребнадзора, к. б. н.

Головешкина

Е. Н. Головешкина



Подпись заведующей лабораторией молекулярной
диагностики и эпидемиологии инфекций органов
репродукции ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора, к. б. н. Е. Н. Головешкиной
«заверяю»

Подпись <i>Е. Н. Головешкина</i>	заверяю
Ученый секретарь <i>М. А. Жигалко</i>	ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной бюджетной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а
тел. 8(495)672-11-29, crie@pcr.ru