ОТЗЫВ

официального оппонента, *профессора РАН, доцента, доктора биологических наук* Гущина Владимира Алексеевича на диссертационную работу Барышниковой Виктории Сергеевны на тему: «Дифференциальная серодиагностика клещевого энцефалита на основе рекомбинантных доменов белка Е», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология

Актуальность темы диссертации

Клещевой энцефалит остается одной из значимых природно-очаговых вирусных инфекций умеренного климатического пояса Евразии. Несмотря на широкое применение средств специфической профилактики, вирус клещевого энцефалита продолжает активно циркулировать на территории Российской Федерации и ряда зарубежных стран, а ежегодно регистрируемые случаи заболевания сопровождаются риском тяжелого поражения центральной нервной системы и развития стойких неврологических последствий.

Основным методом лабораторной диагностики клещевого энцефалита в настоящее время остается иммуноферментный анализ, основанный на выявлении специфических антител классов IgM и IgG. Большинство применяемых коммерческих диагностических тест-систем используют очищенный инактивированный цельновирионный антиген клещевого энцефалита. Использование таких антигенов имеет объективные ограничения. Высокая степень структурной консервативности белка Е представителей рода *Orthoflavivirus* обусловливает формирование перекрестно реагирующих антител, что может приводить к снижению специфичности серологических исследований, особенно в регионах совместной циркуляции нескольких ортофлавивирусов или при обследовании ранее вакцинированных лиц. В подобных случаях интерпретация результатов ИФА нередко требует применения реакции нейтрализации, которая остается референсным методом, однако более трудоемка и может выполняться только в специализированных лабораториях.

Следует подчеркнуть, что в последние годы актуальность данной проблемы возрастает вследствие расширения ареалов арбовирусов, повышения интенсивности международного туризма и увеличения числа лиц, имеющих поствакцинальный иммунитет к различным ортофлавивирусам. Приводимые в диссертации данные наглядно иллюстрируют масштаб проблемы: для тест-системы Immunozym на основе инактивированного антигена чувствительность составляла 83% при специфичности 49%, а в собственных экспериментах автора коммерческие наборы «Вектор-Бест» и «Euroimmun» показали специфичность 67% (8/12) на панели сывороток с антителами к другим ортофлавивирусам. Эти обстоятельства определяют необходимость разработки диагностических подходов, позволяющих специфично выявлять антитела к вирусу клещевого энцефалита.

Одним из наиболее перспективных направлений решения данной задачи является применение рекомбинантных антигенов, воспроизводящих отдельные структурные элементы белка Е вируса клещевого энцефалита. В последние годы появился ряд исследований, посвященных использованию рекомбинантных доменов белка Е для серодиагностики клещевого энцефалита. Однако большинство из них носит ограниченный характер и не предусматривает комплексной оценки различных антигенных конструкций на репрезентативных выборках клинического материала. В диссертационной работе В.С. Барышниковой выполнено сравнительное исследование нескольких рекомбинантных вариантов белка Е с последующей оценкой их диагностических свойств на широком спектре экспериментальных и клинических образцов, что делает представленное исследование своевременным, научно обоснованным и практически значимым.

Общая характеристика диссертации

Диссертация изложена на 137 страницах машинописного текста, состоит из введения, трёх глав основной части (обзор литературы; материалы и методы; результаты и обсуждение), заключения, выводов, практических

рекомендаций, раздела, посвященного перспективам дальнейшей разработки темы, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложения. Работа хорошо иллюстрирована, содержит 43 рисунка и 18 таблиц. Библиографический указатель включает 295 источников, среди которых преобладают современные зарубежные публикации, посвященные вирусологии, иммунологии, молекулярной биологии и лабораторной диагностике арбовирусных инфекций; более половины цитируемых работ опубликованы после 2017 года. Такой объем проанализированной литературы свидетельствует о глубоком владении автором современным состоянием рассматриваемой проблемы.

Цель исследования сформулирована четко, соответствует современному уровню развития проблемы и логично вытекает из представленного обзора литературы. Для достижения поставленной цели автором определены четыре задачи, охватывающие получение рекомбинантных антигенов вируса клещевого энцефалита, исследование их иммунологических свойств, разработку лабораторной методики иммуноферментного анализа и оценку ее диагностической эффективности. Все поставленные задачи последовательно решены, а представленные результаты в полной мере соответствуют цели исследования.

Следует отметить, что автором реализован комплексный подход, включающий получение нескольких вариантов антигена на основе белка Е, их сравнительную иммунологическую характеристику, исследование диагностических свойств на экспериментальном и клиническом материале, а также анализ перекрестной реактивности с антителами к другим ортофлавивирусам. Такой дизайн исследования позволил не только определить наиболее перспективный антиген для серодиагностики клещевого энцефалита, но и получить новые данные, представляющие интерес для понимания особенностей гуморального иммунного ответа различных организмов при инфекции вирусом клещевого энцефалита.

Анализ содержания диссертационной работы

Представленная диссертационная работа отличается логично выстроенной структурой и последовательностью решения поставленных задач. Исследование выстроено от теоретического обоснования выбора антигенных конструкций к их экспериментальному получению, последующей иммунологической характеристике и оценке диагностической эффективности. Подобная последовательность представляется методически оправданной и позволяет рассматривать полученные результаты как взаимосвязанный комплекс данных, а не совокупность отдельных экспериментов.

Первая глава диссертации представляет собой аналитический обзор современной литературы, посвященный молекулярной организации вируса клещевого энцефалита, антигенной структуре белка Е, особенностям формирования гуморального иммунного ответа и современным методам серологической диагностики клещевого энцефалита. Автор демонстрирует хорошее владение современным состоянием проблемы, обосновано сопоставляет результаты отечественных и зарубежных исследований и аргументировано подводит читателя к необходимости разработки новых диагностических подходов. Следует положительно оценить, что литературный обзор не носит компилятивного характера, а построен вокруг тех вопросов, которые непосредственно определяют логику дальнейшего исследования.

Методическая часть исследования производит благоприятное впечатление своей полнотой и внутренней согласованностью. Для решения поставленных задач использован широкий комплекс современных методов молекулярной биологии, вирусологии, биохимии и иммунологии, полностью соответствующих цели исследования. Особо следует отметить, что автор не ограничился созданием рекомбинантных конструкций, а выполнил последовательную оптимизацию условий экспрессии, очистки и рефолдинга белков, обеспечив получение антигенов, пригодных для последующей

иммунологической оценки. Подобранная схема получения антигенов конкретна и воспроизводима: культивирование продуцента E. coli JM109 в среде ТВ, индукция 0,5 мМ ИПТГ, солюбилизация телец включения 6 М мочевиной, металл-аффинная хроматография на Ni-NTA с элюцией 150 мМ имидазола и рефолдинг путём смены буфера на колонках Hi-Trap Desalting; сорбционная доза антигена (12 нг на лунку) выбрана по выходу кривой «оптическая плотность – концентрация» на плато. Такой подход свидетельствует о высоком уровне экспериментальной подготовки исследования и существенно повышает достоверность последующих результатов.

Одной из наиболее сильных сторон диссертации является рационально сформированный дизайн исследования. В последние годы опубликовано значительное количество работ, посвященных применению рекомбинантных антигенов для диагностики клещевого энцефалита, однако большинство из них ограничивается изучением одной антигенной конструкции либо сравнительно небольшими сериями клинических образцов. В рассматриваемой работе реализован существенно более широкий подход. Автором одновременно исследованы три варианта рекомбинантных антигенов (sE, dI+II и dIII) штамма Сухар сибирского подтипа, а также эктодомен sE вакцинного штамма Софьин дальневосточного подтипа, то есть всего четыре антигенные конструкции, проведено их сопоставление по диагностическим характеристикам, а также выполнена оценка их взаимодействия с антителами к различным представителям рода *Orthoflavivirus*. Именно такая комплексность исследования представляется одним из его основных достоинств.

Следует отдельно отметить качество сформированной панели исследуемого материала. В работе использованы сыворотки лабораторных животных, инфицированных различными штаммами вируса клещевого энцефалита, относящимися к пяти подтипам (европейскому, сибирскому, дальневосточному, байкальскому-1 и байкальскому-2), клинические образцы

пациентов с лабораторно подтвержденным клещевым энцефалитом (53 сыворотки из шести независимых наборов, полученных в разных регионах России и на разных сроках заболевания — от 4 суток до более чем года), сыворотки вакцинированных лиц, а также образцы, содержащие антитела к вирусам Западного Нила, японского энцефалита, Омской геморрагической лихорадки, Повассан, Лангат, денге, Зика и другим ортофлавивирусам, а также к альфавирусу Чикунгунья, взятому для контроля неспецифического связывания на фоне иной арбовирусной инфекции. Подобная панель существенно превосходит объем материала, традиционно используемого в аналогичных исследованиях, и позволяет объективно оценить, как чувствительность, так и специфичность разрабатываемой диагностической системы.

Высокой оценки заслуживает исследование перекрестной реактивности разработанной диагностической методики ИФА. Именно данный аспект представляется одним из наиболее значимых с точки зрения практического применения результатов исследования. В условиях возрастающей эпидемиологической значимости различных ортофлавивирусов проблема специфичности серологической диагностики приобретает особую актуальность. Выполненная автором оценка взаимодействия рекомбинантных антигенов с антителами к широкому спектру ортофлавивирусов позволяет значительно расширить представления об их диагностических возможностях и существенно усиливает доказательную базу исследования. Следует подчеркнуть, что подобный объем проверки специфичности встречается далеко не во всех работах данного направления.

Отдельного упоминания заслуживает удачно выбранная схема учёта результатов. Автор использует не абсолютную оптическую плотность, а коэффициент $K = OD(АГ+)/OD(АГ-)$, где в качестве отрицательного антигена выступает препарат, полученный по той же схеме очистки из клеток E. coli, трансформированных вектором без вставки. Такое решение позволяет учитывать индивидуальный уровень неспецифического связывания

бактериальных белков, что особенно важно при исследовании сывороток от пациентов со смешанными инфекциями. Пороговое значение рассчитано как среднее значение коэффициента для отрицательных сывороток плюс два стандартных отклонения и подтверждено на панелях заведомо положительных и отрицательных образцов, полученных от разных биологических видов.

В целом анализ экспериментальной части позволяет сделать вывод о том, что работа выполнена на современном методическом уровне, отличается внутренней логикой, а полученные результаты взаимно дополняют друг друга и формируют целостное представление о диагностическом потенциале исследованных рекомбинантных антигенов.

Научная новизна, практическая значимость и оценка полученных результатов

Научная новизна диссертационной работы определяется не отдельными экспериментальными результатами, а реализованным автором комплексным подходом к решению задачи повышения специфичности серологической диагностики клещевого энцефалита. В отличие от большинства опубликованных исследований, посвященных разработке рекомбинантных антигенов вируса клещевого энцефалита, автор не ограничился получением одной белковой конструкции и демонстрацией принципиальной возможности ее применения в иммуноферментном анализе. Выполненное исследование охватывает полный цикл создания диагностического подхода — от конструирования и получения рекомбинантных белков до разработки лабораторной методики иммуноферментного анализа и оценки ее диагностических характеристик на репрезентативном экспериментальном и клиническом материале.

Полученные результаты имеют не только прикладное, но и самостоятельное научное значение. Проведенное сопоставление антигенных свойств различных структурных вариантов белка Е позволило получить новые сведения об их диагностическом потенциале и особенностях взаимодействия

с антителами, формирующихся при инфекции вирусом клещевого энцефалита. Автором показано, что использование полного эктодомена белка Е обеспечивает наиболее высокую диагностическую эффективность при исследовании сывороток человека – антитела выявлены в 52 из 53 сывороток пациентов с клещевым энцефалитом (98%), тогда как для домена III этот показатель составил 35 из 53 (66%), а для конструкции dI+II – 3 из 7 (42%), тогда как отдельные домены белка обладают различными диагностическими возможностями, которые целесообразно учитывать при дальнейшем совершенствовании серологических методов исследования. Обращает на себя внимание и обратное соотношение, установленное для антител класса IgM: на 7-е сутки после экспериментального заражения мышей домен III выявлял IgM в 7 из 8 пулов сывороток против 4 из 8 для sE, то есть на ранней стадии инфекции более информативным оказался именно малый домен. Полученные данные расширяют современные представления о возможностях применения рекомбинантных антигенов в лабораторной диагностике клещевого энцефалита.

К числу наиболее значимых результатов диссертации следует отнести проведенную автором оценку специфичности разработанной лабораторной методики иммуноферментного анализа с использованием широкой панели сывороток, содержащих антитела к различным представителям рода *Orthoflavivirus*. Именно этот раздел исследования в значительной степени отличает представленную работу от большинства опубликованных исследований аналогичной тематики. Убедительными представляются, в частности, данные по иммунным асцитным жидкостям мышей, содержащим антитела к вирусам Повассан, Омской геморрагической лихорадки, Лангат и Западного Нила: при высоких титрах гомологичных нейтрализующих антител (2,2 lg и выше) все образцы дали отрицательный результат, а также результаты обследования условно здоровых жителей Московской области, серопозитивных в коммерческом ИФА, у которых титры нейтрализующих антител к вирусу Западного Нила превышали таковые к вирусу клещевого

энцефалита в 9 из 10 образцов — в разработанной методике положительным оказался лишь единственный образец с обратным соотношением титров. Полученные результаты позволяют сделать обоснованный вывод о высокой диагностической специфичности предложенного подхода и одновременно демонстрируют возможность повышения информативности серологических исследований в ситуациях, когда применение цельновирионных антигенов сопровождается перекрестными реакциями. С практической точки зрения данное обстоятельство имеет принципиальное значение, поскольку проблема перекрестной реактивности остается одним из основных ограничений современной лабораторной диагностики ортофлавивирусных инфекций.

Не менее важным представляется и то, что оценка диагностической эффективности предложенной лабораторной методики выполнена не только на экспериментальных моделях, но и на клиническом материале. В исследование включены сыворотки пациентов с подтвержденным клещевым энцефалитом, лиц, вакцинированных против клещевого энцефалита, а также образцы, содержащие антитела к другим ортофлавивирусам. Практически значимым является и результат, полученный на группе лиц, дополнительно иммунизированных вакциной против жёлтой лихорадки (штамм 17D): вакцинация не повлияла ни на выявление анти-ВКЭ антител у ранее привитых против клещевого энцефалита (8/8 как до, так и после иммунизации), ни на отрицательный результат у непривитых (0/6). Такой дизайн исследования существенно повышает убедительность полученных результатов и позволяет рассматривать предложенный диагностический подход как перспективную основу для дальнейшего создания отечественных диагностических препаратов. Именно это, на мой взгляд, является одной из наиболее сильных сторон диссертационной работы.

Следует положительно оценить и тот факт, что автор не ограничился исследованием диагностических характеристик рекомбинантных антигенов, а сопоставил результаты разработанной лабораторной методики с существующими подходами к серологической диагностике клещевого

энцефалита. В прямом сравнении на общей панели клинических образцов разработанная методика при сопоставимой с набором «Euroimmun» эффективности выявления анти-ВКЭ антител (80%) обеспечила специфичность 92% против 67% у обоих коммерческих наборов, причём ложноположительные результаты последних получены на сыворотках пациентов с лихорадкой денге и лихорадкой Западного Нила. Благодаря этому работа приобретает не только фундаментальное, но и выраженное прикладное значение, поскольку позволяет объективно оценить преимущества и ограничения предложенного подхода относительно используемых в настоящее время коммерческих диагностических наборов.

Практическая значимость работы

Практическая значимость диссертационной работы представляется высокой. Полученные результаты создают научную основу для дальнейшей разработки отечественных средств лабораторной диагностики клещевого энцефалита, основанных на применении рекомбинантных антигенов. Предложенная автором лабораторная методика иммуноферментного анализа демонстрирует перспективность использования рекомбинантного эктодомена белка Е в качестве диагностического антигена и может служить основой для дальнейших опытно-конструкторских разработок, направленных на создание отечественных диагностических наборов.

Следует отметить, что применение рекомбинантных антигенов потенциально позволяет отказаться от использования инфекционного вируса при производстве диагностических тест-систем, повысить воспроизводимость технологического процесса, обеспечить более высокую стандартизацию качества диагностических реагентов и упростить масштабирование производства. Представляется, что подобный подход обладает существенными преимуществами как с точки зрения биологической безопасности, так и с позиций дальнейшего совершенствования серологической диагностики клещевого энцефалита.

Полученные автором результаты имеют значение не только для диагностики клещевого энцефалита. Представленные в диссертации данные о диагностических свойствах различных доменов белка Е и особенностях их взаимодействия с антителами могут быть использованы при разработке новых серологических методов исследования других представителей рода *Orthoflavivirus*. В этом отношении работа выходит за рамки решения частной прикладной задачи и вносит вклад в развитие современных представлений об использовании рекомбинантных вирусных антигенов в лабораторной диагностике.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем

По теме диссертации опубликовано 3 научные статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в международных библиографических базах данных — Web of Science, Scopus, RSCI, PubMed, соответствующих требованиям категорирования журналов, в которых должны быть опубликованы научные результаты диссертационного исследования, в том числе в журналах Diagnostics (Q2) и Vaccines (Q1); в двух из трёх публикаций соискатель является первым автором. Основные положения работы доложены на шести российских и международных научных конференциях (в том числе «Ломоносов-2020, 2021, 2022», «Молекулярная диагностика и биобезопасность — 2023», «OpenBio-2023», «WSV 2025», Куала-Лумпур). Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации; опубликованные работы полно отражают полученные результаты.

Соответствие паспорту научной специальности

По тематике, методам исследования, предложенным новым научным положениям диссертация соответствует паспорту научной специальности 1.5.10. Вирусология (биологические науки) и направлениям исследования: пункту 7 — Изучение противовирусного иммунитета, иммунохимические исследования вирусных антигенов, изучение гуморального, клеточного

иммунитета и иммунопатологических реакций; пункту 10 — Разработка мер предупреждения, диагностики и лечения вирусных заболеваний, совершенствование лабораторной диагностики, терапии, и иммунопрофилактики вирусных инфекций, проблемы санитарной вирусологии.

Общая оценка диссертационной работы

В целом диссертационная работа В.С. Барышниковой производит благоприятное впечатление как по уровню экспериментального исполнения, так и по степени проработки рассматриваемой научной проблемы. Исследование отличается четкой логикой построения, последовательностью решения поставленных задач и высоким уровнем методического обеспечения. Представленные результаты взаимно дополняют друг друга и позволяют сформировать целостное представление о диагностическом потенциале исследованных рекомбинантных антигенов вируса клещевого энцефалита.

Следует отметить, что работа не ограничивается решением частной методической задачи получения рекомбинантных белков. Автором проведено комплексное исследование, включающее обоснование выбора антигенов, разработку лабораторной методики иммуноферментного анализа, ее экспериментальную оценку и проверку диагностических характеристик на разнообразном клиническом и экспериментальном материале. Именно комплексность исследования представляется одной из наиболее сильных сторон диссертации.

Важным достоинством работы является ее практическая направленность. Полученные результаты имеют не только фундаментальное значение для понимания диагностических возможностей отдельных доменов белка Е вируса клещевого энцефалита, но и создают научную основу для дальнейшей разработки отечественных серологических диагностических препаратов на основе рекомбинантных антигенов. Представляется, что выполненное исследование может служить отправной точкой для

последующих опытно-конструкторских работ, направленных на создание более специфичных систем лабораторной диагностики клещевого энцефалита.

Замечания по диссертационной работе

При общей высокой оценке диссертации считаю необходимым отметить ряд замечаний. Часть из них носит редакционный характер и касается точности изложения фактического материала, часть относится к методологии оценки диагностических характеристик. Ни одно из приведённых замечаний не ставит под сомнение достоверность экспериментальных данных и научную ценность выполненного исследования.

1. В выводе указано, что методика «выявляет антитела в сыворотках лабораторных животных к 17 штаммам, относящимся к 5 подтипам». Однако, по данным таблиц 9 и 10 диссертации, антитела исследованы в 16 образцах, полученных к 15 различающимся штаммам вируса клещевого энцефалита (восемь иммунных асцитных жидкостей мышей и кроликов и восемь пулов сывороток мышей на 7-е сутки после заражения, при этом штамм Absettarov представлен в обеих таблицах). Число 17 соответствует общему количеству штаммов вируса клещевого энцефалита в коллекции (таблица 2), часть из которых использована только в качестве вируса-мишени в реакции нейтрализации.

2. В работе имеются противоречия в единицах измерения и подписях к иллюстрациям. В таблице 8 (с. 70) выход рекомбинантных белков приведён в графе «Концентрация белка мг/мл» (3,103; 7,884; 7,089; 0,7465), в тексте раздела 3.3.6 и в заключении те же значения указаны как «3,1–7,8 мг с одного литра культуры», а в автореферате (с. 12) — как «г/л». Приведённые варианты различаются на три порядка. В подписи к рисунку 28 диссертации (рисунок 7 автореферата) для белка dI+II указана молекулярная масса 11 кДа, тогда как расчётная масса этой конструкции составляет 33 кДа. В разделе 2.2.21 (с. 53) применительно к бактериальным клеткам использован термин «трансфецированные» вместо «трансформированные». Указанные неточности

носят технический характер, однако требуют исправления, поскольку затрудняют воспроизведение работы.

3. Имеются расхождения в объёмах выборок. В разделе 3.5.2 указано, что специфичность показана «с использованием пула человеческих сывороток (56 сывороток)», тогда как в таблице 15 суммарное число образцов составляет 32. В разделе 3.6 указано, что «для тестирования были взяты 22 сыворотки крови людей», в то время как в таблице 18 представлено 17 образцов. В таблице 15 для группы «лихорадка Западного Нила» при n = 6 результат для белка sE приведён как 0/6, а для белка dIII — как 0/1, что не поясняется в тексте. Указанные несоответствия требуют уточнения.

Вопросы к соискателю

1. Получение рекомбинантных антигенов осуществлялось в бактериальной системе экспрессии. В связи с отсутствием характерных для эукариотических клеток посттрансляционных модификаций и с учётом отсутствия прямого подтверждения корректности рефолдинга представляет интерес мнение автора о том, насколько использование эукариотических экспрессионных систем или субвирусных частиц могло бы повлиять на антигенные свойства исследованных белков и на долю выявляемых конформационно-зависимых антител.

2. Приведённые результаты свидетельствуют о перспективности использования домена dIII для выявления IgM-антител на ранних стадиях заболевания. Планируется ли развитие данного направления?

3. Отдельный интерес вызывают результаты, полученные для рекомбинантного белка dI+II, выявляющего антитела в сыворотках обезьян и человека, но не мышей и кроликов. Рассматривает ли автор возможность использования этого антигена не как самостоятельного диагностического, а как маркёра кросс-реактивного пула антител — например, в паре с sE и dIII для оценки риска антителозависимого усиления инфекции?

4. В разработанной методике учёт результата основан на отношении сигналов с целевым и контрольным антигенами, что удваивает расход образца и посадочных мест на планшете. Планируется ли при переходе к формату диагностического набора переход к абсолютному пороговому значению с использованием аттестованного калибратора и стандартного образца, и какие этапы такого перехода автор считает наиболее критическими (стабилизация и лиофилизация антигена, аттестация стандартного образца, межлабораторные испытания, клинические испытания)?

5. Имеются ли данные о применимости разработанной методики для оценки поствакцинального иммунитета у лиц, привитых зарубежными вакцинами (FSME-IMMUN, Encepur) на основе штаммов европейского подтипа, и планируется ли проверка специфичности на сыворотках людей, содержащих антитела к вирусам Омской геморрагической лихорадки и Повассан, которые пока исследованы только на материале лабораторных животных?

Высказанные замечания и вопросы не затрагивают принципиальных положений диссертации, относятся преимущественно к точности изложения фактического материала, полноте статистического анализа и корректности отдельных формулировок выводов и не снижают общей положительной оценки выполненного исследования.

Заключение

Диссертационная работа Барышниковой Виктории Сергеевны «Дифференциальная серодиагностика клещевого энцефалита на основе рекомбинантных доменов белка Е» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача, имеющая существенное значение для развития современной вирусологии и совершенствования лабораторной диагностики клещевого энцефалита.

Полученные автором результаты обладают научной новизной, имеют теоретическое и практическое значение, характеризуются высокой степенью

достоверности, а сформулированные выводы полностью соответствуют поставленным цели и задачам исследования.

Диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям установленным в пп. 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (с изменениями и дополнениями), а ее автор Барышникова Виктория Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

Официальный оппонент:

Заместитель директора по научной работе,
руководитель отдела эпидемиологии,
заведующий лабораторией механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов
ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России,
доктор биологических наук, доцент, профессор РАН
эл. почта: vladimir.a.gushchin@gamaleya.org,
телефон: +7 (499) 193-30-01
Гущин Владимир Алексеевич

Подпись д.б.н., доцента, профессора РАН В.А. Гущина заверяю.

Исполняющий обязанности ученого секретаря ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России
Кандидат биологических наук
Мария Николаевна Корниенко

«07» сентября 2026 г.

123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д.18
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Тел.: +7 (499) 193-30-01, e-mail: info@gamaleya.org