

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Игнатъева Георгия Михайловича на диссертацию Гущина Владимира Алексеевича «МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СРЕДСТВ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ И ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКИ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (COVID-19)» представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 3.2.2 – «эпидемиология» и 1.5.10 – «вирусология»

Актуальность диссертационной работы.

В последние десятилетия эпидемические вспышки и пандемии, вызываемыми возбудителями вновь появляющихся инфекционных заболеваний, представляют значительную и постоянную угрозу для здравоохранения. Большинство из них имели вирусную этиологию в силу большего разнообразия и эволюции вирусов по сравнению с бактериями. Проникновению в человеческую популяцию зоонозных вирусов и их последующему распространению чаще всего предшествуют генетические изменения, которые способствуют преодолению межвидового барьера, что способствует дальнейшему отбору вариантов вирусов со способностью к передаче от человека к человеку. Такие генетические изменения становятся причиной, определяющей возникновение новых болезней в человеческой популяции и роста инфекционной заболеваемости.

Ранний этап проникновения нового патогена в популяцию людей осложняется факторами, способствующими развитию эпидемического процесса, в частности – высокой восприимчивостью популяции, отсутствием эффективных средств специфической диагностики, молекулярно-генетического мониторинга за возбудителем, средств специфического лечения, профилактики и адекватной тактики противоэпидемических мероприятий. Во многом, благодаря перечисленным причинам, появление нового коронавируса (первоначально названного 2019-nCoV, а позднее -

SARS-CoV-2,) в конце 2019 года в Китае в течение нескольких месяцев привело к его глобальному распространению. По масштабу вызванной пандемии SARS-CoV-2 стал наиболее значимым инфекционным агентом последнего столетия. В течение неполных трех лет в мире зарегистрировано более 623 млн случаев этой инфекции, из которых более 6,5 млн закончились летальным исходом. Среднее количество заразившихся от каждого больного в восприимчивой популяции для SARS-CoV-2 оценивалось в диапазоне от 2,24 до 3,58%. В Российской Федерации показатели заболеваемости за два года пандемии составили в среднем 155,3 на 100 тыс. населения. Клинико-эпидемиологическое исследование, проведенное по результатам двух лет наблюдений в Москве, показало, что заболеваемость варьировала от 33,7 до 1316,8 на 100 тыс. населения на разных этапах пандемии. По данным отечественных исследователей, Россия оказалась в ряду стран с наиболее высоким количеством заболевших и умерших от COVID-19. Столь высокая заболеваемость требовала разработку мер противодействия пандемии, в том числе совершенствования систем эпидемиологического надзора, создание новых профилактических средств и мероприятий с целью снижения роста заболеваемости и показателей летальности. Результаты молекулярно-генетического мониторинга за возбудителем и оценка динамики заболеваемости могут позволить оценить эффективность вакцинации во время пандемии и скорректировать штаммовый состав вакцин.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации. Достоверность полученных результатов, обоснованность научных положений и практических рекомендаций, сформулированных автором в диссертации, определяется репрезентативной выборкой обследованных лиц, достаточным объемом проведенных исследований, применением адекватных, поставленным задачам, современных эпидемиологических, молекулярно-генетических, вирусологических и серологических методов исследования. Все полученные результаты имеют

статистическую оценку (p - значимости или доверительный интервал). В зависимости от типа распределения данных и количества наблюдений автор применяет соответствующие критерии значимости, корреляционный или многофакторный дисперсный анализ, в том числе и современное компьютерное программное обеспечение. Представленный материал в полной мере позволяет обосновать основные положения диссертации и сделать заключение о достоверности представленных данных. Выводы диссертации отражают суть выполненной работы, основаны на собственных результатах.

Научная новизна выполненной работы. Установлены проявления эпидемического процесса COVID-19 в Москве в период с марта 2020 по октябрь 2022 г., который может быть подразделен на 11 статистически достоверно отличающихся между собой периодов, включающих 6 зарегистрированных волн подъема и спада заболеваемости (а также колебаний смертности, количества госпитализаций, тяжести клинических проявлений), обусловленных периодической сменой доминирующих генетических вариантов возбудителя.

При выполнении работы разработан широкий комплекс диагностических и лабораторных тестов, позволяющих верифицировать этиологический агент, установить состав мутаций RBD-домена S-белка SARS-CoV-2, дифференцировать ранее перенесенное заболевание COVID-19 или получение вакцины и определить показатели качества иммунного ответа.

Детально описана динамика циркуляции основных генетических вариантов SARS-CoV-2 в период 2020–2022 г. в Москве. Показано нарастание доли генетических вариантов с мутациями в RBD-домене S-белка и увеличение количества мутаций в составе RBD-домена со временем. Установлено, что за первичным накоплением доли варианта Ухань с мутациями в составе RBD-домена, генетический пейзаж вирусной популяции полностью сменился, вследствие проникновения в Москву вариантов Дельта и Омикрон, которые практически не циркулировали одновременно с более ранними вариантами вируса и друг с другом. Продемонстрировано

доминирование в Москве уникального варианта Дельта AY.122, имеющего характерную комбинацию мутаций nsp2: K81N+ORF7a:P45L и мало распространенного за пределами РФ.

Показано, что в случае варианта Дельта в мазках, полученных от больных с COVID-19, на несколько порядков увеличивалась вирусная нагрузка, тогда как в случае варианта Омикрон менялись антигенные характеристики, способствующие уходу вируса от воздействия нейтрализующих антител.

Автором изучено формирование иммунного ответа при рекомендованных схемах вакцинации и ревакцинации вакциной Спутник V и установлена его напряженность в группах лиц, отличающихся по возрасту и уровню антител перед ревакцинацией. Показана обратная зависимость степени повышения количества нейтрализующих антител от исходного их уровня перед ревакцинацией. Так, достоверное повышение показателей специфических IgG после каждой из двух бустерных доз происходит при исходном показателе IgG до ревакцинации до 300 ВАУ/мл у ранее не болевших и до 100 ВАУ/мл у перенесших COVID-19. Достоверное повышение показателей антител после первой бустерной дозы отмечается у лиц с исходным показателем до 500 ВАУ/мл, вне зависимости от наличия в анамнезе COVID-19.

Впервые получены данные об эпидемиологической эффективности вакцин Спутник V и Спутник Лайт в зависимости от доминирующего генетического варианта возбудителя. Продемонстрировано снижение эпидемиологической эффективности Спутник V с 90% (для варианта Ухань) до 80% и 54% после прихода вариантов Дельта и Омикрон соответственно. Наибольшая устойчивость показателей иммунной защиты, формируемой вакцинацией, наблюдалась в защите от необходимости в госпитализации и от тяжёлого течения COVID-19(не менее 80%).

Показано, что проведение ревакцинации препаратами Спутник Лайт и Спутник V достоверно повышает защиту вакцинированных от COVID-19,

снижает тяжесть течения COVID-19, уменьшает риск необходимости госпитализации и реанимации вне зависимости от доминирующего варианта вируса, включая вариант Омикрон. При применении бустерной иммунизации в период распространения варианта Омикрон эффективность защиты от госпитализации и тяжелого течения достоверно повышалась с 85% до 97%.

Продемонстрирована эпидемиологическая эффективность вакцинопрофилактики COVID-19 в группе лиц, живущих с ВИЧ (ЛЖВ). Показано, что наиболее выраженная эпидемиологическая эффективность наблюдалась в группе пациентов, имеющих уровень $CD4 \geq 350$ клеток/мкл.

На примере распространения варианта Омикрон установлены ранние индикаторы, которые можно использовать для выявления новых вариантов, способных приводить к ухудшению эпидемической ситуации COVID-19, а также снижению эффективности применяемых профилактических препаратов.

Предложен алгоритм постоянной оценки эффективности средств специфической диагностики и вакцинопрофилактики в условиях смены доминирующих генетических вариантов возбудителя, в том числе для задач выбора антигенов в состав обновляемых вакцин.

Теоретическая значимость работы. Проведенное исследование научно обосновало влияние генетической изменчивости SARS-CoV-2 на интенсивность проявления эпидемического процесса COVID-19, в том числе благодаря способности избегать воздействия вируснейтрализующих антител - новые варианты оказывают существенное влияние на интенсивность эпидемического процесса COVID-19, в том числе, благодаря способности избегать воздействия вируснейтрализующих антител. Впервые изученное формирование иммунного ответа при использовании вакцины Спутник V, его длительности и напряженности. Показано, что через полгода после вакцинации иммунологическая эффективность ревакцинации наблюдалась во всех возрастных группах и находилась в обратной зависимости от уровня антител перед ревакцинацией. Полученные количественные значения важны

для теоретического обоснования защитного уровня антител в будущем и установления маркеров протективности.

Теоретически обоснована стратегия и тактика иммунопрофилактики COVID-19 на текущем этапе пандемии, подразумевающая использование ревакцинации для предотвращения инфицирования, а также для снижения тяжести заболевания и необходимости в госпитализации, внедрение алгоритма подготовки к смене антигенного состава вакцины путем подбора нового штамма SARS-CoV-2.

Практическая значимость работы. Результаты проведенных исследований эффективности вакцин использованы при подготовке документа "Временные методические рекомендации "Порядок проведения вакцинации против новой коронавирусной инфекции (COVID-19)" (утв. Минздравом России (от 24 августа 2021 г.).

Данные по снижению эффективности вакцины Спутник V в отношении варианта Омикрон реализованы при подготовке изменений в Постановление Правительства Российской Федерации от 3 апреля 2020 г. № 441.

Набор реагентов для выявления РНК SARS-CoV-2 зарегистрирован в качестве изделия медицинского назначения для диагностики COVID-19 (регистрационное удостоверение РЗН 2020/10550 от 29 мая 2020 года) и используется для этиологической диагностики COVID-19.

По результатам разработки ОТ-ПЦР сформирован комплект «ноу-хау», который используется для производства тест-системы на коммерческой основе.

Зарегистрированный Государственный стандартный образец «СО инактивированного штамма «ГК2020/1» коронавируса SARS-CoV-2», наряду с коллекциями инактивированных изолятов используются широким спектром организаций для контроля точности диагностики и аттестации методик измерений концентрации РНК коронавируса SARS-CoV-2.

Соответствие диссертации Паспорту научной специальности. По цели, задачам, методическому подходу и полученным результатам диссертация В.А. Гущина соответствует требованиям пп. 2, 4, 5, 6 паспорта специальности 3.2.2 – эпидемиология и пп. 1-8, 10 паспорта специальности 1.5.10 – вирусология.

Общая структура и содержание диссертационной работы.

Диссертация построена по традиционной схеме, изложена на 303 страницах, которые включают сам текст диссертации и четыре приложения. Диссертация состоит из следующих основных разделов: «Введение», Главы «Обзор литературы», Главы «Материалы и методы», Главы «Результаты собственных исследований», «Обсуждение результатов», «Выводы», «Заключение», «Список сокращений и условных обозначений» и «Список цитируемой литературы». Список литературы включает 420 ссылок, из которых 49 ссылок на публикации отечественных авторов и 371 - зарубежных. Работа иллюстрирована 37 таблицами, 32 рисунками и 4 Приложениями.

Во введении Владимир Алексеевич обосновывает актуальность темы диссертационной работы указывая, что эпидемические вспышки и пандемии, вызываемыми возбудителями вновь появляющихся инфекционных заболеваний, представляют собой значительную и непрерывную угрозу для глобального здравоохранения.

Глава «Обзор литературы» имеет 6 подразделов в которых представлена информация об актуальности проблемы вновь возникающих инфекций, коронавирусах как этиологических агентах заболевания человека, структуре вириона SARS-CoV-2, составе и функциях структурных белков вируса, его репродуктивном цикле. В обзоре дан анализ истории пандемии COVID-19. Отдельно отмечен вопрос эпидемического процесса в России, система эпидемического надзора и пути ее совершенствования. Автором рассматриваются средства противодействия COVID-19, включая диагностику, неспецифическую профилактику, противоэпидемические мероприятия, специфическую противовирусную терапию и

вакцинопрофилактику. Анализируя вакцины для профилактики COVID-19 автор больше внимания уделил вакцинам на основе вектора аденовируса, что соответствует теме его работы. Отдельным разделом главы является анализ литературы о генетических вариантах SARS-CoV-2 и рисках продолжения пандемии – это так же соотносится с задачами работы. В заключении к главе автор провел анализ имеющихся научных публикаций на соответствие выполненной им работы. Глава написана хорошим, доступным языком.

Глава 2. «Материалы и методы». Содержит информацию о всех использованных для выполнения работы методах и материалах. Вся информация дана подробно и честно. В части, касающейся методов, они могут быть воспроизведены на основании представленного автором описания. Из представленной информации можно сделать вывод, что автор сам владеет всеми использованными методами. Необходимо отметить, что при выполнении работы автор использовал вирусологические, иммунологические, молекулярно-биологические, эпидемиологические, статистические методы. Все использованные методы позволяют выполнить поставленные в связи с темой диссертации задачи исследований. Набор методов полностью отражает специальности, по которым выполнена работа.

Глава 3. «Результаты собственных исследований», включает 7 разделов, и в ней представлены собственные результаты исследования. Глава содержит материалы, отражающие ответы на задачи, которые были сформулированы автором в начале исследования. В разделе 3.1 отражены результаты по выявлению 11 периодов эпидемического процесса COVID-19 в трехлетней динамике заболеваемости, статистически достоверно отличающихся по показателям заболеваемости, госпитализации и смертности населения. Установлены 6 периодических подъемов и спадов заболеваемости, которые, как отмечает автор, могли быть обусловлены не только активностью выявления заболевших, введением и этапным снятием режимно-ограничительных мероприятий, формированием уровня популяционного

иммунитета, различиями в возрастной и гендерной структуре заболевших, действием сезонного фактора, но и доминирующим влиянием биологических, в частности, молекулярно-генетических особенностей вируса.

В разделе 3.2 представлены подходы к специфической индикации возбудителя различных генетических вариантов SARS-CoV-2 и выявления антител к вирусу. В ходе работы был создан и зарегистрирован набор реагентов для экстракции РНК всех генетических вариантов SARS-CoV-2, и набор реагентов для дифференциальной диагностики коронавируса и гриппа, разработаны ИФА тест-системы для выявления IgG к RBD-домену и Nc SARS-CoV-2 и определения avidности антител. Раздел содержит информацию о панели образцов вируса, включающую более 100 изолятов, которая использована для оценки вируснейтрализующей активности антител сывороток крови вакцинированных и (или) переболевших COVID-19.

Раздел 3.3 посвящен результатам молекулярно-генетического мониторинга циркулирующих вариантов SARS-CoV-2. Установлено доминирование в Москве трех основных генетических вариантов возбудителя: Ухань, Дельта и Омикрон и их периодическая смена. Показано, что первые две волны подъема эпидемического процесса COVID-19 связаны с вариантом Ухань, третья-четвертая – с распространением варианта Дельта, пятая – с появлением варианта Омикрон линии BA.2.x, шестая – с вариантом Омикрон, но со сменой генетической линии на BA.5.2.x. По мнению автора, определяющим фактором смены доминирующих вариантов SARS-CoV-2 является повышение вирусной нагрузки и увеличение количества мутаций в RBD-домене.

Интересно представлено изучение иммунологической эффективности вакцины Спутник V, в том числе в зависимости от возраста, а также от «уровня» антител перед ревакцинацией или ранее перенесенного COVID-19 (раздел 3.4.). Отдельно необходимо отметить результаты проведенного исследования эффективности вакцин Спутник V и Спутник Лайт при смене доминирующего генетического варианта SARS-CoV-2 – Дельта и Омикрон

(раздел 3.5.). Исследование эффективности вакцины Спутник V в отношении вариантов Ухань и Дельта у лиц, живущих с ВИЧ, очень интересно и познавательно. Оценка вируснейтрализующей активности сывороток вакцинированных и изменения в RBD-домене, вирусной нагрузки у вакцинированных как индикатор эффективности вакцины, репродуктивного числа и контагиозности вариантов – эти результаты были использованы автором при разработке алгоритма постоянной оценки эффективности специфических профилактических средств в отношении новых вариантов SARS-CoV-2 и выбор антигенов в состав обновленной вакцины (разделы 3.6. и 3.7.). Результаты, представленные в Главе 3 диссертации, свидетельствуют о том, что все задачи, которые были поставлены автором, решены.

В разделе «Обсуждение результатов» Владимир Алексеевич обсуждает полученные им и изложенные в главе 3 результаты с данными других авторов, изложенными в доступной научной литературе. Анализ результатов, проведенный соискателем, аккуратен, четок, основан на полученных результатах. Владимир Алексеевич не допускает манипулирования собственными результатами, домысливания.

Автор при выполнении работы выполнил все поставленные задачи, получил интересные и достоверные результаты, которые были профессионально обсуждены и отражены в выводах.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов исследований подтверждается большим объемом исследований, качественной статистической обработкой. Полученные результаты отражены в 47 статьях в рецензируемых научных журналах, из которых 45 входят в список ВАК. Результаты работы были представлены на 24 международных и российских научных конференций и семинарах.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации. Автореферат диссертации оформлен в соответствии с требованиями, отражает основное содержание работы и научных публикаций, раскрывает основные положения, выносимые на защиту.

Замечания и вопросы.

Оценивая работу положительно и отмечая ее несомненную завершенность и научную новизну есть несколько вопросов, которые носят дискуссионный характер, а именно:

- совместима ли вакцинация Спутник V или Спутник Лайт с ревакцинацией другими вакцинами – «Ковивак» или «Эпиваккорона»?
- предлагаемая схема ревакцинации в зависимости от предшествующего уровня антител – применялась ли она при вакцинации Спутником V (при отборе лиц на вакцинацию), или будет применяться?

Вопросы не носят принципиальный характер. и не снижают общей положительной оценки диссертационной работы.

Заключение.

Диссертационная работа Гущина Владимира Алексеевича «Молекулярно-эпидемиологический мониторинг и оценка эффективности средств специфической диагностики и вакцинопрофилактики новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной проблемы: влияние доминирующих вариантов возбудителя SARS-CoV-2 на цикличность проявления эпидемического процесса; обоснована стратегии и тактики вакцинопрофилактики COVID-19 в период развития пандемии для снижения тяжести течения болезни и необходимости госпитализации; внедрен алгоритм подготовки к смене антигенного состава вакцин путем подбора актуализированного штамма SARS-CoV-2, что имеет значение для теории и практики эпидемиологии и вирусологии в целом. Диссертация обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты и положения, выдвигаемые для публичной защиты, выводы, которые свидетельствуют о личном вкладе автора в выполненную работу, и характеризуются существенной теоретической и практической значимостью. По актуальности, совокупности новых научных результатов, теоретической и практической значимости, объему проведенных исследований работа полностью

соответствует критериям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 30.07.2014 № 723, от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539, от 26.09.2022 №1690, от 26.01.2023 №101 предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а сама автор, Гущин Владимир Алексеевич, по совокупности представленных материалов, актуальности темы выполненной диссертации, научно-практической значимости и ценности полученных результатов, личному вкладу, достоин присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальностям **3.2.2 – «эпидемиология» и 1.5.10 – «вирусология»**

Официальный оппонент: доктор медицинских наук, профессор
Руководитель лаборатории опасных и социально значимых инфекций
Федерального государственного бюджетного учреждения «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства

Игнатьев Георгий Михайлович

Почтовый адрес: 119121, Москва, Погодинская д. 10с1.
+7 (499) 245-03-14, info@cspfmba.ru
<http://www.cspmz.ru/contacts/>

Подпись д.м.н., профессора Г.М. Игнатьева заверяю

Заместитель Генерального директора



Никитин Николай Иванович