

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Туполевой Татьяны Алексеевны «Стратегия повышения вирусной безопасности компонентов донорской крови», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови.

Актуальность проблемы. Диссертационная работа Туполевой Т.А. «Стратегия повышения вирусной безопасности компонентов донорской крови» посвящена актуальной проблеме повышения вирусной безопасности трансфузий компонентов донорской крови, в частности, снижения рисков инфицирования донорской крови возбудителями вирусных гепатитов В и С, наиболее широко распространенных и представляющих серьезную социальную проблему здравоохранения. Несмотря на заметную тенденцию снижения заболеваемости острыми формами гепатитов В и С, в последние годы сохраняется и даже растет уровень заболеваемости хроническими и латентными формами гепатитов В и С. А, как известно, именно с длительной персистенцией возбудителей гепатитов В и С связывают рост таких серьезных осложнений, как цирроз и первичный рак печени. Однако регистрируемый в Российской Федерации показатель заболеваемости хроническим гепатитом С не отражает истинной картины, поскольку диагностика вирусного гепатита С основана на выявлении антител к вирусу и нуждается в дополнительных подтверждающих тестах. Особенно это актуально для гематологических стационаров, где регистрируется наиболее высокая заболеваемость вирусными гепатитами, что связано с определенным контингентом больных, нуждающихся в длительном лечении, в многократных гемотрансфузиях, в инструментальном вмешательстве. Вполне очевидно, что риск инфицирования вирусами гепатитов В и С посредством трансфузий оценивается недостаточным количеством идентифицирующих инфекцию маркеров, используемых при лабораторном обследовании крови доноров,

наличием негативного окна в ранние фазы заболевания, наличием латентных форм вирусных гепатитов. Возникает настоятельная необходимость во внедрении новых дополнительных методов диагностики заболеваний, вызванных вирусами гепатитов В и С, и, в большей степени, это касается доноров крови и ее компонентов.

В этой связи является вполне научно обоснованной цель диссертационной работы: разработать стратегию, направленную на повышение вирусной безопасности трансфузий компонентов крови. Для выполнения поставленной цели автор ставит и успешно решает целый ряд задач. Это и разработка порядка обследования донорской крови и выбраковки компонентов крови по результатам лабораторного исследования на инфекционные маркеры, и анализ динамики выявления регламентированных маркеров ВГВ и ВГС в образцах крови доноров, собранных в течение 1999 по 2016 гг., а у пациентов гематологического стационара - в течение 2003 по 2016 гг., обоснование введения тестирования на наличие антител к ядерному антигену ВГВ образцов крови доноров, поставлена задача оценить частоту встречаемости маркера острой ВГВ-инфекции в образцах крови доноров, в которых выявлены антитела к ядерному и поверхностному антигенам ВГВ, определить критерии пулирования образцов крови доноров для проведения тестирования на наличие вирусных нуклеиновых кислот с точки зрения риска пропуска образцов с низкими концентрациями, провести анализ случаев обнаружения маркеров активной ВГВ- и ВГС-инфекции у ранее неинфицированных пациентов и разработать процедуры и временные регламенты обследования больных при поступлении в гематологический стационар и во время лечения с целью выявления латентных форм заболевания и возможных новых случаев инфицирования.

Использование современных вирусологических и молекулярно-биологических методов исследования, современных методов статистической обработки данных многолетнего изучения, позволило диссертанту успешно выполнить задачи исследования и получить результаты, отличающиеся высокой **научной новизной, практической значимостью и достоверностью.** Благодаря

оптимизации методов лабораторного обследования и, в частности, внедрению новых высокочувствительных тестов, позволяющих определять маркеры инфекции, вызванной вирусами гепатитов В и С у доноров крови и ее компонентов, диссертантом была создана специальная трансфузиология для больных заболеваниями системы крови. На огромном фактическом материале автором впервые проведена оценка динамики частоты обнаружения регламентированных маркеров вирусов гепатитов В и С в образцах крови доноров и пациентов ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России за последнее 16-18 лет. Автором получены данные, свидетельствующие о небезопасности компонентов крови, содержащих антитела к НВс и к НВs антигенам вируса гепатита В даже в высоком защитном титре. Автором разработан и введен новый порядок обследования доноров, позволивший получить отрицательные данные о регистрации случаев появления маркеров вирусов гепатитов В и С у ранее неинфицированных реципиентов, получавших гемотрансфузии. Диссертантом установлена возможность проводить тестирование на ДНК в пулах из шести проб без угрозы неполного выявления инфицированных компонентов крови при внедрении в практику рутинного скрининга образцов крови доноров на наличие анти-НВс. Автор установила необходимость обязательного исследования пациентов при первичном обращении на наличие антител к ядерному и поверхностным антигенам вируса гепатита В дополнительно к тесту на ДНК вируса.

Полученные Туполевой Т.А. результаты имеют высокую **научно-практическую значимость**. Основные результаты диссертационной работы Туполевой Т.А. внедрены в практику лабораторного скрининга образцов крови доноров и пациентов ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. Автором создан новый порядок обследования донорской крови и выбраковки компонентов по результатам лабораторного исследования на инфекционные маркеры, введенный с 01.03.2014 года Приказом №61 от 03.04.2014 по ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. В практику работы Центра гематологии внедрены разработанные автором стандартная операционная

процедура «Проведение эпидемиологического расследования случая возможного трансфузионного инфицирования реципиента компонентов донорской крови вирусом гепатита В и/или С» и регистрационная карта расследования таких случаев. Диссертантом разработана оптимальная схема обследования пациентов при поступлении в гематологический стационар и во время лечения с целью выявления латентных форм заболевания и возможных новых случаев инфицирования.

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов, по результатам диссертации обусловлена применением современных методов аналитического обсервационного эпидемиологического исследования, в том числе, когортного ретроспективного и проспективного исследований. Диссертантом использованы современные методы статистической обработки данных. Результаты диссертационной работы Туполевой Т.А. неоднократно докладывались и обсуждались на многочисленных российских и международных конференциях, конгрессах, съездах и научных семинарах, проходивших в стране и за рубежом.

Рекомендации по использованию результатов диссертации.

Разработанный автором порядок скрининга донорской крови прошел проверку в условиях гематологического стационара, и может быть рекомендован в качестве рутинного скрининга в службе крови страны. Полученные автором результаты по внедрению двухэтапного порядка расследования случаев вероятного трансфузионного инфицирования ВГВ и ВГС пациентов, ранее отрицательных по маркерам этих вирусов, могут быть рекомендованы практическому здравоохранению. Внедрение лабораторной информационной системы позволяет оперативно и достоверно проводить такие расследования. Практическое использование разработанного диссертантом алгоритма обследования больных при поступлении в гематологический стационар, помимо тестирования на HBsAg, анти-ВГС, ДНК ВГВ, РНК ВГС, включающий исследование на анти-НВс и анти-НВs, позволит уже при поступлении в

лечебное учреждение фиксировать наличие ВГВ- и/или ВГС-инфекции у пациентов.

Краткая характеристика основного содержания диссертации Т.А. Туполевой.

Диссертация Т.А. Туполевой изложена на 218 страницах и состоит из введения, одной большой главы обзора данных литературы, раздела «Материал и методы», шести глав результатов собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений, списка цитируемой литературы, состоящего из 420 источников, в том числе, 71 отечественного и 349 зарубежных источников. Диссертация иллюстрирована качественно выполненными 21 рисунком, 21 таблицей и содержит 3 приложения: (Приложение 1 – Акт отстранения от донорства; Приложение 2 – Согласие донора крови и/или ее компонентов; Приложение 3 - Карта инициации эпидемиологического расследования случая вероятного трансфузионного инфицирования вирусом гепатитов В или С пациента ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России.

Во введении диссертант обосновывает актуальность исследования; степень разработанности темы исследования, формулирует цель и основные задачи работы; характеризует степень новизны полученных результатов, теоретической и практической значимости работы, представляет методологию и методы исследования, положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов, количество публикаций с участием автора, объем и структуру диссертационной работы.

В основную часть диссертационной работы Туполевой Т.А. входит глава обзора данных литературы, включающая 8 разделов, где анализируется накопленный за последние годы материал о вирусных гепатитах В и С. Обзор данных литературы читается с большим интересом, свидетельствует о высокой эрудиции автора в области изучения вирусных гепатитов. Здесь представлен детальный анализ опубликованных результатов исследований о вирусном гепатите В как наиболее частой причине цирроза и гепатоцеллюлярной

карциномы. изложены данные о геноме возбудителя, структуре и функции белков вируса, описаны известные последовательности аминокислот в HBsAg, которые подвергаются конформационным изменениям α детерминанты что влияет на характер взаимодействия с нейтрализующими антителами и может привести к «ускользанию» от диагностики существующими иммуноферментными системами. Дана характеристика острых и хронических форм гепатита В и механизмы перехода острой инфекции в хроническую.

Следующем раздел обзора посвящен гепатиту С, представлена информация о структуре и функции генома ВГС, его белков, о наличии гипервариабельных областей генома ВГС, приводящих к мутациям и к формированию вирионов, ускользящих от действия антител. о протеазной и полимеразной активности неструктурных белков, ставших в последнее время основной мишенью для лечебных препаратов прямого действия. Диссертант приводит данные о клинических проявлениях гепатита С, о распространении вируса гепатита С, его основных генотипов, дает представление о субтипах и квазивидах возбудителя гепатита С.

В разделе «Лабораторная диагностика вирусных гепатитов» представлена история становления диагностики вирусных инфекций, особое внимание при этом автор уделяет современным методам диагностики вирусных инфекций, имеющих отношение к диагностике вирусных гепатитов. В разделе обзора литературы «Частная вирусологическая диагностика» представлен арсенал методов, используемых в настоящее время для диагностики гепатитов В и С.

Представляют интерес данные литературы, приведенные в разделе обзора данных литературы «Риск трансфузионного инфицирования ВГВ и ВГС», свидетельствующие об успехах обеспечения вирусной безопасности донорской крови, приведших к снижению остаточного риска трансфузионного инфицирования, о существующих недостатках, в частности, о недостаточном внедрении в работе служб крови молекулярно-генетических методов диагностики.

Одним из наиболее важных разделов литературного обзора с точки зрения задач диссертационной работы посвящен проблеме формированию латентных форм вирусных гепатитов В и С, трудностях диагностики инфекции при бессимптомном вирусоносительстве. Подчеркивается связь латентных инфекций с возникновением фиброзов, гепатоцеллюлярной карциномы. Автор вполне справедливо обсуждает взаимосвязь лекарственной терапии с формированием латентных форм инфекций, И в этой связи диссертант справедливо приходит к выводу о необходимости новых подходов к диагностике таких форм инфекций.

Представляется важным и интересным последний раздел литературного обзора диссертации «Вирусные гепатиты у пациентов с заболеваниями системы крови», здесь наиболее очевидной становится необходимость решения задач диссертационной работы автора. Высокая инфицированность трансфузионно-зависимых пациентов вирусами гепатитов В и С, коррелирующая с высокой летальностью – все это требует незамедлительных мер повышения вирусной безопасности компонентов донорской крови, чему и посвящена диссертационная работа Туполевой Т.А.

Вторая глава диссертационной работы посвящена описанию материалов и методов, используемых при выполнении диссертационной работы. Автор представляет детально разработанный дизайн исследования, включающий эпидемиологические, ретроспективные и проспективные исследования. Результатам многоплановых исследований способствовало изучение огромного собранного в течение многих лет материала (образцы крови, плазмы крови). В этом разделе представлено описание иммуноферментных и молекулярно-генетические методов, используемых в работе, порядок исследования проб, оформление полученных данных исследования, их статистическая обработка. Это позволило диссертанту представить на защиту вполне обоснованные положения, каждое из которых успешно доказано многочисленными статистически достоверными результатами исследований, изложенных в главе 3 диссертации. Это многогранные исследования автора, включающие разработку

требований к обеспечению качества ПЦР-исследований, изучение лабораторных факторы риска неполного выявления инфицированных вирусами гепатитов В и С компонентов крови доноров. С этой целью было изучено 256 736 образцов крови доноров ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. Автор доказал целесообразность использования метода ПЦР с целью наиболее полного выявления образцов крови доноров, инфицированных ВГВ и ВГС, и установить, что тесты с регистрацией продуктов амплификации в реальном времени предпочтительнее в отношении чувствительности, особенно для обнаружения ДНК ВГВ. Диссертантом проведен широкомасштабный скрининг образцов крови доноров на анти-НВс с целью повышения безопасности трансфузий, причем разработан порядок обследования донорской крови и выбраковки компонентов по результатам лабораторного исследования на маркеры инфекций и проведено детальное эпидемиологическое расследование случаев возможного инфицирования реципиента компонентов донорской крови вирусом гепатита В и/или С. На основании полученных данных диссертант разработал Протокол обследования образцов крови пациентов ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России на инфекционные маркеры (ВИЧ, ВГВ, ВГС, возбудителя сифилиса).

Раздел «Обсуждение» читается с большим интересом. Здесь ярко подтверждается теоретическая и практическая значимость полученных результатов. Раздел «Заключение» представляет собой краткое резюме полученных результатов.

Как результат многоплановых исследований, изложенных в диссертационной работе представлены рекомендации практическому здравоохранению:

1. обследовать доноров на наличие анти-НВс, а в случае выявления этих антител – отстранять таких доноров от донорства;
2. С целью диагностики латентных форм гепатита В дополнительно к тесту на HBsAg обследовать всех поступающих в стационар пациентов на наличие антител к ядерному, поверхностному антигенам и ДНК ВГВ.

Несмотря на безусловные достоинства диссертации Туполевой Т.А. имеются вопросы и замечания.

1. К сожалению, обзор литературных данных диссертации Туполевой Т.А. не дает полного представления о том, как осуществляется контроль за вирусной безопасностью крови и ее компонентов в развитых странах. Правда, автор представляет разрозненные сведения по данному вопросу в разных разделах диссертационной работы, однако было бы правильнее объединить эти данные в один раздел или главу.

2. Нельзя полностью согласиться с утверждением автора, что для диагностики инфекций, вызванных вирусами иммунодефицита человека и гепатита С используются комбинированные тесты, выявляющие одновременно как вирусные антигены, так и противовирусные антитела. В большей степени это имеет отношение к ВИЧ инфекции, а не к гепатиту С, при котором обнаружение вирусспецифических антигенов не имеет пока широкого распространения; наряду с определением анти-ВГС более широко используется тест на выявление РНК ВГС.

3. Как и многие ученые, диссертант справедливо утверждает, что вакцинация против гепатита В привела к существенному снижению острых форм инфекции в течение последних лет. Хотелось бы знать мнение автора о том, какие факторы способствуют наблюдаемому аналогичному снижению острых форм не контролируемого вакциной гепатита С в этот же период и почему одновременно происходит рост хронических, латентных инфекций, вызванных вирусами гепатитов В и С на фоне вакцинации против гепатита В?

4. Автор приводит данные только о гепатотропных и лимфотропных свойствах вируса гепатита С, тогда как известны поражения, индуцированные ВГС и других органов и тканей человека, о чем свидетельствуют опубликованные данные об обнаружении репликативных форм РНК ВГС и соответствующих поражений в миокарде, почечной ткани, в ЦНС и в других органах инфицированного человека.

5. В литературном обзоре диссертации приводятся данные о циркуляции в мире 6 генотипов ВГС, тогда как относительно недавно были открыты еще 2 генотипа: 7-й в республике Конго и 8-й - в Индии, в штате Пенджаб. Однако, известно, что эти генотипы, скорее всего, имеют ограниченное распространение и циркулируют, только в этих регионах.

Отмеченные замечания имеют отношение лишь к главе «Обзор данных литературы» и не снижают высокой научно-практической значимости диссертационной работы.

Заключение

Диссертационная работа Туполевой Т.А. изложена грамотно, ее научное содержание и стиль изложения соответствуют современному международному уровню исследований в области гематологии и вирусологии, диссертация соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к оформлению докторских диссертаций. Результаты, изложенные в диссертации, доказательны. Диссертацию можно охарактеризовать как законченную научную работу, в которой получены важные новые для науки и практического здравоохранения данные: а) разработан эффективно обеспечивающий вирусную безопасность трансфузий порядок скрининга донорской крови, который может быть рекомендован в качестве рутинного скрининга в службе крови; б) введен скрининг на наличие анти-НВс в рутинную практику, показана его диагностическую значимость при первичном обследовании доноров крови и ее компонентов; в) создан и апробирован двухэтапный порядок расследования случаев вероятного трансфузионного инфицирования вирусами гепатитов В и С пациентов, ранее отрицательных по маркерам этих вирусов, а внедрение лабораторной информационной системы позволяет оперативно и достоверно проводить такие расследования; г) диссертантом разработан алгоритм обследования больных при поступлении в гематологический стационар, который позволяет уже при поступлении в лечебное учреждение диагностировать гепатиты В и/или С у пациентов.

Уровень и значимость полученных научных и практических результатов диссертационной работы Туполевой Г.А. полностью соответствуют требованиям п.9 «Положения о присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови. Автор Туполева Татьяна Алексеевна заслуживает присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови.

Официальный оппонент
профессор, доктор медицинских наук
зам. директора подразделения
«Институт вирусологии им.
Д.И. Ивановского» ФГБУ «НИЦЭМ
им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России

П.Г. Дерябин

Подпись П.Г. Дерябина заверяю:

Ученый секретарь
ФГБУ «НИЦЭМ
им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России
кандидат биологических наук

Л.К. Кожевникова

Дерябин Петр Григорьевич, зам. директора подразделения «Институт вирусологии им.Д.И. Ивановского» ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, г. Москва, 123098, ул. Гамалеи, 16. тел.: 8 499 190-28-32, Адрес эл. почты: pg_deryabin@mail.ru

26.04.19