



УТВЕРЖДАЮ:

Директор ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Сморodinцева» Минздрава России,
доктор медицинских наук, профессор

Д.А. Лиознов

« 01 » сентября 2025 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

**на диссертационную работу Ушкаленко Никиты Дмитриевича
«Разработка быстрого иммунохимического теста для выявления
ортопоксвирусов», представленной на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
по специальности 1.5.10- Вирусология**

**Актуальность темы диссертационного исследования и ее связь с планами
отраслевой науки**

Диссертационная работа Ушкаленко Н.Д. посвящена разработке быстрого диагностического теста для выявления широкого спектра ортопоксвирусов в формате «у постели больного».

Все виды ортопоксвирусов, кроме вируса натуральной оспы, имеют природные резервуары в животных и классифицируются как зоонозные патогены. Они распространены практически на всех континентах, вызывая заболевания у животных и людей, причем случаи заражения человека участились после прекращения вакцинации против оспы.

Наиболее опасным является вирус натуральной оспы. Несмотря на ликвидацию натуральной оспы в 1980 году, этот вирус хранится в двух лабораториях в США и России, а возможно и в других странах и считается потенциальным агентом биотерроризма из-за своей устойчивости и высокой поражающей способности.

Вирус оспы обезьян является антропозоонозом, вызывающим важнейшую ортопоксвирусную инфекцию в постэрадикационную эпоху. Заболевание может быть смертельным в африканских регионах, несмотря на то, что ранее считалось спорадическим. Этот вирус, как и вирус натуральной оспы, относится к I группе патогенности согласно санитарным правилам. При этом лица моложе 40 лет не имеют иммунитета против ортопоксвирусов, а около 80% ранее вакцинированных утратили защитный иммунитет.

В последнее время случаи заболеваний человека поксвирусами животного происхождения участились в связи с прекращением вакцинации против оспы. Выявление отдельных случаев заболеваний, связанных с ортопоксвирусами (ОПВ),

представляет собой сложную задачу, так как их симптомы на начальной стадии часто напоминают признаки других инфекционных болезней. Тем не менее, быстрое определение возбудителя имеет первостепенное значение для назначения правильного лечения и введения карантинных мер.

Таким образом, выбранная автором тема быстрой дифференциальной диагностики данной группы заболеваний представляется весьма актуальной в современных условиях отсутствия естественной иммунной прослойки к натуральной оспе и риска распространения зоонозных ортопоксвирусов.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций

В ходе выполнения диссертационного исследования автором разработан оригинальный вариант ускоренного одностадийного дот-иммуноанализа, позволяющего выявлять ортопоксвирусы всего за 35 минут в широком диапазоне температур окружающей среды.

Проведена серия лабораторных тестов с применением различных видов ортопоксвирусов, включая опасные для человека штаммы натуральной оспы и оспы обезьян, а также образцов от зараженных лабораторных животных и пациентов.

Установлено, что разработанная система способна обнаруживать вирусы в необработанных препаратах, биологических образцах и клинических пробах при низкой концентрации (до 10^4 БОЕ/мл).

Подготовлен полный пакет технической документации для производства и применения набора «РОХ-экспресс», включающий технологический регламент, технические условия и руководство пользователя.

Теоретическая и практическая значимость полученных автором результатов

Разработанный метод имеет важное значение для своевременной диагностики ортопоксвирусных инфекций в эндемичных регионах и при чрезвычайных ситуациях, в том числе вызванных искусственно.

Автором научно обоснован новый подход к быстрой диагностике ортопоксвирусов и исследованы особенности взаимодействия различных компонентов полученной тест-системы, определены оптимальные параметры проведения тестирования.

Показано, что учет результатов анализа может осуществляться визуально или инструментально с помощью компьютерной программы с получением максимально сходных результатов.

Показана стабильность и воспроизводимость наборов при их серийном производстве внутри серии и между сериями. Показано сохранение свойств набора при долговременном хранении, в том числе с имитацией условий транспортирования и вскрытия упаковки.

Подготовлен комплект научно-технической документации для регистрации

набора.

Степень обоснованности и достоверности сформулированных в диссертации научных положений, выводов и рекомендаций

Выводы и положения, выносимые на защиту, аргументированы и отражают научную новизну и практическую значимость работы. Достоверность экспериментальных данных обеспечена использованием комплекса современных вирусологических, морфологических, иммунологических и химических методов исследования, а также статистического анализа, воспроизводимостью результатов в независимых экспериментах, критической оценкой полученных результатов при сравнении с данными современной научной литературы.

Материалы диссертационного исследования были доложены, обсуждены и рекомендованы к защите на заседаниях Ученого совета ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Результаты работы отражены в 11 публикациях в отечественных и зарубежных изданиях, из которых: 1 монография, 4 статьи в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ для защиты диссертаций, 6 тезисов докладов на всероссийских и международных конференциях.

Содержание диссертации и её оценка

Диссертационная работа состоит из введения, собственных исследований, заключения, выводов, списка литературы и четырех приложений. Работа изложена на 120 страницах, иллюстрирована 24 рисунками и 18 таблицами. Библиографический указатель содержит 205 источников, из которых 23 - работы отечественных и 182 - зарубежных авторов.

Первая глава представляет собой обзор литературы по основной теме работы, включающий описание семейства ортопоксвирусов, их строения и жизненного цикла, современного состояния диагностики и терапии данной группы заболеваний.

Во второй главе представлена информация об использованных в работе материалах и методах исследования. Из представленной информации видно, что в работе использован широкий спектр современных вирусологических, химических, морфологических и иммунологических методов. Набор методов адекватен поставленным задачам исследования.

В третьей главе, состоящей из пяти подразделов, представлены полученные результаты и их обсуждение. В первом подразделе описаны технологии изготовления наборов для дот-иммуноанализа. В частности, описано создание золотого конъюгата и белковых матриц, а также аналитических ванн для тест-системы.

Во втором подразделе изложены результаты оптимизации условий применения наборов для ускоренного варианта дот-анализа. Третий подраздел описывает изготовление серий наборов и оценку их эксплуатационных характеристик.

В четвертом подразделе представлены результаты разработки рабочей панели образцов тест-системы, а последний подраздел представляет собой разработку полного комплекса технической документации для регистрации набора.

Диссертационная работа Ушкаленко Н.Д. выполнена в соответствии с основными направлениями современных научных исследований. Полученные результаты сопоставлены с данными, полученными другими авторами в аналогичных исследованиях.

В главе «Заключение» резюмированы и интерпретированы представленные в диссертации результаты, обсуждена их теоретическая и практическая значимость.

Выводы составлены четко и логично вытекают из результатов диссертации. Апробацию результатов работы следует признать достаточной.

Из недочетов работы следует указать следующие.

– Наличие грамматических и орфографических ошибок в тексте, особенно в разделах «Введение» и «Глава 1».

– В материалах и методах не перечислены химические реактивы.

– Оценка пригодности ряда синтетических материалов для изготовления подложек описана недостаточно подробно.

– На рис.8 надписи перекрывают изображение

Перечисленные замечания не носят принципиального характера и не влияют на общую положительную оценку работы.

Также к автору есть несколько вопросов по теме проведенного исследования:

1- Почему в качестве контрольного образца (КО) применяли препарат, разведенный дистиллированной водой до концентрации 10^5 БОЕ/мл, в то время как набор должен улавливать вирусы в концентрации до 10^4 БОЕ/мл? Не логичнее ли было бы сделать концентрацию одинаковой?

2- Почему инфекционный титр вирусов определяли не на той же клеточной культуре, на которой они были выращены?

3- Есть ли примерные оценки финансовой доступности полученной тест-системы с учетом присутствия в ее составе золота? Будет ли возможность использования набора в районах, эндемичных для зооантропонозных ортопоксвирусных инфекций, которые часто одновременно являются и экономически неразвитыми регионами?

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Полученные в работе результаты можно будет использовать для внедрения в практику диагностики ортопоксвирусных инфекций, в том числе в походных условиях. Результаты проведенных исследований представляют практически полный

комплекс работ для создания соответствующей тест-системы. Отдельно хочется отметить тот факт, что помимо чисто научной работы автор подготовил целый комплекс регистрационных документов, что дополнительно улучшает общее впечатление от исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Ушкаленко Никиты Дмитриевича «Разработка быстрого иммунохимического теста для выявления ортопоксвирусов», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 - Вирусология, представляет собой самостоятельно выполненную и законченную научно-квалификационную работу, по актуальности, объему проведенных исследований, методическому уровню, научной новизне и практической значимости отвечающую требованиям п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Ушкаленко Никита Дмитриевич заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 - Вирусология.

Отзыв рассмотрен на научном семинаре отдела доклинических исследований и утвержден на Ученом совете ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, протокол № 7 от 01.09.2025 г.

Отзыв составил:

Зав. лабораторией химиотерапии вирусных инфекций,
отдела доклинических исследований
ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева»
Минздрава России,
кандидат биологических наук

 Штро Анна Андреевна

Подпись Штро А.А. заверяю:
Ученый секретарь ФГБУ «НМИИ гриппа им. А.А. Смородинцева»
Минздрава России,
кандидат медицинских наук _____ Лобова Т.
«01» сентября 2025 г.

Лобова Тамара Геннадиевна

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 197376, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова 15/17, тел.: +7 (812) 499–15–00, <https://www.influenza.spb.ru/>