

ОТЗЫВ
официального оппонента о диссертации

ЕРЕЩЕНКО АЛЕНА АНАТОЛЬЕВНА

(ФИО соискателя)

на тему: «Лабораторные критерии формирования поствакцинального гуморального иммунитета к вирусу кори у медицинских работников»,
представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук
по специальности 3.3.8 – Клиническая лабораторная диагностика

Актуальность темы диссертации А.А. Ерещенко «Лабораторные критерии формирования поствакцинального гуморального иммунитета к вирусу кори у медицинских работников» обусловлена нестабильной ситуацией в мире по этой крайне тяжелой вирусной инфекции. До введения противокоревой вакцины в 1963 году и широкого распространения вакцинации, крупные эпидемии кори происходили каждые 2–3 года, при этом, ежегодно насчитывалось около 2,6 миллионов случаев смерти. Введение вакцины позволило сократить в мире смертность от кори. Всемирная Организация Здравоохранения, начиная с 1997 г., приняла ряд программ по элиминации этой инфекции. К 2017 г. были достигнуты значительные успехи. Так, число учтенных случаев кори снизилось от 700-870 тыс. в 1996-2000 гг. до 212-360 тыс. случаев в 2011-2015 гг. Вместе с тем, поставленные цели не были достигнуты. В 2021 г. произошло около 9 млн. случаев заболеваний и 128 000 случаев смерти от кори. Стратегическая консультативная группа экспертов ВОЗ по иммунизации (СКГЭ) пришла к заключению, что задача элиминация кори подвергается большой угрозе и что болезнь вновь появилась в ряде стран, уже достигших элиминации или приблизившихся к ней. В рамках Инициативы по борьбе с корью и краснухой ВОЗ была разработана Стратегическая рамочная программа на 2021-2030 гг. Одной из целей Программы действий в области иммунизации на период до 2030 г. предложена система мониторинга, позволяющая получать информацию о результативности принимаемых мер и актуальные данные, необходимые для улучшения положения на всех уровнях от местного до глобального.

В России согласно разработанной Программе "Элиминация кори и краснухи в Российской Федерации" (2016-2020 гг.) были приняты дополнительные меры, направленные на увеличение охвата населения прививками. Вместе с тем, показатель успешности выполнения Программы — достижение и поддержание заболеваемости корью на уровне менее одного случая на 1 миллион населения пока не достигнуты.

В связи с этим, цель диссертационной работы и поставленные задачи исследования поствакцинального гуморального иммунитета к кори, определение предикторов успешной/неуспешной вакцинации у декретированной группы населения — медицинских

работников и показаний для ревакцинации представляются актуальными. Важной задачей в области лабораторной медицины наряду с обеспечением высокого качества лабораторных реагентов для контроля успешности проведения иммунизации является интерпретация результатов у здоровых лиц. Значительная часть диссертационного исследования посвящена именно этому вопросу — алгоритму определения референтных интервалов для ряда иммунологических показателей.

В диссертационной работе исследуется также мало изученная проблема — изменение показателей обмена веществ при поствакцинальной активации иммунной системы. Это перспективное направление исследований в области иммунометаболизма — влияния иммунных клеток на регуляцию обмена веществ в организме и роли метаболических путей в формировании иммунного ответа. Диссертант исследует биохимические и иммунологические показатели сыворотки крови (содержание суммарных иммуноглобулинов G, M, A, интерферона- γ , интерлейкина-6, С-реактивного белка, общего белка, общего билирубина, мочевины, креатинина, белковых фракций, активности аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы) их динамику в процессе вакцинации и корреляцию с состоянием противокорревого гуморального иммунитета. Использование метода математического моделирования позволило провести анализ большого количества биомаркеров — возможных иммунокоррелятов и выделить наиболее информативные из них.

Научная новизна и практическая значимость исследований

В диссертации А. А. Ерещенко получены результаты, обладающие научной новизной и имеющие практическую ценность. Получены новые сведения об иммунологических особенностях параметров сыворотки крови у медицинских работников, на основании которых впервые разработан способ определения необходимости ревакцинации против кори (получен патент на изобретение РФ № 2752144).

Представлены новые данные по результатам динамического исследования биохимических и иммунологических показателей сывороток крови медицинских работников в поствакцинальном периоде в зависимости от возраста и времени вакцинации против кори. Выявлена связь показателей суммарных иммуноглобулинов (Ig), G, M и A, интерферона- γ (IFN γ), общего белка, альбумина, общего билирубина, активности аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы на различных этапах иммунизации и с исходом противокоревой вакцинации.

На основании полученных результатов установлены дополнительные маркеры-предикторы эффективности выработки поствакцинальных IgG к вирусу кори и разработаны

прогностические математические модели для определения лиц из групп риска по формированию первичных и вторичных вакцинальных неудач.

Обоснованы и установлены референтные интервалы для показателей суммарных иммуноглобулинов А, М, G, противокоревых иммуноглобулинов G в сыворотке крови для медицинских работников.

Научное и практическое значение имеют результаты, полученные методом математического моделирования, который позволил определить наиболее информативное сочетание лабораторных маркеров для предсказания вакцинальных неудач. Составлены соответствующие регрессионные модели, выделены их пороговые уровни, которые определяют исход противокоревой вакцинации и с высокой степенью вероятности позволяют оценить общий прогноз.

На основании полученных данных предложено при проведении профилактических мероприятий среди медицинских работников использовать показатели уровня в сыворотке крови ИФН-γ до вакцинации и IgG к вирусу кори после первой вакцинации для прогнозирования как первичных, так и вторичных вакцинальных неудач. Предложены также дополнительные предикторы вакцинальных неудач - суммарные иммуноглобулины G и M, общий билирубин, активность аланинаминотрансферазы на различных этапах иммунизации, разработаны лабораторные критерии необходимости ревакцинации против кори.

Результаты используются в практической деятельности ряда мед учреждений: в клинко-диагностических лабораториях Клиник ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России, ГБУЗ «Самарская областная клиническая больница им. В.Д. Середавина», ГБУЗ «Самарская областная детская клиническая больница им. Н.Н. Ивановой».

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов

Диссертационное исследование выполнено с соблюдением правил проведения научных исследований и этических принципов и норм. Научные положения, выводы и рекомендации базируются на корректно полученных результатах, проанализированных в контексте сравнения с нормативными документами и данными зарубежных и отечественных специалистов в области клинической лабораторной диагностики и иммунологии. Достоверность полученных результатов обеспечена достаточным объемом выборок (более 1100 обследованных лиц), использованием адекватных поставленным задачам методов исследования, анализом результатов с применением современного программного обеспечения и корректной статистической обработкой.

Результаты исследований широко обсуждались и были представлены на девяти российских и международных конференциях и конгрессах. По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ, из них 7 статей – в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для опубликования результатов диссертационных исследований, 4 статьи – в журналах, цитируемых в международной базе Scopus; получен 1 патент РФ на изобретение.

Личный вклад автора

А.А. Ерещенко принимала участие на всех этапах выполнения научно-исследовательской работы: проведении анализа состояния проблемы по данным литературы, постановке цели исследования и формировании задач для их достижения, разработке дизайна работы, сборе и анализе клинических данных, проведении лабораторных исследований, статистической обработке результатов.

Автор обобщил, систематизировал выводы и оформил диссертационную работу. Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в подготовке публикаций по теме диссертационной работы, апробации и внедрении в практику и образовательную деятельность полученных результатов исследования.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материала и методов исследования, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Диссертация изложена на 142 страницах машинописного текста, иллюстрирована 20 таблицами и 16 рисунками. Список литературы состоит из 204 источников, из них: 84 – отечественные, 120 – зарубежные.

Краткая характеристика основного содержания диссертации

Во *Введении* автор обосновывает актуальность диссертационного исследования; формулирует цель и основные задачи работы; описывает подход к решению поставленных задач; характеризует степень новизны и практического использования полученных результатов.

Обзор литературы представлен тремя главами: проанализированы публикации по методам диагностики и оценки поствакцинального иммунитета при управляемых вирусных инфекциях с воздушно-капельным механизмом передачи; по биомаркерам — предикторам эффективности вакцинации, изучению метаболитов, отражающих иммунные ответы при вакцинации против кори; сделан обзор литературных источников по интерпретации результатов обследований здоровых лиц на противокоревой гуморальный иммунитет, разбирается методология формирования референтных интервалов на основе документа

Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI). Обзор написан логично, объем цитированной научной литературы свидетельствует о глубокой проработке автором анализируемой проблемы.

В главе *Материалы и методы* дана детальная характеристика (возраст, пол, профессиональная принадлежность, медицинский стаж, вакцинальный анамнез) обследуемых контингентов – медицинский персонал клинических отделений разных профилей и административные работники промышленного предприятия, не имеющие контакта с профессиональными факторами вредности. Представлены лабораторные методы определения как биохимических показателей, так и неспецифических и специфических иммунологических параметров, в том числе IgG к вирусу кори. Подробно описан выбор референтной группы и установление референтных интервалов прямым методом, которое проводили согласно протоколу CLSI C28-A3, рекомендованного Институтом клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI).

В первой главе собственных исследований (*Глава 3*) автор на примере декретированной группы населения — медицинских работников исследует возрастные особенности противокорревого гуморального иммунитета. Выявлена прямая корреляция уровня специфических IgG с возрастом обследуемых: при увеличении возрастного показателя, доля лиц с «высоким» содержанием IgG к вирусу кори повышается.

Динамика формирования гуморального противокорревого иммунитета в ответ на вакцинацию изучалась на двух корректно подобранных группах медработников: лиц с лабораторно подтвержденным отсутствием противокорревого иммунитета и лиц, имеющих документальное подтверждение о двукратно проведенной иммунизации против кори, с лабораторно подтвержденным сформированным противокорревым иммунитетом. После вакцинации и ревакцинации лиц опытной группы живой коревой культуральной вакциной оценивали гуморальный иммунитет, а также биохимические показатели и показатели неспецифического иммунитета. Определение концентрации IgG к вирусу кори проводилось через 1 месяц после вакцинации (V1) и ревакцинации (V2), а также через 1 и 3 года.

Было показано, что у большинства лиц специфический гуморальный ответ был сформирован в периоды вакцинации и ревакцинации, и достаточное количество IgG к вирусу кори сохранялось спустя год. Выполненное исследование подтвердило необходимость введения бустер-дозы вакцины, поскольку в некоторых случаях только после ее получения формируется достаточное количество антител. Показаны индивидуальные различия в формировании гуморального иммунного ответа на вакцину, выявлены случаи как первичных, так и вторичных вакцинальных неудач, однако, в целом, вакцинация против кори одинаково эффективна как среди лиц молодого, так и старшего возраста.

Четвертую главу автор посвящает определению референтных интервалов иммуноглобулинов, который проводит в соответствии с протоколом CLSI C28-A3. Учитывая полученные ранее данные, референтные пределы для противокоревых IgG разработаны для двух возрастных групп. Нижнее референтное значение для группы младше 45 лет составил 0,097 МЕ/мл; для группы старше 45 лет – 0,171 МЕ/мл, что отличалось от референтных пределов, заявленных производителем тест-системы. Для медицинских работников были установлены отдельные референтные значения для IgG к вирусу кори, а также суммарных IgG, IgM, IgA, в том числе в динамике вакцинации. Благодаря разработанному подходу было исключено понятие «серая зона», что упростило принятие решения о необходимости ревакцинации. Полученные данные легли в основу разработки способа определения необходимости ревакцинации против кори у медицинских работников (Патент на изобретение «Способ определения необходимости ревакцинации против кори у медицинских работников» № 2752144, заявка: 2020136339. Опубликовано: 23.07.2021 Бюл. № 21).

Показано, что профессиональная принадлежность может влиять на состояние поствакцинального иммунитета. Очевидна целесообразность для каждой лаборатории разрабатывать собственные референтные интервалы для конкретных когорт населения, в том числе для медицинских работников.

Пятая глава посвящена малоизученному вопросу — оценке биохимических показателей крови у медицинских работников в зависимости от возраста и наличия противокоревых иммунитета.

Установлены возрастные особенности содержания показателей белкового обмена и неспецифических иммунологических параметров. Помимо этого, выявлены достоверные различия содержания данных аналитов между группами лиц со сформированным и несформированным противокоревым иммунитетом.

Для поиска возможных иммунологических и биохимических предикторов формирования адекватного гуморального иммунного ответа был проведен анализ изменений неспецифических показателей в динамике проведения вакцинации. Показано, что вакцинация связана с изменениями процессов метаболизма в организме человека. Помимо очевидных изменений содержания в сыворотке крови неспецифических параметров иммунного ответа, имеют место и изменения базовых показателей обмена веществ, что подчеркивает взаимосвязь биохимических, обменных и иммунных процессов.

Установлено, что для прогноза вакцинальных неудач могут быть использованы показатели IFN γ , суммарных IgG, IgM, общего билирубина, АЛАТ на различных этапах иммунизации.

Завершается изложение заключением с детальным, хорошим анализом собственных

результатов и выводами.

В целом, диссертация А.А. Ерещенко **является законченным исследованием, в котором представлено решения ряда задач**, связанных с оптимизацией профилактики кори у взрослого населения, в первую очередь среди медицинских работников. Работа имеет научную ценность, а также перспективу практического применения.

Замечания по работе

По диссертационной работе имеется несколько замечаний непринципиального характера:

1. Односторонним представляется вывод по третьей главе. Анализируя причины снижения противокоревых Ig G у молодых лиц, автор не рассматривает социальный фактор. Помимо снижения частоты контактов с вирусом кори в последние десятилетия одной из важных причин повышения заболеваемости, очевидно, является рост в социуме антипрививочного движения.
2. Часть материала *Заключения* уместнее смотрелась бы в главах собственных исследований. Например, ROC – анализ диагностической значимости лабораторных показателей как маркеров вакцинальных неудач.
3. Автор использует некоторые неудачные выражения:
 - «возрастспецифические особенности» — достаточно сказать «возрастные особенности»,
 - «внутрииндивидуальные различия» — вероятно, имеется в виду динамика индивидуальных показателей или временные различия индивидуальных показателей,
 - «неспецифический иммунитет» — более приемлем термин «врожденный» иммунитет.
4. Подписи к рисункам, например, к рисункам 8, 10, должны быть исчерпывающими, не предусматривающими поиск объяснений в тексте.

Вопросы:

1. Автор рекомендует определять референтные интервалы значений иммунологических показателей для каждой лаборатории. Связаны ли их значения с используемыми тест системами, то есть при смене тест-систем следует ли определять заново референтные интервалы?
2. Как диссертант объясняет более низкий уровень Ig A и билирубина у иммунизированных лиц, чем у не иммунизированных; более низкие показатели иммуноглобулинов крови у медицинских работников, чем у лиц других профессий?
3. Насколько показатели метаболизма ценны при решении вопроса о вакцинации и

ревакцинации. Можно ли, основываясь только на этих показателях, решать вопрос об иммунизации?

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Тема диссертационного исследования, его актуальность, цель и задачи, использованные материалы и методы, полученные результаты, их обсуждение, выводы и практические рекомендации соответствуют паспорту специальности 3.3.8 – Клиническая лабораторная диагностика (пункты 1, 2, 4, 7).

Общее заключение

На основании проведенного анализа считаю, что диссертационная работа Ерещенко Алены Анатольевны на тему «Лабораторные критерии формирования поствакцинального гуморального иммунитета к вирусу кори у медицинских работников», является завершенным квалификационным научным исследованием, содержащим решение актуальной задачи, а именно, оптимизации диагностического алгоритма для прогнозирования вакцинальных неудач при иммунопрофилактике кори среди медицинских работников. Решение этой задачи имеет существенное значение для теории и практики клинической лабораторной диагностики, иммунологии, эпидемиологии и других смежных специальностей. Диссертационное исследование выполнено на актуальную тему на достаточно высоком научном уровне, обладает научной новизной и практической значимостью и соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Ерещенко Алена Анатольевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.8 – Клиническая лабораторная диагностика.

Официальный оппонент

Доктор медицинских наук, руководитель отдела вакцинологии,
заведующая лабораторией гриппозных вакцин
федерального государственного бюджетного учреждения
«Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Л. М. Цыбалова

« 31 » мая 2023 года

Почтовый адрес: 197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 15/17
Телефон: +7 (812) 499-15-18; e-mail: sovets@influenza.spb.ru

Подпись Цыбаловой Л.М. удостоверяю.
Ученый секретарь к.м.н.



Т.Г. Лобова