

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор федерального государственного
бюджетного учреждения «Научно-
исследовательский институт гриппа имени
А.А. Смородинцева» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
д.м.н., профессор

Д. А. Лиознов

2023 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России) на диссертацию Пиняевой Анастасии Николаевны «Разработка процессов очистки инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. «Вирусология».

Актуальность темы исследования

Массовая вакцинация против полиомиелита, в том числе в рамках Глобальной инициативы по ликвидации полиомиелита (ГИЛП), принятой на 41-й сессии Всемирной ассамблеи здравоохранения в 1988 году, позволила практически ликвидировать инфекцию во многих регионах мира. Комиссия экспертов ВОЗ в сентябре 2015 года сообщила, что дикий полиовирус типа 2 ликвидирован во всём мире, а в октябре 2019 года аналогичное сообщение было сделано в отношении полиовируса типа 3.

В настоящее время для профилактики полиомиелита используют два типа вакцин: пероральную (живую) полиомиелитную вакцину (ОПВ), приготовленную из аттенуированных штаммов Сэбина (штамм Сэбина типа 1 LSc 2ab, штамм Сэбина типа 2 P712 Ch 2ab, штамм Сэбина типа 3 Leon 12a1b) и инактивированную вакцину (ИПВ), приготовленную из диких штаммов (тип 1 – Mahoney, тип 2 – MEF-1, тип 3 – Saukett). Одной из проблем производства

инактивированных вакцин из диких штаммов вируса является риск попадания патогенов во внешнюю среду и их распространения, а также риск инфицирования сотрудников. Использование альтернативных (аттенуированных) штаммов в производстве ИПВ, например, вакцинных штаммов Сэбина (сИПВ), позволяет решить возникшую проблему. Разработка технологии производства сИПВ велась, начиная с 1980-х годов в США, Европе, Китае и Японии. Однако промышленное производство сИПВ налажено только в Японии и Китае. В Японии лицензированная сИПВ успешно применяется с 2012 года, в Китае – с 2018 года.

При широком применении пероральной живой вакцины нередко наблюдается циркуляция вакцинных вирусов. Для предотвращения вакциноассоциированных случаев полиомиелита и ликвидации главной причины возникновения всех трех типов ВППВ требуется исключение из графика иммунизации живой полиомиелитной вакцины. Соответственно, роль ИПВ и сИПВ в ликвидации полиомиелита возрастает.

В период 2008-2022 гг. в Национальном календаре профилактических прививок России были изменены ранее применяемые схемы иммунизации против полиомиелита, в результате чего потребности страны в инактивированной вакцине возросли вдвое. В России первые экспериментальные серии сИПВ были получены в 2015 году в ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита). Использование современных технологий, таких как культивирование на микроносителях в одноразовых биореакторах, позволило повысить выход вирусных частиц. Вместе с тем ряд технологических моментов, в частности процессов очистки полуфабрикатов остается несовершенным.

В связи с вышеизложенным, заявленная цель диссертационной работы Пиняевой Анастасии Николаевны – разработка высокоэффективных технологичных процессов очистки полуфабрикатов инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина и получение доказательств её безопасности и иммуногенности является актуальной проблемой для здравоохранения России.

Для выполнения намеченной цели автором были поставлены и полностью решены следующие задачи:

1. Провести анализ технологических подходов, используемых при производстве инактивированных противовирусных вакцин, а также аналитических методик оценки качества полученного вакцинного

- препарата для оптимизации производства отечественной инактивированной вакцины против полиомиелита.
2. Разработать критерии оценки эффективности проведения стадий очистки концентратов полиовируса и определить контролируемые показатели на стадиях хроматографических очисток вирусных концентратов при производстве вакцинных препаратов.
 3. Осуществить подбор условий очистки концентратов полиовируса штаммов Сэбина трех серотипов методом гель-фильтрации на сорбентах с разным диапазоном фракционирования.
 4. Определить особенности очистки концентратов полиовируса штаммов Сэбина трех серотипов при проведении ионообменной хроматографии на слабых и сильных анионообменных сорбентах в градиентном и изократическом режимах.
 5. Для проведения клинических исследований приготовить полупромышленные опытные образцы инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина с применением биореакторных технологий.
 6. Оценить переносимость, реактогенность и безопасность вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина в сравнении с плацебо на первой фазе клинических исследований.

Оценка содержания диссертации

Диссертация написана в традиционном стиле, изложена на 124 страницах и состоит из введения, обзора литературы и 5-ти глав собственных исследований. Обзор литературы (проанализировано 113 публикаций) посвящен полиовирусу, истории создания и принципам производства вакцин против полиомиелита.

Главы собственных исследований включают: материалы и методы, главы по гель-фильтрации концентратов полиовируса, ионообменной хроматографии концентратов, разработку технологии получения и контроля качества инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина (сИПВ). Предложена разработка высокоэффективных процессов очисток сИПВ, которые позволили сократить потери на этапах хроматографических очисток. Дана разработка технологии производства отечественной сИПВ, а также результаты клинических исследований вакцины ПолиовакСин. Вакцина ПолиовакСин (вакцина полиомиелитная культуральная очищенная концентрированная инактивированная жидкая из аттенуированных штаммов

Сэбина) была зарегистрирована в 2021 году (Регистрационное удостоверение ЛП007478, 07.10.2021).

Завершается диссертация заключением, описанием перспектив дальнейшей разработки темы и выводами. Приведен список сокращений и условных обозначений, список литературы. Работа иллюстрирована 21 таблицей и 27 рисунками.

Оценивая в целом качество изложения материала, следует подчеркнуть, что автором продемонстрирован высокий уровень знаний по изучаемой проблеме, при этом подход к выполнению исследований ориентировано на практическое внедрение полученных результатов. Выводы диссертации в полной мере отвечают цели и задачам исследования. Основные положения и выводы обоснованы. Диссертационная работа носит законченный характер. Содержание автореферата отвечает основным идеям и выводам диссертации.

Степень достоверности и обоснованности представленных данных

Обоснованность представленных в диссертационной работе данных обусловлена комплексным подходом, большим объемом материалов исследования, корректным выбором лабораторных методов, включая вирусологические, иммунологические и биотехнологические, адекватно используемыми методами статистической обработки полученных данных. Клинические исследования проведены в соответствии с нормативно-регламентирующими документами.

По теме диссертационной работы опубликовано 4 печатные работы: 2 в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, 1 в зарубежном журнале, индексируемом в международных системах (Web of Science, Scopus, PubMed) и 1 глава в книге. Материалы работы были представлены и обсуждены на российских и международных научно-практических конференциях.

Таким образом, основные положения, выносимые соискателем на защиту, выводы, сформулированные им по результатам работы, обоснованы высоким научно-методическим уровнем работы, объемом исследований и комплексным подходом к проблеме.

Научная новизна

Впервые в результате экспериментальных исследований были разработаны научно обоснованные биотехнологические приемы очистки концентратов полиовирусов штаммов Сэбина трех типов для применения в

технологическом процессе изготовления отечественной инактивированной вакцины для профилактики полиомиелита.

Установлена степень влияния изоэлектрической точки вакцинных штаммов Сэбина на эффективность извлечения вирусного антигена при проведении ионообменной хроматографии на сорбентах с разной ионной емкостью, что послужило основой для разработки эффективной технологии очистки целевого компонента инактивированной вакцины против полиомиелита на основе трех штаммов Сэбина.

Теоретическая и практическая значимость работы

Разработана технология получения высокоочищенных концентратов полиовируса для использования в процессе производства инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина с применением биореакторной технологии.

Определены контролируемые показатели на стадиях хроматографических очисток полиовирусных (штаммы Сэбина) концентратов, включающих контроль на бактериальные эндотоксины, остаточную клеточную ДНК, бычий сывороточный альбумин, общий белок и содержание D-антигена.

Такие биотехнологические приемы, как снятие профиля элюции на сорбентах с разной матрицей и с разным диапазоном фракционирования для эксклюзионной хроматографии, а также проведение ионообменной хроматографии в градиентном режиме для определения оптимальных условий хроматографической очистки могут применяться при изучении процессов очисток различных вирусных суспензий.

Разработанные критерии оценки эффективности проведения хроматографических очисток вирусных концентратов позволяют анализировать полученные результаты.

Клинические исследования подтвердили хорошую переносимость, высокий профиль безопасности и выраженные иммуногенные свойства вакцины на основе трех штаммов Сэбина в сравнении с Имовакс Полио. Это позволило провести регистрационные мероприятия и возможность использования вакцины в рамках Национального календаря профилактических прививок. Производство и применение отечественной сИПВ значительно повысит защиту населения Российской Федерации от полиомиелита.

Личное участие автора

Автором проведен анализ литературы, изучена степень разработанности проблемы с определением цели, задач исследования и его дизайна. Результаты, представленные в данной работе, получены лично автором или при его непосредственном участии. Автор лично провёл статистическую обработку, сформулировал основные положения и выводы диссертации. С участием автора подготовлены основные публикации по материалам исследования.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

По тематике, методам исследования, предложенным новым научным положениям диссертация соответствуют паспорту научной специальности 1.5.10. «Вирусология», биологические науки и направлениям исследования пунктам: 2 – изучение химического состава, структуры и строения вирусов, антигенных и биофизических свойств вирусов и их устойчивости в окружающей среде, 7 – изучение противовирусного иммунитета, иммунохимические исследования вирусных антигенов, изучение гуморального, клеточного иммунитета и иммунопатологических реакций, 10 – разработка мер предупреждения, диагностики и лечения вирусных заболеваний, совершенствование лабораторной диагностики, терапии, и иммунопрофилактики вирусных инфекций, проблемы санитарной вирусологии, 11 – противовирусные препараты. Интерфероны и индукторы интерферона: изучение механизма действия, получение и применение. Вирусные вакцины, в том числе живые (аттенуированные), инактивированные, субъединичные, рекомбинантные (реплицирующиеся и нереплицирующиеся), векторные и вакцины на основе вирусоподобных частиц.

Замечания по диссертационной работе

Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет. Диссертация оформлена в соответствии с требованиями, предъявляемыми к диссертационным работам, представляемым на соискание ученой степени кандидата биологических наук. В тексте диссертации содержатся стилистические и орфографические погрешности, которые, однако, не влияют на научную ценность представленного исследования.

Несомненно, работу украсили бы данные о результатах доклинических исследований и описание технологических процедур (например, сведение

вакцины и получение готового продукта и др.). Отсутствуют количественные параметры в описаниях опытов – загрузка материалов и выход на стадиях. Не описаны вспомогательные стадии.

В процессе рецензирования возникли вопросы к автору:

1. Методически работа носит лабораторный характер. Считаете ли вы, что масштабирование процесса, необходимое, в том числе для наработки образцов препарата для доклинических и клинических исследований, неминуемо требует иных технологических решений?
2. Какой регламент использовали для получения препарата для клинических исследований?
3. Вакцина для профилактики полиомиелита ПолиовакСин зарегистрирована в России в 2021 году. Учитывая объем, продолжительность проведения доклинических и клинических исследований, а также процедуры регистрации, работа по технологии очистки – основной темы диссертации – была выполнена достаточно давно, не позднее 2015-2016 годов. В связи с данным обстоятельством, являются ли актуальными на данный момент рекомендованные автором сорбенты, оборудование и реагент для инактивации вируса – формалин?

Заключение

В целом, диссертационная работа Пиняевой Анастасии Николаевны на тему: «Разработка процессов очистки инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. «Вирусология», является самостоятельным законченным научно-квалификационным трудом, соответствует методическому и методологическому уровню, предъявляемому к кандидатским диссертациям. Обоснованность полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна соответствует требованиям пункта 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 (с изменениями в ред. Постановлений Правительства РФ №335 от 21.04.2016; №1024 от 28.08.2017; №1168 от 01.01.2018; № 426 от 20.03.2021; с изменениями в действующей ред. от 18.03.2023), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Пиняева

Анастасия Николаевна, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. «Вирусология».

Диссертационная работа и отзыв обсуждены на расширенном заседании отдела вакцинологии ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России (протокол №1 от «27» ноября 2023 г.).

Отзыв подготовил:

Заведующий отделом вакцинологии,
заведующий лабораторией гриппозных вакцин,
советник директора ФГБУ «НИИ гриппа
им. А.А. Смородинцева» Минздрава России,
доктор медицинских наук

«27» ноября 2023 г.

e-mail: sovet@influenza.spb.ru

Телефон: +7 (812) 499-15-18

Подпись д.м.н. Цыбаловой Л.М. заверяю
Ученый секретарь ФГБУ «НИИ гриппа
им. А.А. Смородинцева» Минздрава России,
кандидат медицинских наук

«27» ноября 2023 г.



Тамара Геннадиевна Лобова

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России), 197022, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, улица Профессора Попова, дом 15/17

Тел.: +7 (812) 499-15-00

<http://www.influenza.spb.ru/>

e-mail: office@influenza.spb.ru