

## ОТЗЫВ

**официального оппонента Тотоляна Арега Артемовича на диссертационную работу Смердовой Марины Анатольевны на тему «Особенности коллективного иммунитета к вирусам кори и краснухи; контроль качества лабораторных исследований», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.**

### **Актуальность темы**

Заявленная ВОЗ цель элиминации кори и краснухи может быть осуществлена только при условии достижения уровня охвата прививками 95% декретированного населения. И это при условии, что прививки дают пожизненный иммунитет, и напряженность иммунитета к кори и краснухе будет сохраняться и в более старшем возрасте. Данные о продолжительности поствакцинального иммунитета были получены в условиях свободной циркуляции диких штаммов вирусов. Однако в условиях sporadicческой заболеваемости, из-за снижения циркуляции диких штаммов вирусов и отсутствия естественного бустирования часть привитых в детстве взрослых может утратить защитные антитела. Такие люди, считаясь привитыми, могут заболеть корью. В ряде работ европейских и американских исследователей описаны вспышки кори, в которые были вовлечены даже дважды привитые в детстве взрослые. В последнее время появилось много работ как отечественных, так и зарубежных авторов, подтверждающих снижение уровня серопозитивных к кори лиц среди молодых взрослых. Это активная, мобильная часть населения, которая может способствовать завозу кори на территории, получившие статус элиминировавших корь. Более того, это – молодые родители, которые при заболевании корью могут инфицировать своих маленьких, еще не привитых детей. В связи с вышесказанным, особую важность приобретает учет и контроль защищенности населения от этих инфекций. Поскольку тестирование антител к кори и краснухе в мире проводят на различных тест-системах и оборудовании, ВОЗ подняла вопрос о введении системы контроля качества, позволяющей стандартизировать лабораторные исследования и избегать случайных и систематических ошибок при проведении лабораторных исследований уровня антител к вирусам кори и краснухи. Это позволит более точно оценивать напряженность противокорьевого и противокраснушного иммунитета. Однако единого препарата для такого контроля ВОЗ не предоставила, и в мире нет коммерческого препарата для проведения внутрилабораторного контроля качества при тестировании указанных антител методом ИФА.

Таким образом, работа, посвященная исследованию особенностей коллективного иммунитета к вирусам кори и краснухи и разработке алгоритма проведения внутрилабораторного контроля качества при

определении антител к вирусам кори и краснухи для повышения качества клинико-лабораторных исследований иммунитета к этим инфекциям, несомненно, является весьма актуальной и своевременной.

### **Научная новизна исследования.**

Новизна результатов диссертационной работы не вызывает сомнений. Несмотря на активно проводимую политику вакцинации от кори, выявлено значимое снижение уровня серопозитивных к вирусам кори в возрастной группе 18-30 лет до 57,5%, тогда как количество серопозитивных к вирусу краснухи достигает уровня 90% в возрасте 6-7 лет и сохраняется на этом уровне и выше вплоть до 60 лет и старше. 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. 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, что свидетельствует об утрате гуморального противокорьевого иммунитета у части привитых в детстве взрослых. 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.

### **Теоретическое значение работы.**

Теоретическая значимость работы заключается в получении новых данных, вносящих вклад в понимание процессов поддержания коллективного иммунитета к вирусам кори и краснухи в условиях sporadicческой 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. 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.

### **Практическое значение работы.**

Практическая значимость работы обусловлена тем, что показана целесообразность проведения исследования противокорьевого иммунитета на случайной выборке обследуемых лиц с последующим сопоставлением результатов лабораторного тестирования с данными прививочных карт. Прямая корреляционная зависимость между повышенным 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. 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. По результатам работы 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. 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).

### **Оценка содержания диссертации и достоверность результатов.**

Достоверность полученных в работе результатов не вызывает сомнения. Автором было проведено достаточное количество исследований. Получение биологического материала (кровь) производили с учетом положений Хельсинкской 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. Диссертационная работа выполнена на высоком научном и методическом уровне с использованием современных иммунологических, клиничко-anamnestических, формально-логических и статистических методов исследования. Исследования проводили на сертифицированном оборудовании. Для статистической обработки полученных данных были использованы общепринятые методы статистики, позволяющие оценить достоверность выявленных изменений.



Результаты диссертационной работы Смердовой М.А. полно представлены в 12 печатных работах, из них 8 – в периодических рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для опубликования основных научных результатов диссертационных работ, в том числе статей в журналах, включенных в базу Scopus и Web of Science – 4.

Автореферат полностью отражает содержание диссертационной работы, соответствует ее основным положениям.

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.

Во введении автор обосновывает актуальность исследования, излагает цель и задачи, описывает новизну и практическую значимость работы.

В обзоре литературы подробно проанализирована современная ситуация по кори и краснухе в мире и в Российской Федерации и Стратегический план ВОЗ по элиминации этих инфекций, описаны вирусы кори и краснухи, серологические маркеры этих инфекций, методы их определения и состояние популяционного иммунитета к этим инфекциям. Подробно разобрана проблема контроля качества лабораторных исследований, имеющаяся нормативная база и опыт проведения внешней оценки качества и внутрилабораторного контроля при определении серологических маркеров других инфекций.

В главе материалы и методы представлена методическая часть работы: описан дизайн. Подробно описаны использованные контрольные препараты, использованные для внутрилабораторного контроля, и серологические методы тестирования различных параметров гуморального иммунитета к вирусам кори и краснухи.

Результаты собственных исследований представлены в 2-х главах. В главе 3 подробно описаны результаты исследования гуморального иммунитета к вирусам кори и краснухи. На примере исследования 654 сывороток крови от здоровых людей разного возраста показано, что уровень серопозитивных к вирусу краснухи достигает уровня 90% в возрасте 6-7 лет (вторая вакцинация от этой инфекции) и сохраняется на этом уровне в более старших возрастных группах, тогда как уровень серопозитивных к вирусу кори достигает максимума 81,4% в возрастной группе 7-14 лет, а затем снижается до минимума в 57,5 % в возрасте 18-30 лет. Возрастная структура заболеваемости корью, проанализированная на примере 646 сывороток крови от больных корью на той же территории, в тот же временной интервал выявила сильную корреляционную связь между уровнем серонегативных и заболеваемостью корью. Более детальное исследование гуморального иммунитета к антигенам вирусов кори и краснухи у здоровых людей в

возрасте 18-30 лет подтвердило высокий процент серонегативных к вирусу кори в этой возрастной группе. Все серонегативные взрослые, привитые против кори, сформировали высокий уровень противокоревых антител. По спектру субклассов специфических IgG-антител и их авидности показано, что примерно половина привитых изначально серонегативных взрослых реагируют на вакцинацию первичным иммунным ответом, что говорит об отсутствии у них иммунологической памяти о встрече с этим вирусом, тогда как вторая половина отвечала вторичным типом иммунного ответа, что свидетельствует о том, что эти люди были привиты от кори в детстве, но утратили противокоревые антитела в процессе жизни. Сопоставление гуморального иммунного ответа у взрослых больных корью и привитых от этой инфекции выявлено, что происходит увеличение количества отвечающих вторичным типом иммунного ответа как среди вакцинированных серонегативных, так и среди заболевших корью взрослых. Это свидетельствует о необходимости более подробного исследования сохранения напряженности противокорьевого иммунитета у взрослых и, возможно, проведения бустерирующих вакцинаций у молодых взрослых.

Глава 4 посвящена проведению внутрилабораторного контроля качества при определении антител класса G к вирусам кори и краснухи методом иммуноферментного анализа с помощью контрольных препаратов. Разработан алгоритм, определяющий порядок и объем процедур, необходимых для проведения внутрилабораторного контроля при использовании 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. Проведение внутрилабораторного контроля качества позволит исключить случайные и систематические погрешности, возникающие при проведении тестирования и повысит объективность сопоставления результатов, полученных в разных региональных центрах. По результатам проведенных исследований разработаны методические рекомендации МР 4.2.0287-22, утверждены Главным государственным санитарным врачом Поповой А.Ю. 30.05.2022.

В главе «Обсуждение» автор подробно анализирует полученные результаты, оценивает их, сопоставляя с данными мировой научной литературы.

Выводы обоснованы, логически вытекают из полученных диссертантом в ходе работы результатов, и полностью соответствуют поставленным задачам.

Практические рекомендации обоснованы, сформулированы конкретно и могут внедряться в работу лабораторий, проводящих исследования IgG-антител к вирусам кори и краснухи методом ИФА.

Принципиальных замечаний по рассматриваемой диссертационной работе нет. В порядке дискуссии интересует мнение автора по следующим вопросам:

1. Существуют ли значимые различия в терминах «коллективный иммунитет» и «популяционный иммунитет» или нет?
2. С какой периодичностью необходимо оценивать уровень коллективного иммунитета к вирусам кори и краснухи, у каких групп населения и какова должна быть численность выборки?
3. При оценке коллективного иммунитета к вирусам кори и краснухи достаточно ли использовать только определение антител или необходимо также определять показатели клеточного иммунитета?
4. В связи с отсутствием естественной бустеризации и значимым уровнем серонегативных лиц среди взрослых, есть ли необходимость в проведении бустерной вакцинации взрослых? Если да, то в какие сроки?

Среди недостатков рассматриваемой диссертации можно указать на некоторые опечатки и стилистически неудачные выражения, орфографические и пунктуационные ошибки, однако они не носят принципиального характера и не снижают ценности диссертационного исследования в целом.

### **Заключение**

Таким образом диссертационная работа Смердовой Марины Анатольевны «Особенности коллективного иммунитета к вирусам кори и краснухи; контроль качества лабораторных исследований», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, имеющей значение для развития биологической и медицинской отраслей знаний: обнаружено значимое снижение уровня серопозитивных к вирусу кори среди молодых взрослых 18-30 лет, показано, что около половины таких серонегативных реагируют на контакт с вирусом вторичным типом иммунного ответа, что свидетельствует о том, что они были ранее привиты от кори, но утратили защитные антитела в процессе жизни, разработанный алгоритм проведения внутрилабораторного контроля качества при исследовании IgG-антител к вирусам кори и краснухи методом иммуноферментного анализа позволит избежать системных и случайных ошибок, что обеспечивает адекватный анализ результатов, полученных в разных лабораториях, на разном оборудовании и разных сериях тест-систем.

Диссертация Смердовой Марины Анатольевны «Особенности коллективного иммунитета к вирусам кори и краснухи; контроль качества лабораторных исследований», полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, (п. 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного



постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016 г., № 748 от 02.08.2016 г., № 650 от 29 мая 2017 г., № 1024 от 28 августа 2017 г., № 1168 от 01 октября 2018 г., № 751 от 26 мая 2020, № 426 от 20 марта 2021 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), а ее автор, Смердова Марина Анатольевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология.

**Официальный оппонент**

Академик РАН, доктор медицинских наук, профессор,  
директор Федерального бюджетного учреждения  
науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский  
институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»  
Федеральной службы по надзору в сфере защиты  
прав потребителей и благополучия человека,  
заведующий лабораторией молекулярной иммунологии

Арег Артемович Тотолян

Подпись д.м.н., профессора, академика РАН Тотоляна А.А. заверяю

Ученый секретарь ФБУН НИИ  
эпидемиологии и микробиологии  
имени Пастера, к.м.н.

Трифонова Г.Ф.

«12» сентября 2022 г.



Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14;

телефон: +7 (812) 233-20-92, +7 (812) 233-08-56;

e-mail: [pasteur@pasteurorg.ru](mailto:pasteur@pasteurorg.ru), сайт: <http://www.pasteurorg.ru>