

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН НИИ эпидемиологии
и микробиологии имени Пастера
академик РАН, профессор, д.м.н.



А.А. Тотолян

2026 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации Барышниковой Виктории Сергеевны на тему: «Дифференциальная серодиагностика клещевого энцефалита на основе рекомбинантных доменов белка Е», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология

Актуальность темы диссертационного исследования.

Клещевой энцефалит (КЭ) относится к числу наиболее значимых природно-очаговых вирусных инфекций Евразии и продолжает оставаться актуальной проблемой здравоохранения Российской Федерации. Высокая эпидемиологическая активность природных очагов, широкое распространение переносчиков инфекции, а также расширение их ареала, регистрация новых случаев заболевания практически во всех эндемичных регионах страны, а также тяжесть возможных неврологических последствий определяют необходимость постоянного совершенствования методов лабораторной диагностики и эпидемиологического надзора.

В последние годы особое значение приобретают исследования, направленные на совершенствование серологических методов диагностики клещевого энцефалита. Несмотря на широкое применение специфической профилактики, сохраняется потребность в достоверной лабораторной верификации случаев заболевания, оценке поствакцинального иммунитета, проведении сероэпидемиологических исследований и дифференциальной диагностике инфекций, вызываемых различными представителями рода *Orthoflavivirus*, в том числе вирусом клещевого энцефалита, вирусом Западного Нила, вирусом Омской геморрагической лихорадки и вирусом Повассан, распространенными на территории Российской Федерации. Решение указанных задач во многом определяется качеством используемых антигенов, поскольку именно антигенная основа диагностических тестов оказывает существенное влияние на их специфичность.

Большинство коммерческих тест-систем на основе иммуноферментного анализа (ИФА) для выявления антител к вирусу клещевого энцефалита основано на использовании очищенного инаktivированного вируса в качестве антигена. Такой подход обеспечивает высокую чувствительность исследования, однако сопряжен с риском возникновения перекрестных серологических реакций с антителами к другим ортофлавивирусам. Это создает сложности при интерпретации результатов исследования сывороток у вакцинированных лиц, пациентов с перенесенными родственными инфекциями, а также у жителей регионов, в которых совместно циркулируют несколько вирусов данного рода.

В последние годы проблема перекрестной реактивности антител к различным ортофлавивирусам приобретает особую актуальность. Расширение ареалов арбовирусов, международный туризм, рост числа людей, иммунизированных против ортофлавивирусов, требуют поиска новых диагностических подходов, обеспечивающих более высокую специфичность серологических исследований без снижения эффективности.

Одним из наиболее перспективных направлений совершенствования серологической диагностики является использование рекомбинантных вирусных антигенов. Подобный подход позволяет отказаться от применения инфекционного вируса при производстве диагностических реагентов, обеспечивает высокую воспроизводимость получения антигенов, возможность стандартизации технологического процесса и целенаправленного выбора антигенных детерминант, наиболее значимых для формирования специфического гуморального иммунного ответа. Вместе с тем опубликованные к настоящему времени исследования, посвященные использованию рекомбинантных белков вируса клещевого энцефалита, содержат недостаточно информации о перекрестной реакции с антителами к другим представителям рода *Orthoflavivirus*.

Диссертационная работа В.С. Барышниковой, посвященная решению фундаментальной задачи — совершенствованию серологической диагностики клещевого энцефалита на основе рекомбинантных антигенов, — отличается актуальностью, методической продуманностью и несомненной практической значимостью. Представленное исследование органично интегрируется в круг приоритетных направлений современной вирусологии, иммунологии и эпидемиологии. Особую ценность представляет выполненная автором оценка специфичности предложенного подхода с использованием панелей иммунных к клещевому энцефалиту и различным представителям рода *Orthoflavivirus* сывороток крови людей, а также сыворотки нескольких видов лабораторных животных, широко применяемых в качестве *in vivo* моделей. Это существенно повышает практическую значимость полученных результатов и отвечает

современным требованиям к разработке средств серологической диагностики природно-очаговых вирусных инфекций.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций.

Диссертационная работа В.С. Барышниковой выполнена в рамках приоритетных направлений современных исследований в области вирусологии, иммунологии и биотехнологии и соответствует задачам, связанным с совершенствованием лабораторной диагностики социально значимых вирусных инфекций.

Полученные в диссертации результаты имеют выраженную практическую направленность и непосредственно связаны с развитием отечественных технологий получения рекомбинантных вирусных антигенов, созданием новых диагностических реагентов и повышением качества лабораторной диагностики клещевого энцефалита. Выполненное исследование вносит вклад в решение актуальной задачи разработки более специфичных серологических методов выявления антител к вирусу клещевого энцефалита, что имеет существенное значение как для клинической практики, так и для мониторинга коллективного иммунитета и совершенствования эпидемиологического надзора за природно-очаговыми инфекциями.

Научная новизна диссертационной работы В.С. Барышниковой определяется решением актуальной задачи совершенствования серологической диагностики клещевого энцефалита на основе использования рекомбинантных антигенов вируса клещевого энцефалита.

В ходе исследования автором впервые получены рекомбинантные белки, соответствующие эктодомену белка E (sE), доменам I+II и домену III белка E вируса клещевого энцефалита сибирского подтипа (штамм Сухар), а также рекомбинантный эктодомен белка E вакцинного штамма Софьин дальневосточного подтипа. Для полученных белков разработаны и экспериментально обоснованы условия экспрессии, выделения, очистки и последующего использования в лабораторной методике ИФА.

Существенным достоинством исследования является проведенная автором сравнительная оценка диагностических свойств рекомбинантных доменов на экспериментальном и клиническом материале. В отличие от большинства опубликованных исследований, в которых используется клинический материал от людей, в представленной работе проведен анализ специфичности и эффективности диагностической методики ИФА на основе рекомбинантных доменов белка E при исследовании сывороток крови человека и лабораторных животных: обезьян, кроликов, мышей. Это позволило оценить диагностический потенциал антигенов и

определить наиболее перспективную антигенную конструкцию для дальнейшего развития серологических методов диагностики клещевого энцефалита.

К числу наиболее значимых результатов исследования следует отнести проведенный анализ взаимодействия рекомбинантных антигенов с антителами к различным подтипам вируса клещевого энцефалита, а также оценку их специфичности с использованием сывороток, содержащих антитела к широкому спектру представителей рода *Orthoflavivirus*. Полученные результаты существенно расширяют современные представления о диагностических возможностях отдельных доменов белка Е и позволяют более обоснованно подходить к выбору антигенов при разработке новых серологических методов исследования.

Автором убедительно показано, что использование рекомбинантного эктодомена белка Е обеспечивает наиболее благоприятное сочетание диагностической чувствительности и специфичности при исследовании сывороток человека. Результаты, полученные при исследовании сывороток обезьян, мышей и кроликов, выявили значительные различия в диагностическом потенциале исследованных доменов белка Е в зависимости от вида животного. Это указывает на перспективность дальнейшего изучения иммунного ответа на инфекцию вирусом клещевого энцефалита на различных биологических моделях.

Полученные в диссертации результаты обладают как фундаментальной, так и прикладной новизной и вносят вклад в развитие современных представлений об использовании рекомбинантных вирусных антигенов при лабораторной диагностике ортофлавивирусных инфекций.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования.

Результаты диссертационной работы имеют существенное значение для дальнейшего развития серологической диагностики клещевого энцефалита и других ортофлавивирусных инфекций.

Теоретическая значимость исследования определяется тем, что автором впервые получены новые данные об антигенных свойствах структурных элементов белка Е вируса клещевого энцефалита и особенностях их взаимодействия с антителами сывороток крови человека и различных лабораторных животных. Полученные результаты расширяют существующие представления о роли отдельных доменов белка Е в формировании гуморального иммунного ответа и создают научную основу для дальнейших исследований в области молекулярной вирусологии и иммунологии.

Практическая значимость работы определяется разработкой лабораторной методики ИФА, основанной на использовании рекомбинантных антигенов вируса клещевого энцефалита. Выполненные исследования демонстрируют возможность применения рекомбинантного эктодомена белка Е в качестве перспективного

диагностического антигена и создают предпосылки для дальнейшей разработки отечественного диагностического набора, предназначенного для специфической серологической диагностики клещевого энцефалита.

Важным достоинством исследования является то, что оценка диагностических характеристик предложенной лабораторной методики проведена с использованием широкого спектра экспериментального и клинического материала. Автором исследованы сыворотки крови пациентов с подтвержденным КЭ, людей, вакцинированных против КЭ, а также клинические образцы, содержащие антитела к другим представителям рода *Orthoflavivirus*. Это существенно повышает практическую ценность полученных результатов и позволяет рассматривать предложенный подход как перспективную основу для дальнейших разработок в области лабораторной диагностики.

Полученные результаты могут быть использованы при совершенствовании существующих серологических методов исследования, разработке новых диагностических препаратов, проведении сероэпидемиологических исследований, оценке поствакцинального иммунитета, а также при изучении особенностей гуморального иммунного ответа при клещевом энцефалите и других ортофлавивирусных инфекциях.

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

Степень достоверности результатов, представленных в диссертационной работе В.С. Барышниковой, не вызывает сомнений. Она обеспечивается четкой постановкой цели и задач исследования, логичной последовательностью выполнения экспериментальной работы, использованием современных методов молекулярной биологии, вирусологии, иммунологии и биохимии, адекватных поставленным задачам, а также достаточным объемом исследованного экспериментального и клинического материала. Используемые в работе методические подходы соответствуют современному уровню развития вирусологии и лабораторной диагностики, обеспечивая получение воспроизводимых и статистически достоверных результатов.

Полученные результаты проанализированы в контексте современных научных данных, а выводы логически вытекают из представленных экспериментальных данных и полностью соответствуют поставленным задачам исследования. Основные материалы работы доложены и обсуждены на 6 международных и отечественных конференциях вирусологического и медико-биологического профиля. По материалам диссертационного исследования опубликовано 3 печатные работы, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, RSCI, PubMed, соответствующих требованиям ВАК для

публикаций основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук.

Научная специальность, которой соответствует диссертация.

По тематике, методологическим подходам и совокупности новых научных положений диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 1.5.10. Вирусология. Результаты проведенного исследования соответствуют пунктам 7. Изучение противовирусного иммунитета, иммунохимические исследования вирусных антигенов, изучение гуморального, клеточного иммунитета и иммунопатологических реакций и 10. Разработка мер предупреждения, диагностики и лечения вирусных заболеваний, совершенствование лабораторной диагностики, терапии, и иммунопрофилактики вирусных инфекций, проблемы санитарной вирусологии.

Содержание диссертации и полнота изложения ее материалов в опубликованных работах.

Диссертация изложена на 137 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы исследования», главы собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений, списка литературы и приложения. Работа хорошо структурирована, логично построена и соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям по специальности 1.5.10. Вирусология.

Во введении автором убедительно обоснована актуальность выбранной темы, сформулированы цель и задачи исследования, отражены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, представлены положения, выносимые на защиту. Цель исследования сформулирована четко, а поставленные задачи полностью соответствуют выбранному направлению исследования и последовательно решаются в ходе выполнения работы.

Первая глава, посвященная обзору литературы, содержит современный анализ отечественных и зарубежных публикаций по тематике исследования. В работе освещены вопросы биологии вируса клещевого энцефалита, его антигенной организации, особенностей строения и биологических свойств белка Е, механизмов формирования гуморального иммунного ответа, а также проанализированы современные подходы к лабораторной диагностике КЭ. Заслуживает положительной оценки аналитический характер литературного обзора, который не ограничивается изложением общеизвестных сведений. Автор обсуждает преимущества и ограничения существующих диагностических подходов и тем

самым последовательно подводит читателя к постановке целей собственного исследования.

Глава «Материалы и методы исследования» отличается полнотой представленного описания экспериментальной части работы. Используемые методические подходы подробно изложены, что обеспечивает воспроизводимость проведенных исследований. В работе использован современный арсенал методов получения рекомбинантных белков, их очистки и последующей иммунологической характеристики, а также широкий набор клинического материала для оценки диагностических свойств исследуемых антигенов.

Наиболее значимой частью диссертации является глава, посвященная результатам исследований. Автором получено несколько вариантов рекомбинантных антигенов вируса клещевого энцефалита, выполнена оптимизация условий их экспрессии и очистки, после чего проведена оценка возможности их применения в лабораторной серологической диагностике.

Особого внимания заслуживает сравнительный подход, реализованный в работе. Исследование не ограничивается изучением одного рекомбинантного белка, а включает сопоставление диагностических характеристик нескольких антигенных конструкций, соответствующих различным структурным элементам белка Е. Такой подход позволил оценить преимущества и ограничения каждого из исследованных антигенов и определить наиболее перспективную конструкцию для дальнейшего использования в диагностических целях.

Сильной стороной диссертационного исследования является использование широкого спектра экспериментального и клинического материала. Автором исследованы сыворотки крови пациентов, содержащие антитела к вирусам клещевого энцефалита, Западного Нила, японского энцефалита, денге, Зика, Омской геморрагической лихорадки, Повассан, Лангат и желтой лихорадки. Такой объем экспериментальной выборки существенно повышает убедительность полученных результатов и позволяет оценить диагностическую специфичность предложенного подхода.

Следует положительно оценить и тот факт, что автор уделил значительное внимание исследованию перекрестной реактивности полученных антигенов. Именно этот аспект имеет принципиальное значение для практического применения серологических методов диагностики КЭ. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования рекомбинантного эктодомена белка Е в качестве диагностического антигена и подтверждают возможность повышения специфичности лабораторной диагностики по сравнению с традиционными подходами, основанными на использовании цельновирионных антигенов.

В заключении автор обобщает результаты выполненного исследования, сопоставляет их с современными литературными данными и формулирует выводы, которые полностью соответствуют поставленным цели и задачам исследования. Практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы логично вытекают из полученных результатов и отражают возможности их дальнейшего использования в области лабораторной диагностики КЭ. Выводы диссертации представлены четко и обоснованно вытекают из полученных данных.

Автореферат диссертации адекватно отражает ее основные положения и содержание.

Из замечаний следует отметить отдельные стилистические погрешности, которые не влияют на общее положительное впечатление от работы.

Вопросы по диссертационной работе.

Высоко оценивая научный уровень представленной диссертации, ее актуальность, методическое исполнение и практическую направленность, считаем возможным высказать ряд вопросов, которые носят преимущественно дискуссионный характер и не снижают общей положительной оценки выполненного исследования.

1. Представленные результаты убедительно демонстрируют перспективность применения рекомбинантного эктодомена белка E в лабораторной серологической диагностике клещевого энцефалита. Вместе с тем представляет интерес дальнейшая оценка возможности масштабируемости лабораторной методики в качестве клинического диагностикума.

2. В работе показаны диагностические возможности рекомбинантных антигенов при выявлении антител к вирусу клещевого энцефалита. Вместе с тем представляет интерес, рассматривалась ли возможность количественной оценки уровня антител с использованием предложенной лабораторной методики и может ли такой подход иметь перспективы применения при исследованиях поствакцинального иммунитета и сероэпидемиологическом мониторинге?

3. Учитывая современные тенденции к расширению применения мультиплексных серологических технологий, представляет интерес мнение автора о возможности интеграции рекомбинантных антигенов, разработанных в настоящем исследовании, в состав мультиантигенных платформ для одновременной дифференциальной диагностики ортофлавивирусных инфекций.

Высказанные вопросы не затрагивают принципиальных положений диссертации, не влияют на достоверность полученных результатов и носят характер научной дискуссии и рекомендаций по дальнейшему развитию исследований.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов

диссертационной работы.

Полученные данные могут быть использованы при дальнейшем совершенствовании серологических методов диагностики клещевого энцефалита, а также при проведении эпидемиологических исследований, направленных на оценку популяционного иммунитета и совершенствование эпидемиологического надзора за природно-очаговыми инфекциями.

Представленные в диссертации результаты могут найти применение в деятельности научно-исследовательских институтов, учреждений Роспотребнадзора, организаций, занимающихся разработкой иммунобиологических препаратов, а также специализированных лабораторий, выполняющих серологическую диагностику клещевого энцефалита и других ортофлавивирусных инфекций.

Заключение.

Диссертационная работа Барышниковой Виктории Сергеевны на тему «Дифференциальная серодиагностика клещевого энцефалита на основе рекомбинантных доменов белка E», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – Вирусология, является завершенным научно-квалификационным исследованием, в котором решена актуальная научная задача, имеющая существенное значение для развития современной вирусологии и совершенствования лабораторной диагностики клещевого энцефалита. Полученные результаты обладают научной новизной, имеют теоретическое и практическое значение, выводы полностью соответствуют поставленным цели и задачам, а практические рекомендации логично вытекают из представленных экспериментальных данных.

Диссертационная работа отвечает требованиям установленным в пп. 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (в ред. Постановлений Правительства РФ от 30.07.2014 N 723, от 21.04.2016 N 335, от 02.08.2016 N 748, от 29.05.2017 N 650, от 28.08.2017 N 1024, от 01.10.2018 N 1168, от 20.03.2021 N 426, от 11.09.2021 N 1539, от 26.09.2022 N 1690, от 26.01.2023 N 101, от 18.03.2023 N 415, от 26.10.2023 N 1786, от 25.01.2024 N 62, от 16.10.2024 №1382, от 18.07.2026 №905 ред. от 18.07.2026 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Барышникова Виктория Сергеевна, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании Отдела вирусологии Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский

институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол № 8 от 07.08.2026 г.).

Отзыв составил:

Заместитель директора по научной работе,
руководитель отдела эпидемиологии
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,
доктор медицинских наук (1.5.10. Вирусология и 3.2.2. Эпидемиология)
e-mail: vgdedkov@yandex.ru
тел. +7 (812) 232-00-66

Владимир Георгиевич Дедков

Заведующий лабораторией этиологии и
контроля вирусных инфекций
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,
кандидат биологических наук, (03.02.02. Вирусология)
e-mail: ol.kanaeva@gmail.com
тел. +7(812) 644-63-47

Ольга Ильинична Канаева

Подпись д.м.н. В.Г Дедкова, к.б.н. О.И. Канаевой заверяю.
Ученый секретарь ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера
кандидат медицинских наук



Галина Федоровна Трифонова

«11» августа 2026 г.

Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 197101, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Мира, дом 14, Телефон +7(812)233-20-92, <https://www.pasteurorg.ru>