

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Щербининой Марии Сергеевны «Состояние поствакцинального иммунитета к вирусу клещевого энцефалита у населения эндемичной территории, динамика иммунитета у вакцинированных и невакцинированных пациентов», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.02 – вирусология

**Актуальность темы диссертационной работы.** Клещевой энцефалит (КЭ) – одно из наиболее тяжелых вирусных природно-очаговых заболеваний было открыт более 80 лет тому назад отечественными учеными во главе с профессором Л.А. Зильбером в результате легендарной дальневосточной экспедиции. Были установлены этиологический агент – вирус КЭ, переносчик – клещ *Ixodes persulcatus*, основные эпидемиологические и клинические особенности заболевания. Дальнейшие исследования показали широкое распространение природных очагов инфекции в Евразии – от острова Хоккайдо на востоке до Германии и Франции на западе, участие в сохранении и переносе инфекции других видов иксодовых клещей, прежде всего, *Ixodes ricinus*. Наиболее полно КЭ изучен в нашей стране. Выявлены определенные различия в тяжести заболевания на Дальнем Востоке и в европейской части страны, которые ряд исследователей относит на счет особенностей свойств «дальневосточных» и «западных» штаммов вируса, первоначально объединенных в соответствующие два серотипа. В СССР были созданы

специфические вакцины против КЭ, которые применялись, главным образом, для защиты групп риска – профессионалов, работающих на территориях природных очагов. Официальная регистрация КЭ была начата в нашей стране в 1944 году и показала волнообразный характер заболеваемости, достигшей максимума в 1996 году (более 10000 случаев). В XXI веке уровень заболеваемости снижался на фоне значительной активизации в РФ профилактической работы, включая вакцинацию населения эндемичных территорий. Были разработаны и внедрены в практику новые современные отечественные вакцины из дальневосточных штаммов *Софьин* и *205*, а также зарегистрированы зарубежные вакцины, приготовленные на основе европейских штаммов *Neudoerfl* и *K-23*.

С развитием методов молекулярной биологии значительно расширились наши знания о природной генетической вариабельности вируса КЭ. Сегодня официально признано существование трех генотипов (субтипов) вируса – «дальневосточного», «европейского» и «сибирского», а также описаны «байкальский» субтип (группа 886), оригинальный штамм *178/79*, «гималайский» субтип. Внутри субтипов обнаружен ряд генетических линий. Особенности субтипов – антигенные и биологические свойства, возможные влияния на развитие тех или иных клинических форм КЭ изучаются, к сожалению, недостаточно. Особое значение имеет возможная роль генетической вариабельности вируса КЭ в возникновении случаев КЭ у вакцинированных лиц. Эта проблема по разным причинам в значительной

степени замалчивается, несмотря на то, что по данным авторов, в 2010-2013 гг. в таких регионах, как Приморский край, Свердловская область, Курганская область число вакцинированных среди всех больных КЭ составляло 19-23%. В Республике Алтай в период 2004-2018 гг. из 550 заболевших 109 (19,8%) были ранее вакцинированы по полной схеме. В отношении многих эндемичных регионов детальная информация по этому вопросу отсутствует. Хотя, большинство вакцинированных пациентов переносят КЭ в относительно более легкой лихорадочной и менингеальной формах (впрочем, как и невакцинированные), у части из них выявляются очаговые формы с поражением ЦНС и даже описаны летальные случаи у многократно привитых пациентов. Существуют и другие проблемы, связанные с применением вакцин против КЭ – это установление величин защитных титров антител в отношении штаммов, гомологичных вакцинным и штаммов иных субтипов, способы достижения и сохранения защитных титров, число необходимых ревакцинаций и интервалов между ними. Постановка этих важнейших для успешной вакцинопрофилактики вопросов и проведенные в данном контексте исследования безусловно свидетельствуют об актуальности представленной к защите диссертации М.С. Щербининой.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций.** Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, представленных в рецензируемой диссертационной работе, имеют своей основой правильный выбор цели, постановку задач для ее

достижения, доступ к материалам исследования, использование подходящих методов, корректное их исполнение, адекватное проведение анализа полученных результатов и формулировка выводов, вытекающих из этих результатов. Актуальность темы работы, как уже было подчеркнуто, сомнений не вызывает, то же можно сказать о выбранных автором подходах к ее реализации – классических вирусологических и иммунологических методов, таких как реакция нейтрализации (РН) на моделях клеточных культур и лабораторных белых мышей, реакция торможения гемагглютинации (РТГА) и современного серологического теста – иммуноферментного анализа (ИФА) в нескольких модификациях.

Одной из наиболее важных задач работы было оценить состояние специфического иммунитета у вакцинированных против КЭ лиц, проживающих на эндемичной территории и выявить основные факторы, влияющие на достижение высокого уровня иммунной защиты. Проведенные исследования привели к обоснованному заключению о необходимости строго придерживаться установленной производителями схемы иммунизации, нарушение которой (имеется в виду пропуск ревакцинаций) приводит к снижению титров антител до показателей, не достигающих защитного уровня. Вместе с тем показано, что интервал между ревакцинациями может быть увеличен без ущерба для формирования напряженного гуморального иммунитета. Вступив в полемику, относительно величины защитного титра антител, полученного в результате вакцинации, автор на основании

собственных данных обоснованно поддерживает позицию некоторых исследователей о несостоятельности официально принятого показателя в 1:100 и необходимости установить более высокий защитный титр. Безусловно обоснованными следует считать и предложения соискателя, направленные на разработку подходов к верификации диагноза клещевого энцефалита у вакцинированных пациентов с помощью проведения и оценки определенных лабораторных исследований.

**Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций.**

Говоря о научной новизне, нельзя не отметить новаторский подход автора, впервые достаточно масштабно, на уровне диссертационного исследования поставившей вопросы: а) об эффективности применения вакцин, приготовленных на основе дальневосточного подтипа вируса КЭ в условиях доминирования на территории России сибирского подтипа и б) необходимости адекватной диагностики, а, стало быть и объективной регистрации случаев заболеваний у вакцинированных лиц. Не все ответы на эти сложные и неразработанные вопросы получены в данной работе, однако то, что они поставлены, свидетельствует о способности автора выявлять узкие места в рассматриваемой проблеме и ставить перед собой задачи, обладающие признаками научной новизны.

Одной из таких задач было выявление реальной способности сывороток крови вакцинированных лиц нейтрализовать дозы вируса КЭ, встречающиеся

в спонтанно инфицированных клещах. Впервые были проведены исследования с участием не только вакцинного штамма, но и штамма, относящегося к доминирующему на территории РФ сибирскому подтипу. Сыворотки с титром IgG 1:100 не обладали значимой нейтрализующей активностью, при титре 1:400 сыворотки нейтрализовали ВКЭ сибирского подтипа в дозе  $10^{2,0}$ - $10^{2,5}$ , сыворотки с титром 1:6400 нейтрализовали дозу ВКЭ  $10^{4,0}$ - $10^{4,5}$ . Таким образом, наиболее распространенные в иксодовых клещах на территории Курганской области дозы вируса в  $10^{3,0}$ - $10^{3,9}$  ЛД<sub>50</sub> нейтрализовались только сыворотками с титром 1:800 и выше, доля обладателей которых в разных районах области колебалась от 27% до 59%. Было показано, что только 30,8% сывороток обследованных лиц, получивших от 5 до 8 доз вакцины, обладали способностью нейтрализовать дозы вируса сибирского подтипа в  $10^{3,0}$ - $10^{3,9}$  ЛД<sub>50</sub>. Что касается более высоких доз вируса  $10^{4,0}$ - $10^{5,0}$  ЛД<sub>50</sub>, они нейтрализовались лишь 8,3% сывороток. Уровень защиты в отношении вакцинного штамма Софьин дальневосточного подтипа был несколько выше – 38,9% тестированных сывороток, к более высоким дозам – 12,6%. К сожалению, достоверность различий в данном случае не определялась. Тем не менее, эти результаты очень важны для понимания реальной ситуации, связанной с применением отечественных вакцин. Так, они проливают свет на возможные причины возникновения заболеваний КЭ у вакцинированных лиц, число которых на обследованной территории за ряд лет, как сообщает автор, превысило 20% от общего числа больных, а в 2010 г.

из 146 больных КЭ было зарегистрировано 43 вакцинированных пациентов, что составило 29,45%. Кроме того, здесь был зарегистрирован летальный случай КЭ у многократно вакцинированного пациента. Несмотря на то, что диссертант в ходе обсуждения полученных результатов не высказывает мнения о необходимости дальнейшего изучения и решения проблем, связанных с вакцинопрофилактикой населения эндемичных территорий, где в природе доминирует сибирский субтип вируса КЭ, полученные им данные говорят сами за себя. Представляется, что работы в этом направлении нуждаются в увеличении выборки на разных территориях, в условиях строгого контроля режима транспортировки и хранения вакцин, соблюдения сроков годности, числа ревакцинаций и интервалов между ними, расширения объемов вирусологических и молекулярно-биологических исследований.

Научной новизной обладает проведенный автором анализ динамики иммунитета у ранее вакцинированных больных острой и хронической формами КЭ. М.С. Щербининой выявлено, что у ранее вакцинированных пациентов отмечается три типа динамики – сероконверсия, стабильные титры и негативная динамика. В этой ситуации диагностика КЭ усложняется, в связи с чем ею предлагается проведение дополнительных исследований: определение IgM и IgG, а также антигена вируса КЭ в СМЖ методом ИФА, детекция РНК вируса КЭ в СМЖ с помощью ПЦР, изоляция вируса из СМЖ. Также автор считает полезным использовать реакции, дифференцирующие

иммунный ответ к вакцинному штамму и к этиологическому агенту, если он относится к другому генетическому типу вируса КЭ.

Достоверность полученных данных подтверждается публикациями 7 статей в журналах, входящих в перечень изданий для опубликования материалов кандидатских и докторских диссертаций, утвержденных ВАК, научными докладами, сделанными на конференциях разного уровня, а также внесением результатов работы в учебные планы Кемеровского медицинского университета и их использованием научно-производственной компанией «ВекторБэст» для обучения специалистов.

#### **Оценка практической значимости работы.**

Практическая ценность работы заключается в объективной оценке эффективности вакцинации против КЭ в высокоэндемичном регионе, выявлении причин недостаточно напряженного иммунитета у значительной части вакцинированных, что дает возможность повысить качество этой работы. Для усовершенствования критериев успешной иммунизации существенное значение имеют данные диссертанта, свидетельствующие о целесообразности изменить оценку защитного титра антител с 1:100 до 1:400 (как минимум). Рекомендации по применению дополнительных лабораторных исследований будут способствовать более точной диагностике заболеваний КЭ у ранее вакцинированных лиц.

#### **Структура диссертационной работы.**



Структурно диссертационная работа Щербининой М.С. включает «Введение», главу 1 «Обзор литературы», состоящую из 9 подглав, главу 2 «Собственные исследования. Материалы и методы», главу 3 «Состояние поствакцинального иммунитета у населения высокоэндемичной по КЭ территории Зауралья», главу 4 «Факторы, влияющие на продолжительность и напряженность поствакцинального иммунитета», главу 5 «Степень защиты населения от сибирского подтипа», главу 6 «Сравнительное изучение динамики гуморального иммунитета у вакцинированных и не вакцинированных пациентов, критерии специфической лабораторной диагностики КЭ», заключение, выводы и список литературы. В «Обзоре литературы» автор подробно описывает этиологический агент (таксономическое положение, свойства, серотипы, генотипы), экологию и нозоареал, классификацию острого и хронического КЭ, вакцинопрофилактику, поствакцинальный иммунитет, анализ случаев заболеваемости КЭ привитых, диагностику случаев заболевания, эпидемиологическую обстановку на территории Курганской области. Главы собственных исследований посвящены различным аспектам иммунопрофилактики КЭ на высокоэндемичной территории, выявлению причин низких показателей напряженности иммунитета у значительной доли вакцинированных лиц, проблеме защитного титра антител, эффективности вакцин в отношении циркулирующих штаммов вируса иного подтипа, клещевому энцефалиту у ранее вакцинированных лиц. Замыкают работу

«Заключение» и «Выводы», в которых кратко суммируются результаты исследования.


В ходе рецензирования диссертационной работы М.С. Щербининой выявлен ряд недостатков: 1) в текстах диссертации и автореферата имеются неисправленные стилистические и грамматические ошибки; 2) обзор литературы перегружен избыточной информацией, не имеющей прямого отношения к рассматриваемым в работе вопросам, например, материалами об экологии вируса КЭ или детальным описанием причин временного запрета на использование вакцины «Энцевир» для иммунизации детей; 3) автор не вполне корректно комментирует результаты таблиц 15 и 16, утверждая, что 65-70% вакцинированных лиц данной выборки защищены от доз вируса КЭ в значениях  $10^2$ - $10^5$  ЛД<sub>50</sub>, но это справедливо только в отношении дозы  $10^2$  ЛД<sub>50</sub>, а от дозы  $10^5$  ЛД<sub>50</sub> защищены лишь 8-12%; 4) на основании полученных данных автор делает обоснованное, но нереалистичное в плане практического внедрения (из-за чрезмерного объема работ и нагрузки на медицинский персонал) предложение проводить очередные ревакцинации, основываясь на текущих данных по напряженности иммунитета вакцинируемых лиц: а) при уровне IgG в ИФА 1:100 и ниже – ревакцинация до начала сезона активности клещей, б) при уровне IgG в ИФА 1:400 – ревакцинация в пределах интервала, установленного инструкцией по применению, в) при уровне IgG в ИФА 1:800 – 3200-1:6400 возможна отсроченная ревакцинация под контролем состояния гуморального иммунитета к ВКЭ.

Высказанные замечания не носят принципиального характера и не оказывают влияния на положительную оценку работы в целом.

### **Заключение.**

Диссертация Щербиной Мари Сергеевны «Состояние поствакцинального иммунитета к вирусу клещевого энцефалита у населения эндемичной территории, динамика иммунитета у вакцинированных и невакцинированных пациентов» по форме, содержанию, актуальности, полноте поставленных и решенных задач, совокупности новых научных результатов соответствует требованиям, установленным в п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 482 (в редакции от 30.07.2014 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Щербина Мария Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Зав. кафедрой микробиологии, вирусологии  
и иммунологии, директор НИИ биомедицинских  
технологий ФГБОУ ВО Иркутский государственный  
медицинский университет Минздрава России  
Засл. деятель науки РФ, акад. РАН, д.м.н., профессор

 В.И. Злобин

