

Смердова Марина Анатольевна

**ОСОБЕННОСТИ КОЛЛЕКТИВНОГО ИММУНИТЕТА К ВИРУСАМ КОРИ  
И КРАСНУХИ; КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ЛАБОРАТОРНЫХ  
ИССЛЕДОВАНИЙ**

14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Москва 2022

Работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

**Научный руководитель:**

**Топтыгина Анна Павловна** - доктор медицинских наук

**Официальные оппоненты**

Тотолян Арег Артемович, академик РАН, директор Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека;

Чеканова Татьяна Александровна, к.б.н., заведующая лабораторией эпидемиологии природно-очаговых инфекций Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Российской академии наук.

Защита диссертации состоится «    »    2022 г. в \_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.046.02 при Федеральном бюджетном учреждении науки «Московском научно-исследовательском институте эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по адресу: 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова дом 10.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по адресу: г. Москва, ул. Адмирала Макарова дом 10, <http://www.gabrich.ru>

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат медицинских наук

Новикова Лидия Ивановна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Корь относится к высоко контагиозным (более 95%) острым вирусным заболеваниям, у значительной части заболевших характеризуется тяжелым течением. В конце XX века ежегодное число летальных исходов от кори и ее осложнений по данным ВОЗ составляло около 2,5 млн. случаев [Centers for Disease Control and Prevention. Global measles mortality, 2000-2008 / MMWR Morb Mortal Wkly Rep. - 2009]. В связи с большой распространенностью и социальной значимостью коревой инфекции в мире была разработана программа элиминации кори к 2010 г. Важной особенностью кори является то, что она представляет собой антропонозное заболевание. При этом специфические антитела – как постинфекционные, так и поствакцинальные, нейтрализуют все известные генотипы вирусов «дикой» кори, эта особенность является важной предпосылкой для реализации программы элиминации кори путем формирования популяционного поствакцинального иммунитета. Согласно проведенным расчетам, для прерывания цепочек передачи инфекции необходима иммунная прослойка в 85% в возрастной группе до 4 лет, 90% – от 5 до 10 лет и 95% – от 14 лет и старше [Ramsay M., 1998.]. В настоящее время, согласно требованиям ВОЗ, охват прививками должен составлять не менее 95% населения.

Краснуха по характеру течения и контагиозности является менее тяжелым инфекционным вирусным заболеванием, в первую очередь она поражает восприимчивых детей. Однако краснуха чрезвычайно опасна для беременных, так как инфицирование женщины в этот период может приводить к формированию тяжелых пороков развития и даже к внутриутробной гибели плода, что получило название «синдром врожденной краснухи» [Постовит В.А., 1997; Esteghamati A. et al., 2007; Do T.T.T. et al., 2019]. Ежегодно в мире рождается более 100 тыс. детей с синдромом врожденной краснухи, преимущественно в развивающихся странах [Best J. M. et al., 1987; Katow S. et al., 1999; Best J.M. et al., 2005; Binnicker M. et al., 2010]. В 2004 г. ВОЗ по результатам консультаций к программе элиминации кори была добавлена также программа элиминации краснухи к 2010 г. [Eliminating measles and rubella and preventing congenital rubella infection. WHO European Region strategic plan 2005–2010, 2011; Mulders M.N. et al., 2016]. В большинстве стран вакцинация проводится комбинированной вакциной против кори и краснухи. Таким образом, элиминация краснухи может быть достигнута в ходе работы по элиминации кори.

Политика активной массовой вакцинации населения против кори и краснухи, проводимая под эгидой ВОЗ, дала значимые результаты. Заболеваемость корью резко снизилась, также заметно сократилась смертность от этой инфекции [Vauloup-Fellous C., 2018]. Задача полной элиминации кори к 2015 г. казалась близкой и реальной. Однако после первых обнадеживающих результатов начиная с 2008 г из многих стран с высоким охватом вакцинацией стали поступать сообщения о вспышках кори. Сроком возможной элиминации кори был назван 2020 г. Однако был отмечен пик заболеваемости в 2014 г., далее был короткий благополучный период, сменившийся подъемом заболеваемости с 2017 г. в разных странах мира [Epidemiological update: Measles - monitoring European outbreaks, 2017]. Более 7000 человек заболели в 2016-2017 гг. в Румынии, в основном это были маленькие дети, не привитые против кори ранее. В этой вспышке отмечен 31 летальный исход [Epidemiological update: Measles - monitoring European outbreaks, 2017]. По данным ВОЗ, число заболевших корью в мире составило 339138 человек в 2018 г. и 519490 человек – в 2019 [Measles in Europe: record number of both sick and immunized WHO Regional Office for Europe, 2019]. Факты, безусловно, говорят о том, что достичь элиминации кори пока не удастся, несмотря на активную вакцинацию. Исключение составляет Американский регион, который верифицировал элиминацию кори в 2002г.

Заболеваемость краснухой в РФ находится на достаточно низком уровне, что позволяет расценивать ситуацию с этой инфекцией как благоприятную. Россия внесена ВОЗ в список стран, элиминировавших краснуху [Материалы Седьмого совещания Европейской региональной комиссии по верификации элиминации кори и краснухи, 2018 г].

На основе Стратегического плана ВОЗ по глобальной ликвидации кори и краснухи на 2021-2025 гг. в России принята Программа «Элиминация кори и краснухи, достижение sporadической заболеваемости эпидемическим паротитом в Российской Федерации (2021-2025).

Следует отметить, что важным компонентом эпиднадзора является оценка популяционного иммунитета, в том числе с помощью серологических методов. На этапе реализации программы элиминации кори и краснухи особую важность приобретают меры по повышению достоверности результатов лабораторных исследований на наличие антител к этим вирусам. Кроме того, существует необходимость анализа данных, полученных в разных лабораториях, на разном оборудовании, в разное время и на разных тест-системах. В связи с этим, ВОЗ было рекомендовано использовать контрольные препараты [Методические указания МУ 3.1.2943-11, 2011; Manual for the Laboratory-based Surveillance of Measles, Rubella, and Congenital Rubella Syndrome, 2018]. Повышение точности как скрининговых исследований, так и точного количественного определения уровня антител, необходимо для оценки эффективности вакцинации, а также для прогнозирования заболеваемости. В силу наличия случайных и систематических ошибок при всех лабораторных исследованиях необходимо обязательное проведение процедур внутрилабораторного контроля качества. В РФ начиная с 2000 года была оформлена необходимость внутрилабораторного контроля качества для количественных методов исследования, которая регламентируется приказами [ГОСТ Р 50779.42-00, 2004; ГОСТ Р 53022.3-2008, 2009; Приказ Минздрава России от 07.02.2000 № 45; Приказ от 26 мая 2003 г. №220]. В этих документах предусматривается повсеместное внедрение внутрилабораторного контроля качества с помощью контрольных материалов, обеспечивающих качество аналитической стадии количественных лабораторных исследований [Малахов В.Н., 2014].

#### **Степень научной разработанности темы.**

В России при изучении популяционного иммунитета против кори в различных регионах проводятся исследования уровня противокоревых IgG-антител у здорового населения. При этом выявлено повышение доли серонегативных к вирусу кори индивидуумов среди молодых здоровых людей. Согласно прививочному анамнезу, часть данной когорты обследованных не имела прививочных документов либо не прививалась, но около 50% этих людей были привиты в детстве от кори [Голева О.В. с соавт., 2012; Готвянская Т.П. с соавт., 2016; Ноздрачева А.В. с соавт., 2017; Ноздрачева А.В. с соавт., 2018;]. Похожие данные были получены при анализе вспышки кори в Италии, где общее число заболевших составило около 4500 человек, при этом доля людей в возрасте 15-30 лет среди них доходила до 70%. Важно, что в этой когорте были как не привитые, так и получившие вакцинацию в детстве [Filia A. et al., 2017]. Большое значение приобретает заболеваемость взрослых, которые были вакцинированы в детстве [Orsoo O. et al., 2019]. В ряде вспышек кори в разных странах мира значительное число заболевших составляют люди в возрастном диапазоне 18-35 лет [Augusto G.F. et al., 2019; Lisowski B. et al., 2019].

Известен факт первичных вакцинальных неудач: от 2 до 12% привитых от кори не дают полноценного иммунного ответа на вакцинацию [Mitchell L.A. et al., 1998]. Кроме того, около 5% привитых быстро теряют антитела, эта категория относится к вторичным вакцинальным неудачам [Haralambieva I. N. et al., 2019]. Особую тревогу вызывает рост числа серонегативных к кори молодых взрослых. При обследовании заболевших в очагах коревой инфекции были выявлены даже дважды привитые взрослые [Seward J.F. et al., 2012; Voigt E.A. et al., 2016]. Накопленные данные, безусловно, говорят о том, что в условиях ограниченной циркуляции дикого вируса наблюдается постепенное снижение противокорьевого иммунитета в течение жизни привитых людей. Кроме установленных генетических предпосылок к невысокому и непродолжительному иммунному ответу на вирус кори, обсуждается также возможность влияния различных факторов среды обитания. Причины субоптимального иммунного ответа на вирус кори активно обсуждаются в международном научном сообществе, при этом акцент ставится на поиск предикторов слабого ответа и возможности коррекции этого явления [Топтыгина А.П. с соавт., 2015; Haralambieva I. N. et al., 2019]. Однако истинная частота потери противокорьевого иммунитета у привитых, так же как и заболевания корью среди привитых,

остаются до конца неясными. Особое значение на этапе реализации программы элиминации кори и краснухи уделяется контролю качества проводимых исследований состояния популяционного иммунитета к этим вирусам. Ситуация, при которой исследователи получают разные по значимости данные, требует проведения стандартизации полученных результатов, составной частью которой является оценка качества результатов, получаемых при использовании различных тест-систем. Подобная процедура крайне необходима для достижения сопоставимости данных популяционного иммунитета не только к вирусам кори и краснухи, но и другим инфекциям, не только между лабораториями, но и между странами. Так, с целью улучшения серологического надзора за инфекциями, предотвращаемым вакцинацией, Европейской лабораторной сетью проведена стандартизация результатов выявления антител к вирусу кори, полученных лабораториями 22 стран. Большинство лабораторий (15/22), в которых использовались разные тест-системы, было получено высокое общее совпадение (>95%) [Durrhem D.N. et al., 2018; Vauloup-Fellous, 2018]. Были предприняты попытки исследований по переоценке уровня антител, указывающих на сопоставимость значений отсекающей зоны (отрицательной–положительной) [Мамаева, Т.А., 2017]. Имеющиеся алгоритмы касаются только количественных биохимических исследований, а для выявления в образцах сыворотки крови антител класса М и G к вирусам кори и краснухи иммуноферментным методом такие алгоритмы отсутствуют. Наличие алгоритмов контроля качества лабораторных исследований количественного определения уровня антител важны для оценки состояния популяционного иммунитета к вирусам кори и краснухи.

В связи с вышесказанным, исследования, направленные на изучение особенностей гуморального иммунитета к вирусам кори и краснухи и разработку системы контроля качества исследований соответствующих IgG-антител методом иммуноферментного анализа, являются весьма актуальными.

**Цель работы.** Изучить особенности гуморального иммунитета к антигенам вирусов кори и краснухи; разработать алгоритм проведения внутрилабораторного контроля качества при определении антител к вирусам кори и краснухи для повышения качества клинико-лабораторных исследований иммунитета к этим инфекциям.

**Задачи исследования.**

1. Изучить структуру коллективного иммунитета к кори и краснухе у здоровых людей разного возраста.
2. Выявить группу серонегативных к вирусу кори лиц в закрытом коллективе с последующей вакцинацией их против кори.
3. Определить состояние специфического гуморального иммунитета через 6 недель после прививки.
4. Сопоставить постинфекционный и поствакцинальный гуморальный иммунитет к вирусу кори.
5. Разработать порядок и объем процедур при использовании контрольных материалов для проведения внутрилабораторного контроля качества исследования антител к вирусам кори и краснухи методом иммуноферментного анализа.

**Научная новизна.**

Установлено, что в возрасте 6-7 лет количество серопозитивных к вирусу краснухи достигает уровня 90% и сохраняется на этом уровне и выше вплоть до 60 лет и старше.

Обнаружено, что уровень серопозитивных к вирусу кори достигает максимума в возрастной группе 7-14 лет (81,4% от числа обследованных в этой группе). Выявлено значимое снижение уровня серопозитивных к вирусам кори в возрастной группе 18-30 лет до 57,5%.

Выявлена сильная корреляционная связь между уровнем серонегативных к вирусу кори лиц с заболеваемостью корью: любые изменения в уровне противокорьевого иммунитета в возрастных группах отражаются на заболеваемости в той же возрастной группе.

Показано, что по avidности и спектру субклассов IgG-антител, формирующихся в ответ на прививку против кори, можно объективно разделить исходно серонегативных взрослых на

привитых ранее (вторичный тип иммунного ответа) и не привитых от этой инфекции (первичный тип ответа).

Доказано, что вакцинация против кори серонегативных взрослых дает высокий уровень специфических антител как у впервые вакцинированных, так и у вакцинированных в детстве, но утративших противокоревые антитела в условиях отсутствия естественного бустирования на этапе элиминации этой инфекции.

По спектру субклассов специфических IgG-антител и их авидности впервые выявлено, что происходит увеличение количества отвечающих вторичным типом иммунного ответа как среди вакцинированных серонегативных, так и среди заболевших корью взрослых. Среди больных корью детей и подростков не было выявлено вторичного типа иммунного ответа, что свидетельствует о том, что в этой возрастной группе не было привитых.

При коревой инфекции продемонстрирован процесс переключения с раннего первичного IgG3-типа иммунного ответа (6-й день от появления сыпи) на зрелый IgG1-тип, характерный для иммунологической памяти (через 3 недели после появления высыпаний).

Показано, что использование стандартных препаратов для проведения внутрилабораторного контроля качества при проведении исследований уровня IgG-антител к вирусам кори и краснухи иммуноферментным методом позволяет избежать системных и случайных ошибок, что обеспечивает адекватный анализ результатов, полученных в разных лабораториях, на разном оборудовании и разных сериях тест-систем.

#### **Теоретическая и практическая значимость.**

Теоретическая значимость работы заключается в получении новых данных, вносящих вклад в понимание процессов поддержания коллективного иммунитета к вирусам кори и краснухи в условиях спорадической заболеваемости. Показано, что на этапе элиминации кори уровень серопозитивных, достигнув пика 81,4% в возрастной группе 7-14 лет, постепенно снижается до минимума в 57,5% у лиц 18-30 лет, вероятно, из-за снижения циркуляции диких штаммов вируса и отсутствия естественного бустирования.

Прямая корреляционная зависимость между увеличенным уровнем серонегативных лиц и заболеваемостью коревой инфекцией в возрасте 18-30 лет свидетельствует о целесообразности контроля уровня антител против вируса кори среди школьников 10-11 классов для ревакцинации выявленных серонегативных.

На основании полученных в работе результатов показана целесообразность проведения исследования противокорьевого иммунитета на случайной выборке обследуемых лиц с последующим сопоставлением результатов лабораторного тестирования с данными прививочных карт.

Показано, что по спектру субклассов специфических IgG-антител и их авидности можно разделять обследуемых лиц на отвечающих первичным или вторичным типом иммунного ответа на контакт с вирусом, что позволяет сделать вывод об отсутствии или утрате гуморального иммунитета, специфичного к вирусам кори.

Впервые разработан алгоритм проведения внутрилабораторного контроля качества при выполнении лабораторных исследований по определению методом иммуноферментного анализа IgG-антител к вирусам кори и краснухи, отработаны критерии и предложен порядок проведения процедуры. Предложенный алгоритм рекомендовано использовать для отработки и проведения внутрилабораторного контроля качества при выполнении анализов указанных антител на тест-системах различных производителей.

#### **Методология и методы исследования.**

Выполнено открытое сравнительное проспективное исследование особенностей коллективного иммунитета к вирусам кори и краснухи. Получение биологического материала (кровь) произведено с учетом положений Хельсинской Декларации ВМА (2000) и протокола Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине (1999), а также согласно с «Российскими и международными требованиями по надлежащей клинической практике» – ГОСТ Р 52379-2005, GOOD CLINICAL PRACTICE (GCP), одобренными Российской академией медицинских наук. В соответствии с поставленной целью и для решения соответствующих

задач использовались формально-логические методы для анализа научной литературы, клинико-анамнестические, иммунологические и статистические методы исследования.

#### **Внедрение результатов работы.**

Результаты исследований и разработок Смердовой М.А. внедрены в работу Референс-лаборатории ЕРБ ВОЗ, ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н.Габричевского Роспотребнадзора (Москва) и в работу лаборатории этиологии и контроля вирусных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера Роспотребнадзора (Санкт-Петербург). По результатам исследования разработаны методические рекомендации МР 4.2.0287-22 «Организация внутреннего контроля качества в лабораториях, проводящих исследования на специфические антитела к вирусу кори методом иммуноферментного анализа», утверждены Главным государственным санитарным врачом Поповой А.Ю. 30.05.2022.

#### **Степень достоверности и апробация результатов.**

Достоверность результатов диссертационной работы обусловлена достаточным объемом проведенных исследований с применением адекватных, современных методов, обладающих высокой чувствительностью и объективностью, выполненных с помощью современных автоматических диагностических приборов, обладающих системами автоматизированного сбора, учета и анализа данных, и использованием корректных методов статистической обработки материала.

Материалы диссертационной работы были доложены на: XI Съезде Общероссийской общественной организации «Всероссийское научно-практическое общество эпидемиологов, микробиологов и паразитологов» (ВНПОЭМП) «Обеспечение эпидемиологического благополучия: вызовы и решения» (Москва, 2017); Международной конференции «Молекулярные основы эпидемиологии, диагностики, профилактики и лечения актуальных инфекций», посвящённой 110-летию Санкт-Петербургского института имени Пастера (Санкт-Петербург, 2018); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современная иммунопрофилактика: вызовы, возможности, перспективы» (Москва, 2019); XXV Юбилейной Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Наука и практика лабораторных исследований» (Москва, 2020).

Апробация диссертации состоялась на расширенном заседании секции Ученого совета ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н.Габричевского Роспотребнадзора «Общая и прикладная иммунология» 12 ноября 2021 г.

#### **Публикации.**

По теме диссертации опубликовано 12 работ, из них статей в журналах, входящих в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий», рекомендуемых ВАК Министерства образования и науки РФ для публикаций основных результатов диссертационных исследований – 8, в том числе статей в журналах, включенных в базу Scopus и Web of science – 4, тезисов в материалах конференций – 4.

#### **Личный вклад автора**

Автор лично осуществляла все этапы иммунологических исследований и разработки порядка и объема процедур для проведения внутрилабораторного контроля качества при исследовании антител к вирусам кори и краснухи методом иммуноферментного анализа, анализ литературы, статистическую обработку, анализ и описание полученных результатов.

#### **Положения, выносимые на защиту.**

1. Установлено значимое снижение уровня серопозитивных к вирусу кори среди здоровых взрослых 18-30 лет.
2. Выявлено превалирование молодых взрослых в возрасте 18-30 лет среди заболевших корью. Доказано повышение процента лиц, реагирующих на корь вторичным типом иммунного ответа.
3. Аттестованные на базе референс-лаборатории ЕРБ ВОЗ (ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н.Габричевского) образцы «ВЛК Корь-IgG» и «ВЛК Рубелла-IgG» пригодны для проведения внутрилабораторного контроля качества при качественном и количественном исследовании IgG-антител к антигенам вирусов кори и краснухи в сыворотках крови.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 161 странице, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, двух глав результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, рекомендаций и списка литературы. Работа иллюстрирована 18 таблицами и 21 рисунком. Список литературы содержит 305 источников, из них работ отечественных авторов – 145, зарубежных авторов – 160.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

#### **Материал исследования.**

Материалами исследований служили сыворотки крови здоровых людей разного возраста, больных корью и привитых от кори. Было проведено 3 этапа исследования гуморального иммунитета к вирусам кори и краснухи.

На первом этапе были протестированы сыворотки крови от 654 случайно выбранных условно здоровых жителей Москвы и Московской области с неизвестным прививочным анамнезом в возрасте от 0 до 60 лет, обращавшихся в консультативно-диагностический центр ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского для обследования состояния своего здоровья, и от 646 больных корью из Москвы и Московской области, имевших коревые IgM-антитела по данным ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москва» (таблица 1). Серологическое подтверждение коревой инфекции у пациентов было проведено методом иммуноферментного анализа (ИФА) согласно алгоритму дифференциальной диагностики [Мамаева Т.А. с соавт., 2015] и рекомендациям ВОЗ [WHO, 2006] на базе ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве». Биоматериал от здоровых и больных людей собирали в течение 2013 г. (неблагоприятная эпидемическая ситуация на обследованной территории) и хранили при -70°C.

Таблица 1 - Возрастной состав обследованных групп

Возраст, год	до 1 года	1-2	3-6	7-14	15-17	18-30	31-40	41-50	51-60
Здоровые	88	34	94	113	48	87	64	64	62
Больные корью	38	70	52	55	11	181	156	66	17

На втором этапе для более детального изучения особенностей гуморального иммунитета к вирусам кори и краснухи в возрастной группе 18-30 лет были исследованы сыворотки крови от 100 условно здоровых человек в возрасте 18-30 лет. Выявленные серонегативные к вирусу кори были вакцинированы от кори и через 6 недель после вакцинации сыворотки крови от этих привитых были проанализированы на предмет формирования поствакцинального гуморального иммунитета. Работа была одобрена локальным этическим комитетом ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, обследованные подписывали информированное согласие на участие в исследованиях, вакцинацию и обработку персональных данных. Исследования проводились с сентября по декабрь 2018 г. Перед включением в исследование собирался прививочный анамнез пациента.

На третьем этапе для сопоставления особенностей специфического гуморального иммунного ответа на вирус кори у взрослых больных и привитых от этой инфекции были исследованы сыворотки крови от 50 взрослых больных корью в возрасте от 20 до 55 лет, находившихся на стационарном лечении в коревом отделении 2-ой инфекционной больницы г. Москвы с февраля по апрель 2019 г. (зав. отделением Вдовина Е.Т.). У всех больных диагноз был подтвержден клинически и лабораторно по наличию противокоревых IgM-антител. Группу сравнения составили сыворотки крови, полученные от 50 изначально серонегативных к вирусу кори условно здоровых взрослых, сопоставимых по возрасту, привитых от кори в прививочном кабинете ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, через 6 недель после прививки. Все обследованные подписывали информированное согласие на взятие биоматериала для исследования и обработку персональных данных.

#### **Вакцины и препараты.**

В работе была использована вакцина коревая культуральная живая, которая выпускается в виде лиофилизата (однородная пористая масса светло-розового цвета) для приготовления раствора для подкожного введения (восстановленный препарат – прозрачная жидкость розового

цвета). Одна прививочная доза препарата (0,5 мл) содержит 1000 тканевых цитопатических доз (ТЦД<sub>50</sub>) штамма Л-16. Производитель: «Микроген», Россия.

#### **Контрольные материалы.**

«ВЛК Корь-IgG» (лиофильно высушенный препарат, содержащий IgG к вирусу кори) и «ВЛК Рубелла-IgG» (лиофильно высушенный препарат, содержащий IgG к вирусу краснухи). Все контрольные образцы были изготовлены на основе сыворотки крови человека, стабилизированной (с помощью смеси сахарозы (до 5%) и консерванта ProClin-3000) и инактивированной прогреванием (56 °С в течение 1 часа); не содержат HBs-антиген и p24 HIV-1-антиген и антител к HCV, T. pallidum, HIV-1,2; лиофильно высушены. Все контрольные образцы были изготовлены по техническому заданию ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского в 2014 г. на конкурсной основе в компании ЗАО «Вектор-Бест».

#### **Иммуноферментный анализ.**

*Определение количества специфических иммуноглобулинов классов IgM и IgG.*

Антитела классов IgM и IgG к вирусу кори и краснухи в сыворотке крови определяли методом ИФА с помощью тест-систем «ВектоКорь-IgM», «ВектоКорь-IgG», «ВектоРубелла-IgG» (производитель «Вектор-Бест», Россия), зарегистрированных и разрешенных к применению на территории РФ.

*Определение специфических IgA и субклассов специфических IgG.*

Субклассы специфических IgG-антител и специфические IgA определяли методом ИФА в модификации [Топтыгина А.П. с соавт., 2004]. Были использованы 96-луночные планшеты с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок антигенами кори от коммерческого набора «ВектоКорь-IgG». Для сопоставления результатов различных опытов использовали стандартную сыворотку, содержащую специфические антитела к вирусу кори всех четырех субклассов IgG или специфические IgA-антитела. Результат при определении субклассов IgG выражали в процентах от общего специфического IgG. В качестве конъюгатов использовали меченные пероксидазой моноклональные антитела к IgG1 (клон 10G/2C11), IgG2 (клон 23G/3C7), IgG3 (клон 22G/5G12) и IgG4 (клон 20G/5C7) или к IgA (ООО «Полигност», Россия) в концентрации 1 мкг/мл.

*Определение avidности специфических антител.*

Для определения индекса avidности в исследуемых сыворотках использовали зарегистрированную и разрешенную к использованию в РФ тест-систему «Avidity: Anti-Measles Viruses ELISA/IgG» фирмы Euroimmun (Германия). Avidность IgG оценивали по проценту диссоциации специфических иммунных комплексов согласно инструкции производителя.

Разделение гуморального иммунного ответа на первичный и вторичный тип иммунного ответа осуществляли по спектру субклассов и avidности IgG. Для первичного типа иммунного ответа характерно преобладание низкоавидных (менее 40%) специфических антител IgG3-субкласса, при вторичном типе иммунного ответа преобладают высокоавидные (более 80%) антитела субкласса IgG1 [Мамаева Т.А. с соавт., 2012; Топтыгина А.П. с соавт., 2013; Топтыгина А.П. с соавт., 2014].

#### **Проведение внутрилабораторного контроля качества скрининговых исследований.**

Согласно Приказу МЗ РФ № 45 от 07.02.2000 о повышении качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения Российской Федерации необходимо проводить внутрилабораторный контроль качества (ВКК) с использованием контрольных материалов. ВКК применяют для оценки внутри- и межсерийной сходимости (далее сходимость и воспроизводимость) анализа. В данной работе использовали контрольные материалы «ВЛК Корь-IgG» и «ВЛК Рубелла-IgG».

#### **Методы математической обработки полученных результатов.**

Для каждого параметра была исследована статистическая гипотеза о нормальности распределения данных по критерию о равенстве дисперсий. В случае, если гипотеза не была подтверждена, полученные результаты были подвергнуты статистической обработке с вычислением медианы, первой и третьей квартилей (Me (LQ-HQ)). Для непараметрических

методов применяли U-критерий Вилкоксона. В случае подтверждения нормальности распределения признака использовали параметрическую статистику с вычислением средней арифметической и ее стандартной ошибки ( $M \pm SE$ ). Для сопоставления групп применяли t-критерий Фишера-Стьюдента. Уровень  $p < 0,05$  считали значимым.

Для оценки сходимости и воспроизводимости результатов измерений «ВЛК Корь-IgG» и «ВЛК Рубелла-IgG», построения контрольных карт использовали параметры вариационной статистики согласно ГОСТ Р 53133.1-4-2008, часть 2 [ГОСТ Р 53133.2-2008, 2009; ГОСТ Р 53022.1-2008, 2009; Янцев А.В., 2012].

#### **Правила построения контрольной карты.**

По результатам 20 аналитических серий исследований контрольного материала рассчитывали: среднюю арифметическую величину  $X_{ср}$ , среднее квадратическое отклонение  $S$ , контрольные пределы:  $X_{ср} \pm 1S$ ,  $X_{ср} \pm 2S$  и  $X_{ср} \pm 3S$  [Приказ МЗ РФ от 07.02.2000 № 45].

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

### **Влияние особенностей коллективного иммунитета к антигенам вирусов кори и краснухи на структуру заболеваемости.**

Известно, что после заболевания корью и краснухой появляется длительный, практически пожизненный иммунитет. По данным литературы [Haver E., 1940], лица, переболевшие корью даже за 65 лет до повторного контакта с вирусом, корью не заболевают. Специфические антитела, циркулирующие в крови переболевших практически в течение всей их жизни, являются основным фактором сохранения невосприимчивости к этим инфекциям. Это подтверждается и на основании многолетних серологических обследований лиц, переболевших корью и краснухой. Специфические антитела после вакцинации также предохраняют от заболевания. Современные живые противовирусные вакцины стимулируют антителообразование у 90-97 % иммунизированных лиц [Зарганьянц А.И. с соавт., 2005]. Объективно оценить ответ на вакцинацию можно только при проведении серологического обследования населения. В зависимости от поставленной цели исследований состояния противокорьевого и противокраснушного иммунитета подбирается разный возрастной состав населения и периодичность обследования. В настоящее время, по рекомендациям ВОЗ, основным методом в проведении таких обследований является метод ИФА.

Согласно нормативному документу по проведению серомониторинга [Методические указания МУ 3.1.2943-11, 2011], в России обследуют привитых лиц разного возраста на всех территориях РФ. В то же время для оценки популяционного иммунитета важно учитывать наличие непривитых лиц, отказывающихся от вакцинации, а также лиц без документального подтверждения сведений о прививках.

В связи с вышеизложенным, на первом этапе работы было проведено исследование состояния гуморального иммунитета против кори и краснухи у 654 условно здоровых людей в популяции в одном регионе (Москва и Московская область) и сопоставление этих данных с заболеваемостью корью на этих территориях.

Структурный анализ коллективного иммунитета, выраженный в процентах лиц, имеющих специфические антитела в зависимости от возраста (рисунок 1) показал, что среди младенцев до 6 мес. антитела против вирусов краснухи обнаруживались у 15 из 40 детей (37,5%), а против вирусов кори – у 5 из 40 (12,5%). К 1 году жизни эти показатели снижаются, антитела против вирусов краснухи обнаруживались у 8 из 48 детей (16,7%), а против вирусов кори – у 2 из 48 (4,2%). По-видимому, это связано с постепенным исчезновением материнских антител из кровотока детей к этому возрасту. В возрастной группе 1-2 лет антитела к антигенам вирусов краснухи были выявлены у 22 из 34 детей (64,7%) и к антигенам вирусов кори – у 20 из 34 обследованных детей (58,8%). Следует помнить, что согласно календарю вакцинации в Российской Федерации дети именно этого возраста получают первую дозу вакцины против вирусов кори и краснухи. К возрасту 6 лет, когда проводится вторая вакцинация против вирусов кори и краснухи, антитела к антигенам вирусов краснухи были обнаружены у 84 из 94 детей

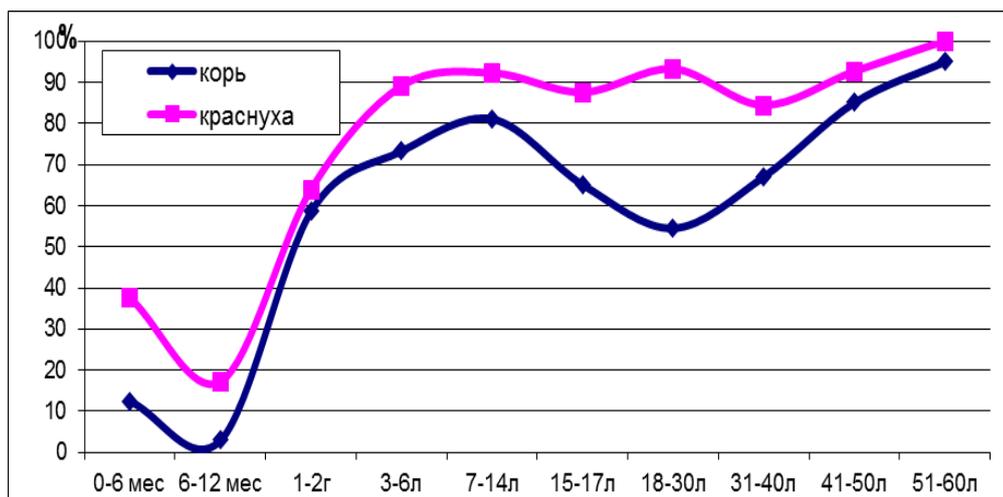
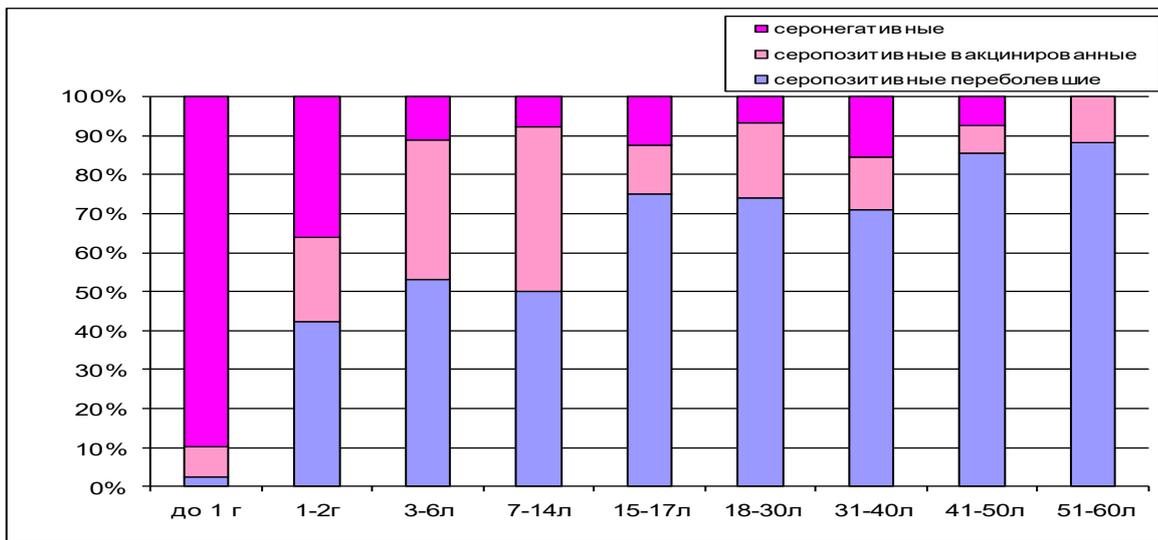


Рисунок 1 -  
Возрастная динамика процента серопозитивных к вирусам кори и краснухи лиц.  
*Примечание. По оси абсцисс указан возраст.*

(89,4%), а к антигенам вирусов кори – у 69 из 94 детей (73,4%). Уровень серопозитивных к вирусам краснухи колебался около 90% во всех последующих возрастных группах от 14 лет вплоть до возрастной группы 51-60 лет. Уровень серопозитивных к вирусам кори был максимален в возрасте 7-14 лет (92 серопозитивных из 113 детей – 81,4%), затем постепенно снижался до 57,5% (50 серопозитивных из 87) в возрастной группе 18-30 лет, у обследованных 31-40 лет этот показатель вновь повышался до 68% и далее колебался около 90% в последующих возрастных группах. Был выявлен высокий процент переболевших краснухой (40-50% в детском возрасте и 70-80% у взрослых), что обеспечивает внешне более благоприятную ситуацию с данной инфекцией (рисунок 2а), когда после 6 лет достигается плато на уровне 90% серопозитивных и выше (см. рисунок 1). В возрастных группах до 30 лет процент переболевших корью составил 15-20%, затем их доля начинает увеличиваться в более старшем возрасте (рисунок 2б).

Полученные на 654 обследованных результаты анализа структуры популяционного иммунитета к вирусам кори в зависимости от возраста были сопоставлены с анализом возрастной структуры заболеваемости на основании исследования сывороток крови от 646 больных корью на тех же территориях и в тот же год исследования. При анализе заболеваемости корью в разных возрастных группах оказалось, что основную массу заболевших составили взрослые: из 646 человек 420 взрослых (65,0 %) и 226 детей (35,0%).

Среди детей наиболее подверженными заболеванию оказались дети 1-2-х лет (70 человек), что составило 10,8% от всех больных корью. Доля подростков в общей заболеваемости была относительно малой – 11 из 646 (1,7%). А среди взрослых (старше 18 лет) чаще других болели люди в возрастной группе 18-30 лет – 28,0% (181 из 646 заболевших). Из 420 взрослых больных 80,2% (337 человек) составили лица в возрасте 18-40 лет. Важно, что из этих 337 пациентов вторичным иммунным ответом реагировал на инфекцию 61 человек (18,1%). Следует отметить, что больные с вторичным иммунным ответом были выявлены только среди взрослых (рисунок 3). Так, вторичным типом иммунного ответа на вирус кори ответили: из 181 человека возрастной группы 18-30 лет 22 больных (12,2%), в группе 31-40 лет из 156 человек – 29 пациентов (18,6%), а в группе 41-50 лет из 66 человек – 10 больных (15,2%). Все 226 детей и подростков, заболевших корью, ответили на инфицирование первичным типом иммунного ответа. Лиц с вторичным иммунным ответом среди детей, подростков и взрослых старше 50 лет выявлено не было. При сопоставлении результатов оценки возрастной структуры заболеваемости корью с долей серопозитивных лиц того же возраста (представлено на рисунке 4), видно, что состояние гуморального противокорьевого иммунитета и заболеваемость корью сопряжены: любые изменения в уровне серопозитивных к вирусу кори лиц в возрастных группах отражаются на заболеваемости в той же возрастной группе. Особенно демонстративные результаты, полученные для возрастных групп 18-30 и 31-40 лет.



а  
б

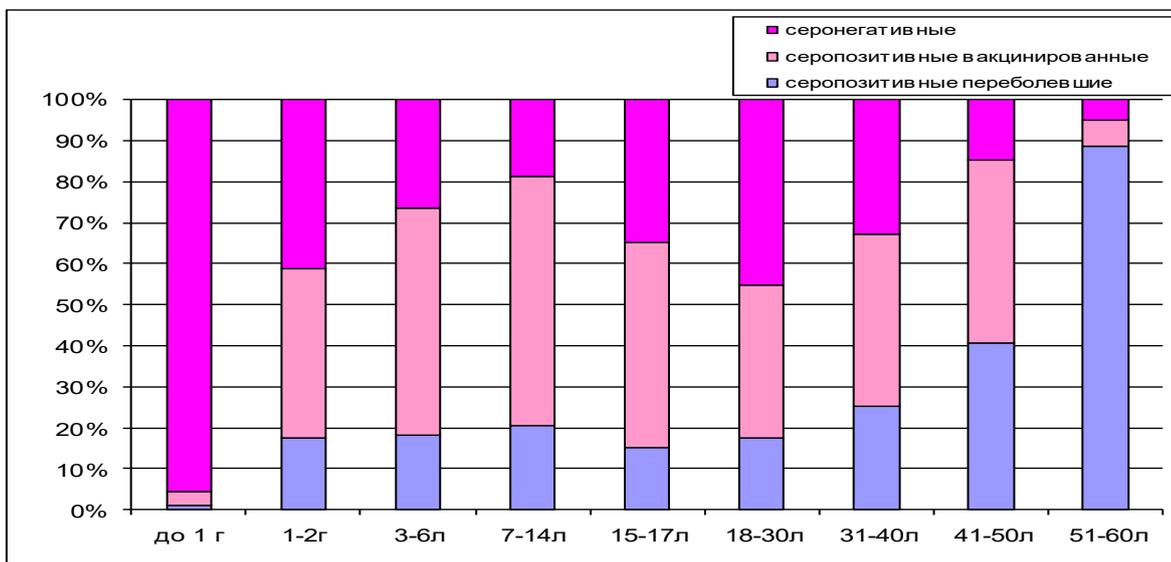


Рисунок 2 – Структура иммунитета (%) против вирусов кори и краснухи у здоровых людей в зависимости от возраста.

Примечание. а – краснуха. б – корь. По оси абсцисс – возраст в годах.

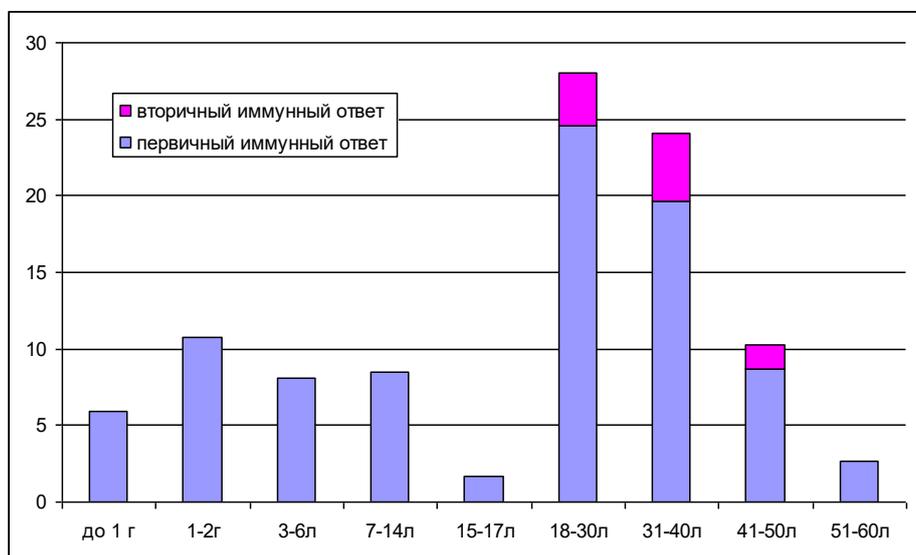


Рисунок 3 – Возрастная структура иммунного ответа больных корью с первичным и вторичным иммунным ответом

Примечание. По оси абсцисс – возраст в годах. По оси ординат – процент больных корью.

Выявлена сильная отрицательная корреляция между заболеваемостью корью и уровнем серопозитивных к вирусу кори лиц ( $r = - 0,76$ ) в исследованных возрастных группах.

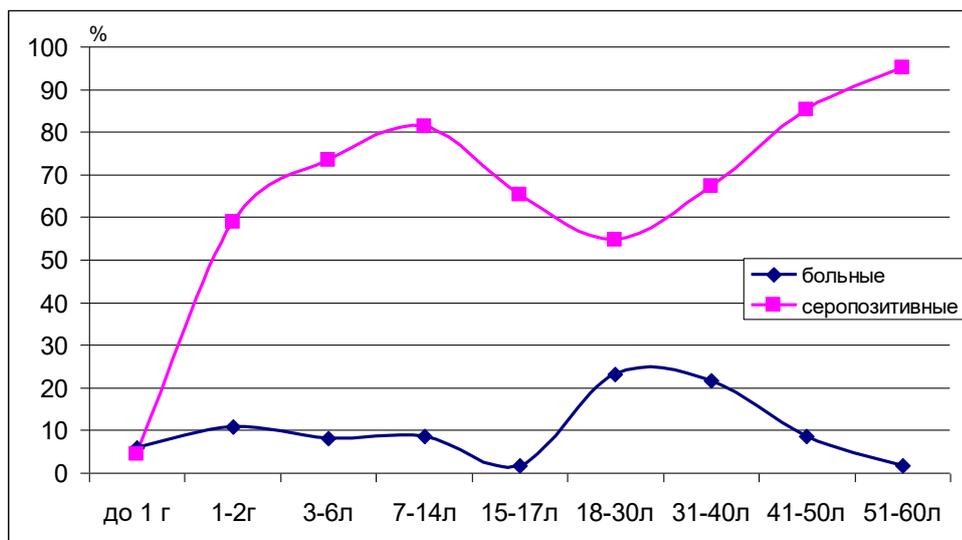


Рисунок 4 – Сопоставление заболеваемости корью (%) с процентом серопозитивных к вирусу кори здоровых людей, в зависимости от возраста.  
*Примечание. По оси абсцисс – возраст в годах.*

Таким образом, анализ структуры гуморального иммунитета к вирусам кори и краснухи г. Москвы и Московской области выявил интересные закономерности. Если для краснухи процент серопозитивных лиц достигает 90% к возрасту 6-7 лет, когда проводится вторая вакцинация от этой инфекции, и сохраняется на этом уровне вплоть до старшей возрастной группы, то этот показатель для кори достигает максимума в 81,3% в возрастной группе 7-14 лет, а далее начинает прогрессивно снижаться до уровня 57,5% серопозитивных в возрастной группе 18-30 лет, и затем снова повышается в возрастных группах старше 40 лет до 85–95%. И именно на возраст 18-30 лет приходится максимум заболевших этой инфекцией, по результатам анализа заболеваемости корью жителей г. Москвы и Московской области за тот же временной период. Важно, что среди детей и подростков не было выявлено лиц, отвечающих на коревую инфекцию вторичным иммунным ответом. Это свидетельствует о том, что среди заболевших детей не было привитых. Среди взрослых больных четко различаются 2 подгруппы: отвечающие на инфекцию первичным иммунным ответом (80-90%) и реагирующие на корь вторичным иммунным ответом (10-20%).

Наши исследования показали, что для оценки состояния популяционного иммунитета целесообразно обследовать разные возрастные группы без учета прививочного анамнеза для последующей вакцинации серонегативных. Такой подход дает намного больше сведений для понимания процессов поддержания уровня коллективного противокорьевого иммунитета. Учитывая ошибку достоверности выборочных исследований, целесообразно продолжить эти исследования в будущем, что позволит подтвердить или опровергнуть наличие тенденции утраты поствакцинального иммунитета в процессе жизни в условиях спорадической заболеваемости корью.

#### **Гуморальный иммунитет к антигенам вирусов кори и краснухи у здоровых людей в возрасте 18-30 лет.**

Для углубленного анализа состояния коллективного противокорьевого иммунитета в возрастной группе 18-30 лет было решено целенаправленно исследовать иммунитет к вирусу кори именно в этой возрастной группе с последующей вакцинацией тех, кто не имел специфических антител к вирусу кори, и оценкой у них поствакцинального иммунитета. Для этого дополнительно был оценен специфический гуморальный иммунитет к антигенам вирусов кори и краснухи у 100 здоровых людей в возрасте от 18 до 30 лет. В результате наших исследований серонегативными к антигенам вируса кори оказались 68%, а к вирусу краснухи только 5% лиц этой возрастной группы. Структура гуморального иммунитета к вирусам кори и краснухи по уровню специфических антител представлена на рисунке 5. Все 68 серонегативных к кори были привиты коревой вакциной, но только у 50 из 68 первоначально включенных в

исследование человек был исследован поствакцинальный иммунитет. Следует отметить, что у всех этих 50 здоровых взрослых, которые первоначально не имели специфических антител к вирусу кори, после вакцинации против кори появились специфические антитела класса IgG. Следовательно, отсутствие этих антител на начало обследования не может быть объяснено первичной вакцинальной неудачей, когда специфические антитела вообще не формируются.

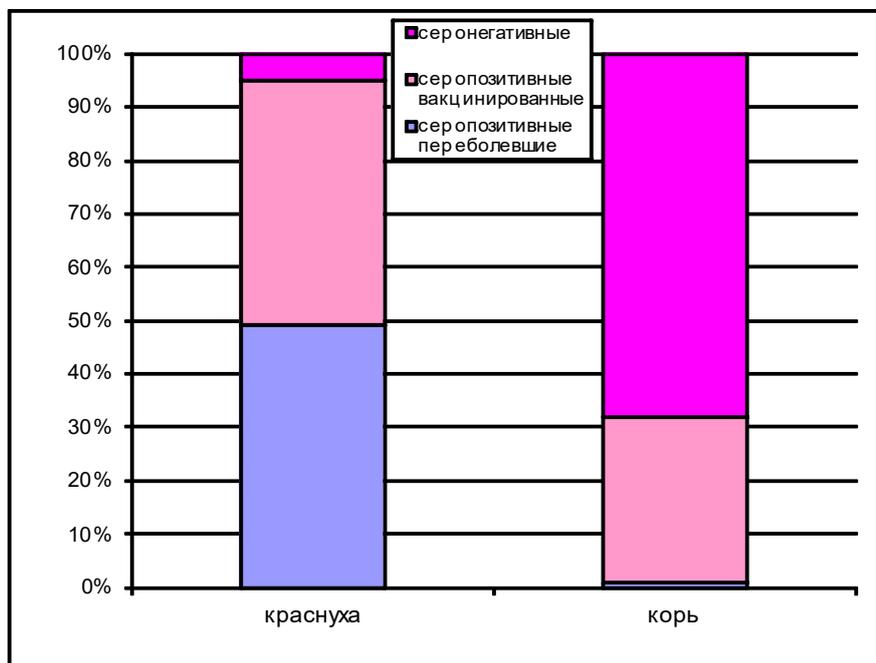


Рисунок 5 – Структура гуморального иммунитета (%) против вирусов кори и краснухи у здоровых людей 18-30 лет.

Из литературных данных известно, что существует генетическая предрасположенность к преобладанию гуморального или клеточного типа иммунного ответа на конкретный антиген. Полагают, что это связано с индивидуальной особенностью HLA-антигенов конкретного человека, т.к. именно они отвечают за презентацию вирусного антигена Т-клеткам, тогда как В-клетки в такой презентации не нуждаются [Ovsyannikova I.G. et al., 2005]. Также показано, что индивидуальные различия в уровнях продукции ключевых цитокинов влияют на уровень иммунного ответа на коревые антигены [Naralambieva I.H. et al., 2011]. Всех привитых от кори в данной работе разделили по спектру субклассов специфических IgG на подгруппу А, ответившую на вакцинацию первичным типом иммунного ответа, и подгруппу Б, ответившую на прививку вторичным иммунным ответом. При анализе спектра субклассов специфических IgG-антител было показано, что 24 человека из 50 (48,0%) изначально серонегативных ответили первичным типом иммунного ответа, в этой группе преобладали антитела IgG3-субкласса. Можно предположить, что эти люди не были привиты в детстве от кори. В то же время 26 (52,0%) человек ответили по вторичному типу (абсолютные значения представлены в таблице 2). Это позволяет думать, что эти люди были привиты от кори в детстве, но утратили в процессе жизни противокоревые антитела. По-видимому, у них сохранились В-клетки памяти. Эти клетки со времени вакцинации в детстве несут перестроенные рецепторы, преимущественно IgG1-субкласса, но никак себя не проявляют, пока есть антитела и нет повторной встречи с вирусом. Поэтому, при проведенной нами вакцинации (а для этой когорты – ревакцинации), эти «дремлющие» В-клетки памяти быстро активировались, воссоздали популяцию плазматических клеток с уже перестроенным рецептором, которые быстро начали синтезировать специфические антитела преимущественно IgG1-субкласса, что характерно для вторичного типа иммунного ответа.

На рисунке 6 продемонстрированы различия в профилях субклассов специфических IgG-антител среди лиц, ответивших первичным (подгруппа А) и вторичным (подгруппа Б) типом иммунного ответа на прививку от кори. В подгруппе А avidность антител колебалась от 27,5 до

51,1% (медиана 39,8%), а в подгруппе Б – от 73,6 до 88,3% (медиана 82,8%). Параметры первичного и вторичного иммунного ответа различаются с высокой степенью значимости  
 Таблица 2 - Показатели специфического гуморального иммунного ответа через 6 недель после вакцинации против вируса кори, Me (LQ-HQ)

	IgG (МЕ/мл)	IgG1 (МЕ/мл)	IgG2 (МЕ/мл)	IgG3 (МЕ/мл)	IgG4 (МЕ/мл)	IgA (МЕ/мл)	Авидность (%)
Первичный иммунный ответ (подгруппа А) 24 человека	1,24 (0,69- 1,95)	0,80 (0,56- 0,98)	0 (0-0)	0,96 (0,67- 1,02)	0 (0-0,12)	0,73 (0,51- 1,29)	39,8 (34,2- 43,1)
Вторичный иммунный ответ (подгруппа Б) 26 человек	1,35 (0,87- 1,75)	1,18 (0,83- 1,57)	0 (0-0)	0,22 (0,17- 0,36)	0,12 (0- 0,15)	0,61 (0,40- 0,91)	82,8 (81,5- 84,5)

( $\chi^2 = 278,716$ ;  $p << 0,0001$ ). Сопоставив результаты определения авидности и спектра субклассов противокоревых IgG-антител через 6 недель после прививки и данные о прививках из медицинских карт, мы выяснили, что в подгруппе А, ответившей на вакцинацию первичным типом иммунного ответа 62,5% имели сведения о проведенных в детстве двукратных прививках от кори. В то же время, в подгруппе Б, ответившей на прививку вторичным типом иммунного ответа, только 57,7% людей имели сведения о прививках против кори.

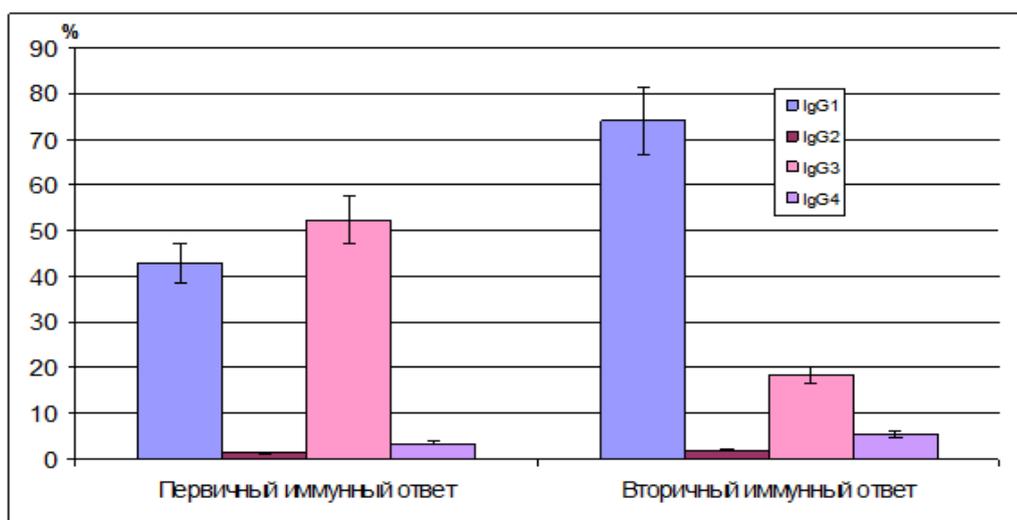


Рисунок 6 – Спектр субклассов противокоревых IgG-антител у первоначально серонегативных взрослых через 6 недель после прививки (в процентах от общего противокорьевого IgG).

Таким образом, все 50 изначально серонегативных людей после вакцинации против кори сформировали противокоревые IgG-антитела. Из 50 привитых 26 человек ответили по вторичному типу. Эти люди были привиты от кори в детстве, но утратили в процессе жизни специфические антитела. Практически половина привитых (48,0%) ответили на вакцинацию первичным типом иммунного ответа, что свидетельствует об отсутствии у них как специфических плазматических клеток, так и В-клеток памяти. Эти люди, по-видимому, либо вовсе не были привиты, либо были привиты с нарушениями. Подобный контингент наиболее подвержен заболеванию корью.

С чем связано такое расхождение между полученными лабораторными результатами и записями в картах о прививках? Как обсуждалось выше, все эти люди ответили на нашу вакцинацию, что подтверждается лабораторным методом, т.е. у каждого человека были определены специфические антитела к вирусу кори, следовательно, их нельзя отнести к группе первичных вакцинальных неудач, когда нет ответа на прививку. Можно предположить, что

часть этих людей составляют группу вторичных вакцинальных неудач, когда иммунный ответ на вакцину формируется, но быстро исчезает. Заргарьянц А.И. с соавт. [2005] в своей работе показали, что суммарно первичные и вторичные вакцинальные неудачи составляют 10,8-12,7 % после первой вакцинации и 13,7-17,1% после ревакцинации. Вторичные вакцинальные неудачи составляют около 5%, т.е. таких людей не настолько много. С другой стороны, вакцинацию против кори проводят в возрасте 1 год, когда иммунная система ребенка находится в начальной стадии своего развития [Топтыгина А.П. с соавт., 2012]. Процессы формирования и созревания иммунной системы идут неодинаково у разных людей, поэтому в этом возрасте возможны проблемы с формированием и поддержанием долговременной иммунологической памяти. Ревакцинация, согласно календарю прививок РФ, проводится в 6 лет, когда иммунная система уже более зрелая, но, к сожалению, не все дети получают вторую дозу вакцины. Кроме того, можно предположить, что часть обследованных нами людей была привита с нарушениями или некачественной вакциной, поскольку это люди, родившиеся в 90-ые годы прошлого века, а в это время наша медицина, как и вся страна, испытывала серьезные трудности с финансированием. И, наконец, существует вероятность, что записи о прививке не соответствовали реальности, что иногда случается.

### **Сопоставление гуморального иммунного ответа у взрослых больных корью и привитых от этой инфекции**

Для сопоставления постинфекционного и поствакцинального гуморального иммунитета на антигены вируса кори дополнительно было обследовано 100 человек: пациенты, заболевшие корью (50 человек, 6-й день после появления сыпи) и группа серонегативных здоровых взрослых, имевших сведения о прививке в детстве против кори – 50 человек. Возрастной состав групп был следующим: молодые люди 20-35 лет среди больных – 27 из 50 человек (54,0 %), среди привитых – 37 из 50 (74,0%), люди среднего возраста 36-45 лет среди больных – 17 из 50 (34,0%) и среди привитых – 10 из 50 (20%), люди старше 46 лет среди больных – 6 из 50 (12,0%) и среди привитых – 4 из 50 (8,0%). Исследование образцов сывороток крови методом ИФА показало, что у всех 50 больных корью присутствовали антитела класса IgM и IgG. В сыворотках крови 50-ти человек группы серонегативных до вакцинации антитела классов IgM и IgG отсутствовали. Группа серонегативных была вакцинирована от кори и через 6 недель после этого вновь обследована на наличие противокоревых антител.

Для определения типа иммунного ответа (первичный или вторичный) на контакт с антигенами вируса кори у обследуемых обеих групп был изучен спектр субклассов (IgG1, IgG2, IgG 3 и IgG4) специфических противокоревых IgG-антител. Как описано ранее [Ярилин А.А., 2010; Топтыгина А.П. с соавт., 2013; Топтыгина А.П., 2014; Топтыгина А.П. с соавт., 2019], при первичном типе иммунного ответа, как у больных, так и у привитых, среди специфических антител преобладают IgG3-антитела, а при вторичном типе – IgG1-антитела. Выявлено, что в группе привитых 22 человека (44%) ответили на вакцинацию первичным типом иммунного ответа, а 28 человек (56%) – вторичным типом. В группе больных корью 17 пациентов (34%) ответили первичным типом, а 33 человека (66%) – вторичным. Наличие вторичного типа иммунного ответа, как у привитых, так и у больных, вероятно, говорит о том, что ранее эти люди были вакцинированы от кори, но в процессе жизни противокоревые антитела были утрачены.

Данные по определению уровней специфических антител классов IgG и IgA и исследованию индекса avidности антител представлены в таблице 3. Из представленных

Таблица 3 – Гуморальный иммунный ответ на вирусы кори, Me(LQ-HQ).

		IgA(МЕ/мл)	IgG (МЕ/мл)	Авидность (%)
Привитые n=50	Первичный ответ, n=22	0,78(0,55-1,33)	1,17 (0,63-1,75)	33,6 (29,2-39,5)
	Вторичный ответ, n=28	0,67 (0,49-0,94)	1,48 (0,89-1,87)	79,8 (75,4-83,9)
Больные n=50	Первичный ответ, n=17	44,2 (39,2-58,2)	0,71 (0,44-1,2)	28,5 (22,65-38,35)
	Вторичный ответ, n=33	47,5 (37,9-59,6)	14,43 (5,47-29,71)	77,8 (60,7-96,2)

данных видно, что в группе заболевших корью уровень IgA антител на 6-ой день после появления сыпи в несколько десятков раз выше, чем у вакцинированных через 6 недель после прививки. При этом концентрация IgG антител у больных, ответивших вторичным типом иммунного ответа, в 10 раз выше, чем у соответствующей группы привитых ( $p < 0,01$ ), и в 50 раз выше, чем у больных, ответивших первичным типом иммунного ответа ( $p < 0,001$ ).

В целом в группе заболевших и группе привитых концентрация противокоревых IgG-антител значительно выше у тех, у кого иммунный ответ развился по вторичному типу ( $p < 0,05$ ), что является вполне ожидаемым (так как некоторое количество клеток памяти у них явно осталось). Четко видно, что у обследованных с первичным типом ответа индекс avidности антител значительно ниже, чем у обследованных, ответивших развитием иммунного ответа по вторичному типу.

При первичном ответе средний индекс avidности равен 33,6% у привитых и 28,5% у больных. При вторичном иммунном ответе в обеих группах были выявлены высокоавидные антитела, что подтверждает правомерность деления пациентов на группы с первичным и вторичным иммунным ответом, как это было сделано по спектру субклассов IgG.

Кроме того, у пяти пациентов, ответивших на инфекцию первичным типом иммунного ответа через 6 дней от момента высыпаний, провели также определение показателей гуморального иммунитета против кори через 3 недели после высыпаний (см. рисунок 7). У указанных пациентов производили забор крови через 3 недели после появления сыпи по медицинским показаниям. Из рисунка 7 видно, что у одних и тех же пациентов на стадии ранней реконвалесценции количество специфических IgG возросло в три раза ( $p < 0,01$ ) по сравнению с показателями при острой инфекции. Напротив, уровень противокоревых IgA,

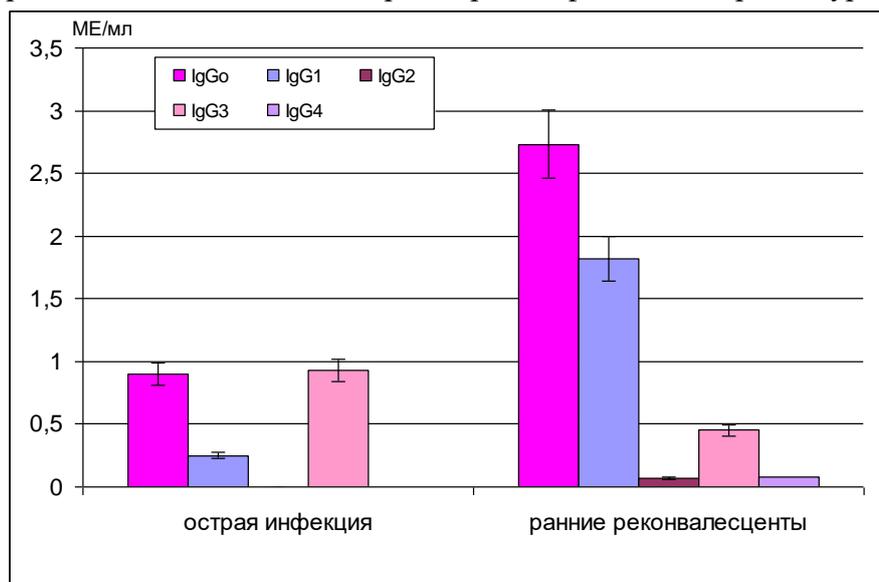


Рисунок 7 – Сопоставление показателей гуморального иммунитета при острой коревой инфекции и у ранних реконвалесцентов.

понижился с 73,44 (69-75,3) Ме/мл до 48,64 (45-56,4) Ме/мл, оставаясь, тем не менее, очень высоким (на рисунке не показано). Заметно, что за это время изменился и спектр субклассов противокоревых IgG. Если на стадии острой инфекции профиль субклассов соответствовал первичному иммунному ответу (высокие IgG3 и низкие IgG1), то на стадии ранней реконвалесценции спектр субклассов IgG изменился на вторичный тип (низкие IgG3 и высокие IgG1), что типично для ответа клеток памяти.

#### **Внутрилабораторный контроль качества при определении IgG-антител к вирусам кори и краснухи методом иммуноферментного анализа.**

Для серологического тестирования пациентов, с целью определения специфических антител к вирусу кори и краснухи, используют иммуноферментный анализ, как в количественном, так и качественном формате определения. Метод ИФА остается наиболее практичным методом для мониторинга и при диагностике инфекции и рекомендован ВОЗ. При этом метод ИФА является экономичным и удобным для одновременного тестирования множества образцов. На результат, полученный методом ИФА, влияет много факторов. Сам

метод ИФА содержит несколько ключевых процедур выполнения анализа, таких как разведение сывороток, инкубация с сыворотками, конъюгатом, с раствором тетраметилбензидина (ТМБ), промывки между инкубациями. Дополнительную вариабельность вносит смена лотов реагентов или персонала лаборатории, приборная база, температура окружающей среды, качество дистиллированной воды. Каждый из перечисленных этапов аналитических процедур может давать свои случайные и систематические погрешности, поэтому результаты серологического тестирования на корь и краснуху необходимо постоянно контролировать с использованием контрольных препаратов (ВЛК). Для получения достоверных результатов, особенно в области принятия решения, необходимо учитывать полученное значение коэффициента вариации в каждой лаборатории [ГОСТ Р 53022.3-2008, 2009].

Мониторинг качества с использованием внешнего контрольного препарата, отличного от контрольных образцов из набора реагентов, может помочь обнаружить и уменьшить ошибки в процессе тестирования в лаборатории. В конечном итоге это приводит к улучшению качества анализов, выполняемых в лаборатории. Немаловажное значение имеет возможность сопоставления результатов, полученных в разных региональных центрах. Нами был отработан алгоритм применения внешних контрольных препаратов для внутрилабораторного контроля качества – «ВЛК Корь-IgG» при тестировании сывороток крови на наличие IgG-антител к вирусу кори и «ВЛК Рубелла-IgG» при тестировании сывороток крови на наличие IgG-антител к вирусу краснухи – методом ИФА. Преимуществом препаратов «ВЛК Корь-IgG» и «ВЛК Рубелла-IgG» является то, что один и тот же препарат можно использовать и при качественном, и при количественном формате проводимых исследований. При разработке контрольных препаратов необходимо было определить основные критерии для ВЛК, т.е. в первую очередь диапазон оптической плотности (ОП), коэффициент вариации при оценке сходимости и воспроизводимости. В приказах и ГОСТах РФ нет четких рекомендаций относительно величины ОП для ВЛК, используемого при определении коревых и краснушных IgG методом ИФА. Группа J.Kim предлагает использовать 2 образца ВЛК с разной ОП, один из которых, с ОП, близкой к значению cut-off, применяют для определения чувствительности тест-систем [Kim J. et al., 2009]. В руководстве по лабораторной диагностике кори и краснухи ВОЗ рекомендует использовать рабочее разведение контрольного материала в пределах 2-3 cut-off для неколичественных методов определения IgM [WHO, 2018.]. И.Г. Нетесова с соавт. [2011] для контрольного материала при определении HBsAg и антител к вирусу гепатита С, ВИЧ и возбудителю сифилиса использовала значения ОП в пределах 0,5-1,5 оптических единиц (о.е.), а CV сходимости от 11 до 15 %. В связи с вышеизложенным, проведенные исследования были сосредоточены на валидации препаратов «ВЛК Корь-IgG» и «ВЛК Рубелла-IgG» при определении IgG-антител к антигенам вирусов кори и краснухи в сыворотке крови методом ИФА с помощью тест-систем «ВектоКорь-IgG» и «ВектоРубелла-IgG» и на разработке параметров учета для качественного (ОП, о.е.) и количественного (МЕ/мл) форматов проводимых исследований.

Сначала был отработан алгоритм для «ВЛК Корь-IgG» и далее было проведено исследование и с препаратом «ВЛК Рубелла-IgG». Для этого были исследованы три варианта препарата «ВЛК Корь-IgG»: цельный (ВЛК<sub>1</sub>), который, по нашим данным, имеет среднее значение оптической плотности  $0,896 \pm 0,152$  о.е. (согласно паспортным данным ВЛК имеет значение ОП  $0,811 \pm 0,132$ ), и два варианта ВЛК, разведенного 1:2 (ВЛК<sub>2</sub> и ВЛК<sub>2\*</sub>), со средней оптической плотностью  $0,534 \pm 0,083$  и  $0,298 \pm 0,053$  о.е. Долгов В.В с соавт. [2004] в своей книге подчеркивают различия в погрешностях спектрофотометров при измерении аналита в разных интервалах оптической плотности. Авторы рекомендуют рабочий (линейный) интервал измеряемых оптических плотностей, равный 0,2-2,0 о.е., а также указывают, что при ОП, меньшей 0,2 о.е., погрешность измерения резко возрастает. Значения ОП использованных в работе ВЛК<sub>1</sub> и ВЛК<sub>2\*</sub> попадают в линейный интервал. При этом ВЛК<sub>1</sub> соответствует критериям, предложенным Нетесовой И.Г. с соавт. [2001] – 0,5-1,5 о.е., а показатели ВЛК<sub>2\*</sub> – критериям ВОЗ, соответствующим ОП в пределах 2-3 cut-off (среднее значение cut-off равно 0,108 о.е.), что составило 0,38 о.е., причем это значение также находится в линейной области.

Используя оба контрольных препарата, мы рассчитали коэффициент вариации для сходимости и воспроизводимости, построили контрольные карты и провели оперативный контроль при тестировании сывороток. При расчете коэффициента вариации воспроизводимости для построения контрольной карты выявили, что, если значение концентрации антител в контрольном препарате попадает на точку калибратора, то CV возрастает в 2,6 раза. Получив значение CV для ВЛК<sub>2</sub>, равное 26,7 %, мы учли эту информацию и приготовили ВЛК<sub>2\*</sub> с CV, равным 10,6 % (таблица 4). Этот показатель явился еще одним критерием для определения характеристик ВЛК.

Таблица 4 – Результаты средних значений и коэффициента вариации оптической плотности калибровочных образцов, контрольного образца (КО), входящих в состав набора, и ВЛК

	Концентрация МЕ/мл (калибровочные образцы)						КО	ВЛК ОП/(МЕ/мл)		
	0	0,15	0,5	1	2	5		ВЛК <sub>1</sub>	ВЛК <sub>2</sub>	ВЛК <sub>2*</sub>
ОПсред.	0,022	0,108	0,681	1,493	2,601	3,211	2,12	1,29/0,86	0,534/0,57	0,298/0,42
CVоп, %	30	17	15,4	11,3	5	1,9	12,5	19,0/16,8	23,5/26,7	17,7/10,6

*Примечание.* Средние значения, приведенные в таблице 4, рассчитаны от 20 измерений.

В результате проведенных исследований было показано, что для оценки сходимости результатов, построения контрольных карт и проведения оперативного контроля следует использовать цельный «ВЛК Корь-IgG» (ВЛК<sub>1</sub>) с ОП  $0,896 \pm 0,152$  о.е., поскольку эти значения оказываются в линейной области калибровочной кривой. Концентрация IgG-антител к вирусу кори в цельном препарате «ВЛК Корь-IgG» составляет  $0,811 \pm 0,132$  МЕ/мл. Следовательно, она не попадает на точку калибратора с концентрацией 1 МЕ/мл. Для оценки чувствительности метода следует использовать «ВЛК Корь-IgG», разведенный 1:2, с ОП (о.е.), равной 2-3 cut-off, поскольку эти значения также находятся в линейной области калибровочной кривой, что позволяет точнее интерпретировать результаты с низкими концентрациями исследуемого анализата, близкими к точке принятия решения.

Аналогичный подход мы применили для подбора разведения контрольного препарата «ВЛК Рубелла-IgG» при проведении лабораторных исследований сывороток крови на наличие антител класса IgG к вирусу краснухи. Для оценки сходимости результатов, построения контрольных карт и проведения оперативного контроля мы предлагаем использовать разведенный в два раза препарат «ВЛК Рубелла-IgG» с ОП, равной  $0,833 \pm 0,156$  о.е., поскольку эти значения оказываются в линейной области калибровочной кривой. Концентрация IgG-антител к вирусу краснухи в этом препарате составляет  $39,8 \pm 5,2$  МЕ/мл, не попадая на точку калибратора с концентрацией 50 МЕ/мл.

Проведение контроля качества с использованием ОП (о.е.) для ВЛК позволит заметить снижение или увеличение оптической плотности для результатов всего планшета (например, при снижении температуры инкубации или уменьшении времени инкубации), т.е. это позволит увидеть сразу ошибку при проведении ИФА. В то же время при количественном варианте (МЕ/мл) данный процесс будет нивелирован снижением ОП (о.е.) тестовых калибровочных образцов, что приведет к изменению и всей калибровочной кривой и расчетные концентрации будут правильными. Но в этом случае можно не заметить нарушения процедур проведения ИФА. Тем не менее, в обоих случаях результаты пациентов будут достоверными, так как в случае качественного формата результат выдается либо положительный, либо отрицательный либо сомнительный, причем статус полученного результата зависит от ОПкрит. Но в наборах «ВектоКорь-IgG» и «ВектоРубелла-IgG» ОПкрит. не рассчитывается от ОП (о.е.) отрицательного контроля и некоего постоянного коэффициента, а равен измеряемой в каждом протоколе ОП (о.е.) калибровочного образца, соответствующего 0,15 МЕ/мл и 10 МЕ/мл.

В результате выполненных исследований были разработаны критерии оценки при проведении внутрилабораторного контроля качества, а именно, показатели сходимости и воспроизводимости результатов тестирования препаратов для оперативного контроля – «ВЛК

Корь-IgG» и «ВЛК Рубелла-IgG». По нашим данным, значения CV для сходимости не должны превышать 8%, для воспроизводимости – 19% (здесь рекомендуется уровень по максимальному значению, так как у нас были получены результаты для качественного формата от 17,6 до 19,0 %, для количественного учета результатов – от 13,1 до 16,8 %).

При проведении оперативного контроля необходимо обращать внимание на контрольные правила, используя которые можно увидеть любое смещение полученных результатов, вызванное случайными или систематическими ошибками. Можно также увидеть и различия между лотами тест-систем, между разными операторами в одной лаборатории и вариацию результатов ВЛК между разными лабораториями. Мы полностью охарактеризовали препараты для проведения внутрилабораторного контроля качества для использования в региональных центрах. Препараты «ВЛК Корь-IgG» и «ВЛК Рубелла-IgG» одобрены Национальным научно-методическим центром ЕРБ ВОЗ (ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н.Габричевского»), доступны бесплатно для лабораторий региональных центров. При использовании единого контрольного препарата каждая лаборатория может сравнить свои результаты с результатами, полученными другими лабораториями, и в случае необходимости скорректировать свою работу.

### **Алгоритм проведения внутрилабораторного контроля качества при определении IgG-антител к вирусам кори и краснухи методом иммуноферментного анализа.**

#### ***Контрольные препараты.***

Для оценки соответствия анализа заданным параметрам проведения внутрилабораторного контроля качества необходимо использовать контрольные препараты. Согласно инструкции «ВЛК Корь-IgG» (лиофильно высушенный препарат, содержащий IgG к вирусу кори) восстанавливают путем добавления 200 мкл дистиллированной воды во флакон с лиофилизатом препарата и тщательно перемешивают. Препарат готов к работе.

Препарат «ВЛК Рубелла-IgG» (лиофильно высушенный препарат, содержащий IgG к вирусу краснухи), восстанавливают путем добавления 200 мкл дистиллированной воды во флакон с лиофилизатом препарата и тщательно перемешивают. Далее готовят разведение ВЛК 1:2, используя сыворотку крови человека, не содержащую антитела класса IgG к вирусу краснухи. Препарат готов к работе.

При последующих исследованиях препараты «ВЛК Корь-IgG» цельный и «ВЛК Рубелла-IgG», разведенный 1:2, проходят те же стадии пробоподготовки, как описано в инструкции к тест-наборам «ВектоКорь-IgG» и «ВектоРубелла-IgG» производства АО «Вектор-Бест».

#### **Основные требования к контрольным препаратам.**

1. Интервал показателя оптической плотности должен находиться в линейной области от 0,5 до 1,5 о.е.
2. Рассчитанная концентрация антител в контрольном образце не должна находиться в зоне значений (точек) калибровочных образцов, входящих в состав набора реагентов, по которым строится калибровочный график от точки к точке.
3. Количество контрольного препарата одной серии (или одной серии разведенного) должно быть достаточным для проведения контроля качества в течение не менее года.

До начала проведения следующих этапов необходимо провести предварительное тестирование подготовленных к работе препаратов «ВЛК Корь-IgG» и «ВЛК Рубелла-IgG» методом ИФА на тест-наборах «Векто Корь-IgG» и «Векто Рубелла-IgG» производства АО Вектор-Бест (Новосибирск) и убедиться, что препараты удовлетворяют описанным выше требованиям. Поскольку все дальнейшие действия для препаратов «ВЛК Корь-IgG» цельного и «ВЛК Рубелла-IgG», разведенного 1:2, одинаковы, порядок проведения процедур будет описан для обоих контрольных препаратов одновременно, и они будут ниже именоваться ВЛК.

#### ***Оценка сходимости результатов измерений ВЛК.***

Согласно ГОСТ Р 53133.1-4-2008 [ГОСТ Р 53133.2-2008, 2009], следует проводить 10 измерений ВЛК в одной аналитической серии на одном планшете. Результаты учитывают двумя способами: качественным (ОП, о.е) и количественным (МЕ/мл).

Для расчета среднего значения  $X_{ср}$  (1), среднеквадратичного отклонения (2), коэффициента вариации (3) образцов ВЛК следует использовать формулы:

$$X_{\text{ср}} = (\sum X_i)/n \quad (1) \quad S = \sqrt{(\sum (X_i - X_{\text{ср}})^2)/n-1} \quad (2) \quad CV = S/X_{\text{ср}} \times 100\% \quad (3)$$

Где:  $X_i$  – значения измерений ОП (о.е.) или концентрации (МЕ/мл);

$X_{\text{ср}}$  – среднее значение ОП (о.е.) или концентрации (МЕ/мл);

$S$  – среднее квадратичное отклонение ОП (о.е.) или концентрации (МЕ/мл);

$CV$  – коэффициент вариации ОП (о.е.) или концентрации (МЕ/мл).

На основе полученных 10 значений необходимо рассчитать коэффициент внутрисерийной вариации методики  $CV_{10}$  для ВЛК.  $CV_{10}$  не должен превышать 8,0 % для качественного (ОП, о.е.) и количественного (МЕ/мл) учета. Если вычисленный  $CV_{10}$  превышает 8%, следует провести работу по снижению внутрисерийной вариации результатов данного вида анализа, найти причину и ее устранить. Возможные причины: плохая работа дозаторов, ошибки работы оператора, плохая работа автоматического устройства для промывки планшетов. Если внутрисерийная вариация метода отвечает установленным нормам, переходят к следующей стадии.

### Оценка воспроизводимости результатов измерений препаратов для внутрилабораторного контроля качества и построение контрольных карт.

На второй стадии проводят по 20 измерений ВЛК в 20-ти аналитических сериях в течение 20-ти дней. Для сокращения продолжительности построения контрольной карты возможно проведение измерений два раза в день в течение 10-ти дней. По результатам 20 аналитических серий, согласно ГОСТ Р 53133.1-4-2008 [ГОСТ Р 53133.2-2008, 2009], рассчитывают для качественного учета результатов ОП ср., для количественного учета результатов – среднюю концентрацию в МЕ/мл, их средние  $S$ , его контрольные пределы  $\pm 1S$ ,  $\pm 2S$ ,  $\pm 3S$  и  $CV_{20}$  по формулам, приведенным в предыдущем параграфе. Полученный результат  $CV_{20}$  сравнивают с допустимыми значениями  $CV_{\text{воспр.}}$ , не превышающими 19% для качественного и количественного учета результатов при анализе «ВЛК Корь-IgG» и «ВЛК Рубелла-IgG». Вычисленные значения  $CV_{20}$  в лаборатории должны быть меньше или равны указанному допустимому значению  $CV_{\text{воспр.}}$ . Если вычисленный в лаборатории  $CV_{20}$  для ВЛК превышает допустимое значение, следует провести работу по снижению аналитической вариации метода, после чего провести 20 новых измерений ВЛК и повторить вычисления. Если рассчитанный в лаборатории  $CV_{20}$  не превышает допустимых значений  $CV_{\text{воспр.}}$ , по полученным результатам строят контрольные карты для показателей ОП (о.е.) и концентрации (МЕ/мл) отдельно. В таблице 5 приведен пример рассчитанных параметров, необходимых для построения контрольной карты. На рисунке 8 представлен пример построенной контрольной карты и проведение оперативного контроля.

Таблица 5 – Пример параметров для построения контрольной карты.

ВЛК <sub>2*</sub>	$X_{\text{ср}}$ ВЛК	Ст. откл.(S)	CV, %	$X_{\text{ср}}+1S$	$X_{\text{ср}}-1S$	$X_{\text{ср}}+2S$	$X_{\text{ср}}-2S$	$X_{\text{ср}}+3S$	$X_{\text{ср}}-3S$
МЕ/мл	0,398	0,042	10,55	0,440	0,356	0,482	0,314	0,524	0,272
ОП	0,298	0,053	17,68	0,351	0,245	0,403	0,193	0,456	0,140

С использованием построенной контрольной карты осуществляют оперативный (текущий) контроль качества результатов определения исследуемого показателя. С этой целью в каждой аналитической серии в одной лунке ставят ВЛК и измеряют показатель оптической плотности.

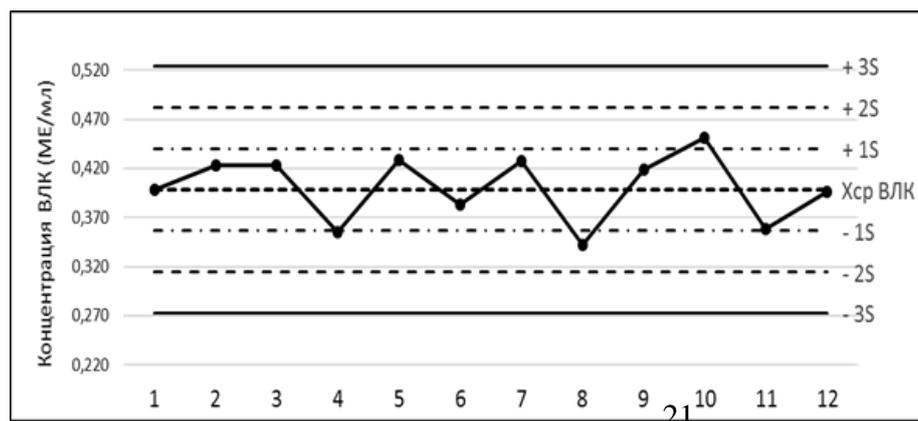


Рисунок 8 – Оперативный контроль качества при определении концентрации антител класса IgG к вирусу кори для ВЛК, разведенного 1:2.

Примечание По оси абсцисс - номер исследования. По оси ординат - концентрация антител в ВЛК<sub>2\*</sub> (МЕ/мл)

(качественная оценка) или рассчитывают концентрацию аналита в ВЛК (количественная оценка результатов). Полученный результат наносят на контрольную карту.

Оценку результатов исследования контрольных материалов следует проводить с использованием контрольных правил, получивших название (по имени их автора) "множественных правил Westgard". В любом случае, если полученное значение аналита в ВЛК находится вне пределов  $\pm 3S$ , необходимо найти ошибки, устранить их и провести анализ заново.

Если результаты измерений ВЛК при проведении оперативного внутрилабораторного контроля качества находятся в соответствии с контрольными правилами, это свидетельствует о правильности проведения исследования IgG-антител к вирусу кори (или краснухи) методом ИФА.

### **ВЫВОДЫ**

1. Уровень серопозитивных к вирусу краснухи среди лиц в возрасте 6-7 лет достигает 90% от числа обследованных в этой возрастной группе (вторая вакцинация от краснухи) и сохраняется на этом уровне до 60 лет и старше, тогда как уровень серопозитивных к вирусу кори достигает максимума в возрастной группе 7-14 лет (81,4%). Выявлено значимое снижение уровня серопозитивных к антигенам вируса кори лиц в возрастной группе 18-30 лет до 57,5%.
2. В условиях спорадической заболеваемости корью и отсутствия естественного бустирования вакцинация против кори серонегативных взрослых формирует высокий уровень специфических антител как у впервые вакцинированных, так и у вакцинированных в детстве, но утративших антитела.
3. Установлено, что первичным типом иммунного ответа на вакцинацию против кори реагируют 44-48 % серонегативных взрослых, что свидетельствует об отсутствии иммунологического подтверждения проведенных в детстве прививок, тогда как 52-56% реагирует на прививку вторичным типом иммунного ответа, следовательно, они были привиты, но со временем утратили противокоревые антитела.
4. Среди взрослых больных корью до 66% реагировали вторичным типом иммунного ответа, что свидетельствует о том, что в условиях отсутствия естественного бустирования привитые в детстве могут заболеть корью во взрослом возрасте в случае утраты противокоревых антител в процессе жизни, сохраняя при этом В-клетки памяти, отвечающие на контакт с диким вирусом вторичным типом иммунного ответа. В то же время, среди больных корью детей и подростков в 100% случаев был выявлен первичный тип иммунного ответа, что свидетельствует о том, что все заболевшие дети не были привиты.
5. Аттестованные на базе референс-лаборатории ЕРБ ВОЗ (ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н.Габричевского) образцы «ВЛК Корь-IgG» и «ВЛК Рубелла-IgG» пригодны для проведения внутрилабораторного контроля качества при исследовании IgG-антител к антигенам вирусов кори и краснухи качественным и количественным способом с помощью тест-систем «ВектоКорь-IgG» и «ВектоРубелла-IgG».
6. Разработан алгоритм проведения внутрилабораторного контроля качества при определении IgG-антител к вирусам кори и краснухи методом иммуноферментного анализа на примере тест-систем «ВектоКорь-IgG» и «ВектоРубелла-IgG».

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Для оценки состояния популяционного иммунитета целесообразно обследовать разные возрастные группы без учета прививочного анамнеза. Выявленная прямая корреляционная зависимость между повышенным уровнем серонегативных к вирусу кори и заболеваемостью корью лиц в возрасте 18-30 лет поднимает вопрос о проведении контроля уровня антител против вируса кори среди школьников 10-11 классов и ревакцинации выявленных серонегативных, который требует дальнейшего рассмотрения.

2. Предложен алгоритм проведения процедуры внутрилабораторного контроля качества с помощью препаратов «ВЛК Корь-IgG» и «ВЛК Рубелла-IgG» на тест-системах «ВектоКорь-IgG» «ВектоРубелла-IgG». Показано, что для достижения оптимальных результатов при проведении оперативного контроля качества восстановленный препарат «ВЛК Корь-IgG» следует использовать в цельном виде, а для препарата «ВЛК Рубелла-IgG» наилучшим разведением оказалось 1:2. При создании или выборе препарата ВЛК для работы, необходимо не допускать попадания измеряемых значений оптической плотности ВЛК в зону «точки калибратора». При определении содержания антител к вирусу кори и краснухи и проведения оперативного контроля качества образец ВЛК должен проходить те же стадии разведения, что и исследуемые образцы пациентов.
3. Лабораториям при проведении ВКК с помощью препаратов «ВЛК Корь-IgG» и «ВЛК Рубелла-IgG» рекомендовано ориентироваться на результаты расчетов сходимости и воспроизводимости, представленные в методических рекомендациях МР 4.2.0287-22 «Организация внутреннего контроля качества в лабораториях, проводящих исследования на специфические антитела к вирусу кори методом иммуноферментного анализа», основанных на наших исследованиях, в связи с отсутствием в приказах критериев оценки сходимости и воспроизводимости. Коэффициент вариации при оценке сходимости результатов для «ВЛК Корь-IgG» и «ВЛК Рубелла-IgG» при качественном и количественном измерении не должен превышать 8%, а коэффициент вариации при оценке воспроизводимости – 19%.

### **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

В качестве перспектив проведенного исследования предполагается продолжить изучение формирования и поддержания гуморального иммунитета к вирусам кори и краснухи у лиц разных возрастных групп. Весьма перспективно также исследование клеточного иммунитета к этим вирусам с целью выяснения, предотвращает ли наличие противовирусного клеточного иммунитета у серонегативных заболевание корью и краснухой.

Планируется разработать порядок и объем процедур при использовании панели сывороток, содержащих IgG-антитела к вирусам кори и краснухи и не содержащих таковые антитела, для проведения входящего контроля и сопоставления результатов тестирования сывороток от больных и привитых людей на тест-системах разных производителей.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. **Смердова, М.А.** Разработка стандартных образцов для внутрилабораторного контроля, используемых при оценке специфических антител к кори и краснухе иммуноферментным методом / **М.А. Смердова, Т.А. Мамаева, М.А. Наумова, А.П. Топтыгина** // *Российский иммунологический журнал*. – 2016. – Т.10(19), №2(1). – С.396-397.
2. Топтыгина, А.П. Особенности иммунного ответа против кори и краснухи в условиях активной вакцинации населения / А.П. Топтыгина, **М.А. Смердова** // *Инфекция и иммунитет*. – 2017. – № 5. – С.303.
3. **Топтыгина, А.П.** Влияние особенностей популяционного иммунитета на структуру заболеваемости корью и краснухой / **А.П.Топтыгина, М.А.Смердова, М.А.Наумова, Н.П. Владимирова, Т.А.Мамаева** // *Инфекция и иммунитет*. – 2018. – Т.8, №3. – С.341-348.
4. **Smerdova, M.A.** Features of population immunity against measles and rubella viruses. Why do adults suffer? / **M.A. Smerdova, A.P. Topotygina, M.A. Naumova, N.P.Vladimirova, T.A.Mamaeva** // *Инфекция и иммунитет*. – 2018. – Т.8, №4. – С.536.
5. **Топтыгина, А.П.** Оценка напряженности популяционного иммунитета к вирусам кори, краснухи, эпидемического паротита и ветряной оспы у здоровых взрослых / **А.П. Топтыгина, Т.Г. Клыкова, М.А. Смердова, А.Ю. Зеткин** // *Русский медицинский журнал*. – 2019. – №3. – С.36-39.

6. **Смердова, М.А.** Особенности иммунного ответа на вакцинацию против кори у серонегативных взрослых / **М.А. Смердова, Ю.Ю. Андреев, А.П. Топтыгина** // Российский иммунологический журнал. – 2019. – Т.13(22), №2. – С.1021-1023.
7. **Смердова, М.А.** Опыт проведения внутрилабораторного контроля качества при определении антител класса G к вирусу кори методом иммуноферментного анализа с помощью контрольного препарата/ **М.А. Смердова, Т.А. Мамаева, М.А. Наумова, К.А. Корецкий, Д.С. Иванов, А.П. Топтыгина** // Российский иммунологический журнал. – 2019. – Т.13(22), №4. – С.1402-1411.
8. **Смердова, М.А.** Гуморальный и клеточный иммунитет к антигенам вирусов кори и краснухи у здоровых людей / **М.А. Смердова, А.П. Топтыгина, Ю.Ю. Андреев, С.В. Сенникова, А.Ю. Зеткин Т.Г. Клыкова, С.И. Беляков** // Инфекция и иммунитет. – 2019. – Т.9, №3-4. – С.607-611.
9. Топтыгина, А.П. Особенности противокорревого иммунитета у взрослых /А.П. Топтыгина, **М.А. Смердова, Ю.Ю. Андреев** //«Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП-2019)»: VII Конгресс с международным участием (г. Москва, 28-29 ноября 2019 г.) под ред. академика РАН Акимкина В.Г., - М., ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 2019. – С. 69.
10. **Топтыгина, А.П.** Формирование гуморального и клеточного иммунитета на коревую вакцину у взрослых / **А.П. Топтыгина, Ю.Ю. Андреев, М.А. Смердова, А.Ю. Зеткин, Т.Г. Клыкова** // Инфекция и иммунитет. – 2020. – Т.10, №1. – С.137-144.
11. **Смердова, М. А.** Отработка процедуры проведения внутрилабораторного контроля качества при определении антител класса G к вирусу кори методом иммуноферментного анализа / **М. А. Смердова, А. П. Топтыгина, Т.А. Мамаева, К.А. Корецкий, Д.С. Иванов** // Лабораторная служба. – 2020. – Т.9, №1. – С.57.
12. **Топтыгина, А.П.** Сопоставление гуморального иммунного ответа у взрослых больных корью и привитых от этой инфекции / **А.П. Топтыгина, Ю.Ю. Андреев, М.А. Смердова, Л.Н. Наврузова, В.В. Малеев** // Инфекция и иммунитет. – 2021. – Т.11, №3. – С.517-522.

#### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВКК – внутрилабораторный контроль качества  
 ВЛК – препарат для внутрилабораторного контроля  
 ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения  
 ЕРБ ВОЗ – Европейское региональное бюро ВОЗ  
 ИФА – иммуноферментный анализ  
 МЕ – международные единицы  
 о.е. – оптические единицы  
 ОП – оптическая плотность  
 ОП крит. – критическое значение оптической плотности  
 ТМБ – тетраметилбензидин.  
 Cut off – пороговый критерий  
 CV – коэффициент вариации  
 IgA – Иммуноглобулин класса А  
 IgG – Иммуноглобулин класса G  
 IgG1,2,3,4 – субклассы 1,2,3,4 иммуноглобулина G  
 IgM – иммуноглобулин класса M